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

**Alterações fisiológicas e fenométricas na cultura de soja devido ao uso de
lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro**

Luís Henrique Soares

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

**Piracicaba
2016**

Luís Henrique Soares
Engenheiro Agrônomo

**Alterações fisiológicas e fenométricas na cultura de soja devido ao uso de lactofen,
cinetina, ácido salicílico e boro**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2016

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

Soares, Luís Henrique

Alterações fisiológicas e fenométricas na cultura de soja devido ao uso de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro / Luís Henrique Soares. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
171 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Glycine max* (L.) Merrill 2. Grupo de maturação 3. Hormônios 4. Herbicida
5. Micronutriente I. Título

CDD 633.34
S676a

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

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

Dedico

AGRADECIMENTOS

Shakespeare dizia que “*nas nossas vidas diárias, devemos ver que não é a felicidade que nos faz agradecidos, mas a gratidão é que nos faz felizes*”, por isso agradeço:

- A Deus, por estar comigo e ter permitido chegar até aqui;
- Aos meus Pais e aos meus irmãos, pois se cheguei até aqui, foi por vocês;
- À Márcia, minha noiva, pelo carinho, amor, companheirismo e compreensão dos meus momentos de ausência;
- Ao meu orientador Dr. Durval Dourado Neto, pelos ensinamentos, companheirismo e contribuição à minha formação acadêmica e pessoal;
- Ao meu co-orientador e grande amigo, Dr. Evandro Binotto Fagan, por ser muito mais que um simples orientador. Parte do que sou hoje devo muito a você;
- À minha cunhada Fabiana e meu sobrinho Bernardo, um anjo que renova a luz da nossa família;
- Ao meu sogro José Arruda e minha sogra Margarida, meus segundos pais, meus cunhados Jandeir e Andrea, José Roberto e Tânia e João Marcos, meus novos irmãos e meus sobrinhos Samuel e Vitor, muito obrigado por todo o carinho e apoio que vocês têm me dado;
- Às amigas Walquíria Fernanda e Karla Vilaça Martins, pelos ensinamentos e companheirismo nas intermináveis viagens entre Piracicaba (SP) e Patos de Minas (MG);
- Dizia Shakespeare que “*amigos são a família que nos permitiram escolher*”, por isso agradeço aos amigos de Patos de Minas, em especial, Cícero Fuga, Daniel Moreira, Thalisson Fernando, Daniel Gonçalves e Luciana, Fábio Júnior, Elmiro Corrêa, Altamir Corrêa e Guilherme Dias pelos ensinamentos, amizade, companheirismo e momentos de descontração, os quais contribuíram para a integridade da minha saúde mental;
- Ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) por disponibilizar sua estrutura e o apoio de seus funcionários para a realização dos ensaios;
- A toda equipe do curso de Agronomia do UNIPAM pela oportunidade de trabalhar com vocês, conselhos, apoio, e paciência com os meus momentos de ausência;
- Aos amigos, estagiários e orientados do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia Vegetal e Estresse de Plantas (NUFEP) em especial a Marina Rodrigues, Isabella Sabrina, Jérssica Nogueira, Walquíria Fernanda, Ellen Mayara, Louranny Tavares, Rafael Gontijo, Cíntia Maria, Maria Elisângela, Victor Pacheco, Dalmo Moreira, Luiz Massucate, Aurélio Carneiro, Larissa Bessa, Andressa Moreira, Lucas de Almeida, Paulo Henrique Sousa, Gustavo Cearence, José Gabriel, Fulgêncio Bomtempo e Rafael Chaves. Obrigado pelo apoio na

condução dos experimentos e pela ajuda nas horas e horas intermináveis de avaliações no Laboratório, pelo aprendizado que vocês me proporcionaram e momentos de descontração;

- À Walquíria Fernanda pelo auxílio nas análises estatísticas;
- Aos amigos e colegas de disciplina, em especial Walquíria Fernanda, Felipe Brendler, Rafaela Migliavacca, André Felipe Moreira e Flávio Silveira pelo companheirismo, ensinamentos e momentos de descontração;
- Aos amigos de república em Piracicaba, Fábio Takahashi, Pedro Takahashi e Welder Baldassini pelo companheirismo e por tornar meus dias em Piracicaba mais felizes;
- Aos funcionários da Escola Agrotécnica Afonso Queiroz, em especial ao Rafael Augusto, Pedro Júlio e ao Maurício, pelo auxílio na condução dos ensaios;
- À Nidera Sementes - Unidade Patos de Minas (MG), em especial ao Thalisson Fernando e ao Jairo Boaventura pelo apoio técnico e doação das sementes utilizadas nos ensaios;
- À Kimberlit Agrociências, em especial ao Bruno Neves, pelo apoio na condução do ensaio I;
- À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Luciane pela disposição e presteza em minhas solicitações;
- À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade do estudo; e
- Enfim, àqueles que contribuíram para a realização deste trabalho e, que, involuntariamente foram omitidos, muito obrigado.

“Se o dinheiro for a sua esperança de independência, você jamais a terá. A única segurança verdadeira consiste numa reserva de sabedoria, de experiência e de competência.”

Henry Ford

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	21
LISTA DE ABREVIATURAS.....	25
LISTA DE SÍMBOLOS	27
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1 Aspectos ecofisiológicos da cultura de soja	31
2.2 Componentes de produção da cultura de soja	35
2.3 Arquitetura de plantas e produtividade.....	37
2.4 Hormônios	39
2.4.1 Citocinina	39
2.4.1.1 Caracterização do hormônio	39
2.4.1.2 Funções	40
2.4.1.2.1 Ramificação da parte aérea.....	41
2.4.1.2.2 Senescência e transporte de energia	42
2.4.1.2.3 Estresses bióticos e abióticos.....	44
2.4.2 Ácido salicílico	47
2.4.2.1 Caracterização do hormônio	47
2.4.2.2 Funções	48
2.5 Uso do lactofen como regulador de crescimento.....	50
2.6 Boro	54
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3.1 Local de instalação e condução dos experimentos	59
3.2 Experimento I	60
3.2.1 Caracterização do experimento	60
3.3 Experimento II.....	61
3.3.1 Caracterização do experimento	61
3.4 Avaliações	63
3.4.1 Avaliações bioquímicas	63
3.4.1.1 Atividade da nitrato redutase	63
3.4.1.2 Prolina.....	63

3.4.1.3	Atividade de enzimas antioxidantes.....	64
3.4.1.4	Obtenção do extrato vegetal.....	64
3.4.1.4.1	Conteúdo de proteína na folha	64
3.4.1.4.2	Superóxido dismutase	64
3.4.1.5	Peroxidase	65
3.4.1.6	Peróxido de hidrogênio	65
3.4.1.7	Peroxidação de lipídios	66
3.4.2	Avaliações fenométricas	66
3.4.2.1	Fenologia.....	66
3.4.2.2	Valor Spad.....	66
3.4.2.3	Massa de matéria seca.....	67
3.4.2.4	Número de nós e ramos laterais	67
3.4.2.5	Número de vagens.....	67
3.4.2.6	Produtividade	67
3.4.2.7	Massa de 1.000 grãos	67
3.5	Análise estatística.....	67
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1	Elementos do clima.....	69
4.2	Experimento I: posicionamentos de cinetina	70
4.2.1	Atividade da nitrato redutase	70
4.2.2	Teor de proteína na folha	71
4.2.3	Metabolismo oxidativo	73
4.2.4	Teor de prolina	78
4.2.5	Índice Spad.....	80
4.2.6	Massa de matéria seca de raiz, caule, folha e vagens	81
4.2.7	Massa de 1000 grãos e produtividade	86
4.2.8	Resumo: modelo de ação fisiológica da cinetina	88
4.3	Experimento II: associações entre lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro.....	89
4.3.1	Caracterização do desenvolvimento das variedades cultivadas	89
4.3.2	Atividade da nitrato redutase	90
4.3.3	Teor de proteína na folha	94
4.3.4	Índice Spad.....	97
4.3.5	Metabolismo oxidativo	101
4.3.6	Teor de prolina	111

4.3.7	Massa de matéria seca de raiz, caule, folhas e vagens	114
4.3.8	Número de nós.....	125
4.3.9	Número de ramificações.....	126
4.3.10	Número de vagens	127
4.3.11	Massa de 1000 grãos e produtividade.....	129
4.3.12	Aplicação isolada de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro	131
4.3.13	Aplicação conjunta de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro.....	134
4.3.14	Variedades cultivadas: avaliação fisiológica e fenométrica	135
4.3.15	Considerações finais	136
5	CONCLUSÕES	137
	REFERÊNCIAS.....	139
	ANEXOS.....	161

RESUMO

Alterações fisiológicas e fenométricas na cultura de soja devido ao uso de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro

Nos últimos anos, houve rápido crescimento da utilização de substâncias que buscam aumentar a produtividade de soja, seja por alterações fisiológicas ou morfológicas. Entre estes compostos, lactofen (LC), citocinina (CK), ácido salicílico (AS) e boro (B) têm sido utilizados com esse propósito. No entanto, não existem informações científicas que atestam esses manejos, o que causa instabilidade na resposta observada no campo. Além disso, atualmente existe mais de 1000 variedades cultivadas de soja disponíveis no mercado, o que dificulta o entendimento do efeito desses produtos na cultura de soja. Visando entender as alterações fisiológicas e morfológicas que estes compostos proporcionam, objetivou-se avaliar os efeitos da época de aplicação de cinetina (KIN) e os efeitos das associações entre KIN, LC, AS e B nas variedades cultivadas NA-5909-RG (GM 6.7) e NS-7114-RR (GM 7.1). Foram realizados dois experimentos em condições de campo no Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas (MG), durante o período de novembro de 2014 a maio de 2015. Foram realizadas avaliações fisiológicas (atividade da nitrato redutase - ANR, teor de proteína total solúvel na folha, atividade da peroxidase e superóxido dismutase, teor de H_2O_2 , peroxidação de lipídios e teor de prolina) e fenométricas (valor Spad, massa de matéria seca de raiz, caule, folhas e vagens), além do número de vagens, nós, ramificações e produtividade. Para o primeiro experimento, foram utilizados quatro tratamentos: (i) Controle; (ii) KIN (V_4); (iii) KIN (V_6) e (iv) KIN (V_4+V_6) com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. No segundo experimento, foram utilizados dezesseis tratamentos: (i) Controle; (ii) L; (iii) KIN; (iv) AS; (v) B; (vi) LC + KIN; (vii) LC + AS; (viii) LC + B; (ix) LC + KIN + AS; (x) LC + KIN + B; (xi) LC + AS + B; (xii) LC + KIN + AS + B; (xiii) KIN + AS; (xiv) KIN + B; (xv) KIN + AS + B e (xvi) AS + B em duas variedades cultivadas, NA-5909-RG e NS-7114-RR, em esquema fatorial 16×2 com quatro repetições em delineamento em blocos ao acaso. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que: (i) a aplicação de KIN em V_4 , V_6 ou V_4+V_6 aumenta a ANR e o teor de proteína na folha, reduz o nível de estresse e aumenta o acúmulo de massa de matéria seca e a produtividade; (ii) a aplicação de LC aumenta o nível de estresse das plantas e incrementa a produtividade apenas na variedade cultivada do GM 7.1; (iii) a aplicação de KIN proporciona maior efeito na produtividade na variedade cultivada NS-7114-RR; (iv) mesmo a variedade cultivada NA-5909-RG sendo mais responsivo à aplicação de AS para as características fisiológicas e fenométricas, este incrementou a produtividade apenas no NS-7114-RR; (v) a aplicação de B proporciona os melhores efeitos na NS-7114-RR; (vi) o efeito das associações entre LC + CK + AS e AS + B é mais estável na NS-7114-RR, enquanto que na NA-5909-RG, os efeitos mais estáveis foram observados para LC + CK + AS + B; (vii) considerando as duas variedades cultivadas, a associação entre LC + CK proporciona o maior incremento de produtividade; e (viii) a variedade cultivada NS-7114-RR manteve maior teor de proteína na folha, superior acúmulo de massa de matéria seca durante o final do período do enchimento de grãos e maior massa de 1000 grãos, o que repercutiu em maior produtividade em relação ao NA-5909-RG.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill; Grupo de maturação; Hormônios; Herbicida; Micronutriente

ABSTRACT

Physiological and phenometric modifications in soybean due the use of lactofen, kinetin, salicylic acid and boron

In recent years, there has been a rapid growth of the substance use to increase soybean productivity, either physiological or morphological changes. Among these compounds, lactofen (LC), cytokinins (CK), salicylic acid (SA) and boron (B) have been used with this purpose. However, there is no scientific information that attest these managements, which cause instability in the observed response in field. In addition, there are currently more than 1,000 soybean cultivars available on the market, making it difficult to understand the product effect on the soybean crop. In order to understand the physiological and morphological changes that these compounds provide, this work aimed to evaluate the effects of kinetin (KIN) application time and the effects of the associations between KIN, LC, SA and B in the NA-5909-RG (GM 6.7) and NS-7114-RR (GM 7.1) cultivars. Two field experiments were carried out at the University of 'Patos de Minas' (UNIPAM), 'Minas Gerais' state, Brazil, during the period from November 2014 to May 2015. Physiological (nitrate reductase activity, total soluble protein content in leaf, peroxidase and superoxide dismutase activity, H_2O_2 content, lipid peroxidation and proline content) and phenometric (Spad value, dry matter of root, stem, leaves and pods) evaluations were done, as well as the number of pods, nodes, branches and productivity. For the first experiment, four treatments were used: (i) Control; (ii) KIN (V_4); (iii) KIN (V_6) and (iv) KIN (V_4+V_6) with five replications in a randomized block design. In the second experiment, sixteen treatments were used: (i) Control; (ii) LC; (iii) KIN; (iv) SA; (v) B; (vi) LC + KIN; (vii) LC+SA; (viii) LC + B; (ix) LC + KIN+SA; (x) LC + KIN + B; (xi) LC+SA+B; (xii) LC + KIN+SA+B; (xiii) KIN+SA; (xiv) KIN + B; (xv) KIN+SA+B and (xvi) SA+B. The NA-5909-RG and NS-7114-RR cultivars (factorial 16x2) were used with four replications in a randomized block design. Based on the results, it is possible to conclude that: (i) the application of KIN in V_4 , V_6 or V_4+V_6 increases the nitrate reductase activity and leaf protein content, reduces the stress level, increases the total dry matter production and productivity; (ii) the LC application increases the plant stress level and productivity (only in the maturation group 7.1); (iii) the KIN application provides greater effect on productivity in the NS-7114-RR cultivar; (iv) the NA-5909-RG cultivar is more responsive to the application of SA, however it increased productivity only in the NS-7114-RR cultivar; (v) the B application provides the best effects on NS-7114-RR cultivar; (vi) the effects of LC + CK + SA and SA + B were more stable in the NS-7114-RR cultivar, while the NA-5909-RG cultivar was more stable for LC + CK + SA + B application; (vii) considering two varieties, LC + CK application provides the greatest increase in productivity; and (viii) the NS-7114-RR cultivar maintained higher protein content on the leaf, higher total dry matter accumulation during the late grain filling period and higher mass of 1,000 grains, which reflected in higher productivity compared to the NA-5909-RG cultivar.

Keywords: *Glycine max* (L.) Merrill; Maturity group; Hormones; Herbicide; Micronutrient

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Componentes da produção da cultura de soja (OHYAMA <i>et al.</i> , 2013).....	35
Figura 2 - Interação entre a auxina (AIA) e citocinina (CK) na regulação do desenvolvimento das gemas laterais. (MASON <i>et al.</i> 2014).....	42
Figura 3 - Modelo fisiológico de ação da citocinina na cultura de soja	46
Figura 4 - Modelo fisiológico de ação do ácido salicílico na cultura de soja.....	50
Figura 5 - Danos causados pela aplicação de lactofen em soja, variedade cultivada NS-7114-RR (a, 60 g ha ⁻¹ i.a.) e quebra da dominância apical proporcionado pelo lactofen, variedade cultivada NS 8490 RR (b, 180 g ha ⁻¹ i.a.). UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	52
Figura 6 - Modelo fisiológico de ação do lactofen em plantas de soja	54
Figura 7 - Modelo de ação do boro em plantas de soja	56
Figura 8 - Valores de temperatura máxima (Tx, °C) e mínima (Tn, °C) e de precipitação pluvial (Pp, mm) referentes ao período de condução dos ensaios (4 de dezembro de 2014 a 20 de março de 2015). UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	69
Figura 9 - Atividade da enzima nitrato redutase (ANR, % em relação ao Controle) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão).....	71
Figura 10 - Teor de proteína total solúvel (mg g ⁻¹ [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....	72
Figura 11 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, U µg ⁻¹ [proteína]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).....	74

- Figura 12 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] min^{-1} mg^{-1} [proteína]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 75
- Figura 13 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 76
- Figura 14 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 77
- Figura 15 - Teor de prolina (μmol de prolina g^{-1} MF) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro) 80
- Figura 16 - Índice Spad (% em relação ao Controle) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão) 81
- Figura 17 - Massa de matéria seca de raízes (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão) 82
- Figura 18 - Massa de matéria seca de caule (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão) 83
- Figura 19 - Massa de matéria seca de folhas (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão) 85

- Figura 20 - Massa de matéria seca de vagens (g planta^{-1}) de soja submetida ao posicionamento de cinetina em diferentes estádios. Dados referentes à avaliação realizada aos 67 DAS. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).... 86
- Figura 21 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)..... 87
- Figura 22 - Produtividade (kg ha^{-1}) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro).... 88
- Figura 23 - Modelo de ação da cinetina aplicada em diferentes estádios na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise de solo (0-20 cm) da área de condução dos experimentos. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	59
Tabela 2 - Descrição dos tratamentos utilizados na cultura de soja, Experimento I. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	60
Tabela 3 - Descrição dos tratamentos utilizados na cultura de soja, Experimento II. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	62
Tabela 4 - Descrição do número de dias após a semeadura correspondentes aos estádios fenológicos em duas variedades cultivadas de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	90
Tabela 5 - Atividade da enzima nitrato redutase (ANR, $\mu\text{g [N-NO}_2\text{]} \text{ g}^{-1} [\text{FV}] \text{ h}^{-1}$) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	92
Tabela 6 - Teor de proteína na folha ($\text{mg g}^{-1} [\text{MF}]$) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	95
Tabela 7 - Índice Spad após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	100
Tabela 8 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, $\text{U } \mu\text{g}^{-1} [\text{proteína}]$) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	104
Tabela 9 - Atividade da enzima peroxidase (POD, $\mu\text{mol [purpurogalina]} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} [\text{proteína}]$) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	107

Tabela 10 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	109
Tabela 11 - Peroxidação lipídica (PL, $\text{nmol [TBARS] g}^{-1}$ MF) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	110
Tabela 12 - Teor de prolina ($\mu\text{mol [prolina] g}^{-1}$ [MF]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	112
Tabela 13 - Massa de matéria seca de raiz (g planta^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	117
Tabela 14 - Massa de matéria seca de caule (g planta^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	120
Tabela 15 - Massa de matéria seca de folhas (g planta^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	122
Tabela 16 - Massa de matéria seca de vagens (g planta^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	124
Tabela 17 - Número de nós por planta após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	126
Tabela 18 - Número de ramificações por planta após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	127

Tabela 19 - Número de vagens (vagens planta ⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015.....	128
Tabela 20 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) e produtividade (kg ha ⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015	131

LISTA DE ABREVIATURAS

AIA	Ácido indolacético
ANR	Atividade da enzima nitrato redutase
AS	Ácido salicílico
CK	Citocinina
CKX	Citocinina oxidase
DAA	Dias após a aplicação
DAS	Dias após a semeadura
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GM	Grupo de maturação
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₃ BO ₃	Ácido bórico
i.a.	Ingrediente ativo
IPT	Isopentenil transferase
KIN	Cinetina
LC	Lactofen
L.	Lineu
MDA	Monodehidroascorbato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
p.c.	Produto comercial
POD	Peroxidase
RNA	Ácido ribonucleico
RR	Roundup Ready [®]
RuBisCO	Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético

LISTA DE SÍMBOLOS

Al	Alumínio
B	Boro
Ca	Cálcio
cmol _c	Centimol de carga
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de carbono
dm	Decímetro
g	Grama
H	Hidrogênio
ha	Hectare
K	Potássio
KI	Iodeto de potássio
KNO ₃	Nitrato de potássio
L	Litro
m	Saturação por alumínio
M.O.	Matéria orgânica
MF	Matéria fresca
Mg	Magnésio
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Ni	Níquel
°C	Graus Celsius
P	Fósforo
pH	Potencial hidrogeniônico (quantidade de prótons H ⁺)
Pmel	Método Mehlich-1 na extração de fósforo (P)
Pp	Precipitação pluvial
Prem	Método de determinação do fósforo (P) remanescente (quantidade do P-adicionado que fica na solução de equilíbrio após definido tempo de contato com o solo)
R ₁	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Início do florescimento. Momento em que a planta apresenta pelo menos uma flor aberta em qualquer nó da haste principal (FEHR; CAVINESS, 1977)
R ₂	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Florescimento pleno. Momento em que a planta apresenta maioria das inflorescências da haste principal com flores abertas (FEHR; CAVINESS, 1977)
R ₃	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Início da frutificação. Momento em que a planta apresenta vagens com 0,5 a 1,5 cm de comprimento no terço superior da haste principal (FEHR; CAVINESS, 1977)
R ₄	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Frutificação plena. Momento em que a planta apresenta maioria das vagens no terço superior da haste principal com comprimento de 2 a 4 cm (FEHR; CAVINESS, 1977)
R _{5.1}	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Início da granação. Momento em que a planta apresenta até 10% da granação máxima na maioria das vagens localizadas no terço superior da haste principal (FEHR; CAVINESS, 1977)
R ₇	Estádio fenológico. Fase reprodutiva. Início da maturação. Momento em que a planta apresenta até uma vagem normal com coloração madura localizada no terço superior da haste principal (FEHR; CAVINESS, 1977)
S	Enxofre

SB	Soma de bases
T	Capacidade de troca catiônica
T _n	Temperatura mínima
T _x	Temperatura máxima
V	Saturação por bases
V ₄	Estádio fenológico. Fase vegetativa. Quarto nó. Momento em que a planta se encontra com 3 trifólios (folha composta por 3 folíolos) completamente desenvolvidos (FEHR; CAVINESS, 1977)
V ₆	Estádio fenológico. Fase vegetativa. Sexto nó. Momento em que a planta se encontra com 5 trifólios (folha composta por 3 folíolos) completamente desenvolvidos (FEHR; CAVINESS, 1977)
V ₈	Estádio fenológico. Fase vegetativa. Oitavo nó. Momento em que a planta se encontra com 7 trifólios (folha composta por 3 folíolos) completamente desenvolvidos (FEHR; CAVINESS, 1977)

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a espécie oleaginosa mais cultivada em todo o mundo, sendo que aproximadamente 80% da produção está concentrada em três países: Estados Unidos, Brasil e Argentina (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013). No Brasil, a produtividade média vem crescendo em média 30 kg ha⁻¹ ano, sendo que atualmente esta se encontra em torno de 3000 kg ha⁻¹, distante ainda do potencial genético da planta, que pode chegar a 20.391 kg ha⁻¹ (339,9 sacas ha⁻¹) (NAVARRO JÚNIOR; COSTA, 2002).

O potencial produtivo da cultura é regido por características genéticas das sementes. No entanto, devido às condições do ambiente de cultivo, como temperatura, regime hídrico, fotoperíodo, fatores químicos e físicos do solo, competição com outras plantas, entre outras, ocorre depleção na produtividade, chegando aos valores médios obtidos atualmente. Em algumas pesquisas tem se observado recordes de produtividade de 10760 kg ha⁻¹, indicando a possibilidade de explorar as características genéticas da cultura (HAEGELE; BELOW, 2013). Dessa forma, o manejo fisiológico tem sido uma das apostas dos pesquisadores para tal fato.

Dentro do manejo fisiológico, a alteração da arquitetura das plantas, através do controle do crescimento e indução de ramificação da parte aérea tem ganhado destaque nos últimos anos. Estas são características importantes para determinar a produtividade, pois alteram diretamente componentes de produção como número de hastes e número de nós.

Com o objetivo de alterar a arquitetura das plantas, várias substâncias têm sido utilizadas. As citocininas são importantes neste contexto, pois, junto com as auxinas e as estrigolactonas, controlam a indução da brotação das gemas laterais. Desta forma, a utilização destas poderia potencializar a formação de ramificações e consequentemente incrementar a produtividade de soja. Aliado a isto, já havia sido relatado por Soares (2014) a importância do lactofen em induzir a formação de ramificações, embora seja um efeito indireto, pois este quebra a dominância apical e reduzir o crescimento vegetativo da planta, o que reduz a respiração e aumenta a fotossíntese líquida, melhorando a relação entre respiração e fotossíntese. Desta forma, um posicionamento poderia ser associar estas duas substâncias. O problema da utilização de lactofen é que este causa estresse nas plantas, devido ao seu modo de ação. Portanto, uma estratégia seria associar ao lactofen, substâncias que reduzem este estresse. O ácido salicílico tem sido proposto como um hormônio, que além de induzir tolerância a doenças, aumenta a tolerância das plantas a estresses abióticos por diversas vias. Ainda, em 1990, Schon e Blevins mostraram que a utilização de boro via foliar poderia aumentar a formação de ramificações de plantas de soja, no entanto não existem atuais sobre

isso. Além disso, o posicionamento destes reguladores de crescimento também é um ponto importante a ser estudado, pois estes podem ter o seu efeito alterado em função da época de aplicação e da variedade cultivada utilizada.

A exploração das características genéticas a partir da potencialização da fisiologia das plantas não é recente. Desde 1960 trabalha-se com bases fisiológicas com o objetivo de aumentar a produtividade (MURATA, 1969). Atualmente, adaptações foram feitas, levando em consideração práticas como a indução de estresses em alguns períodos, potencialização da ramificação das plantas (SCHON; BLEVINS, 1990; GRAHAM, 2005), reorganização do metabolismo pela aplicação de bioestimulantes (KHAN *et al.*, 2009; CRAIGIE, 2011), dessa forma, aumentando a eficiência e melhorando a produtividade. Além disso, as variedades cultivadas atualmente apresentam alterações no crescimento comparado às antigas, devido à inclusão de genótipos com hábito de crescimento indeterminado. Huyghe (1998) cita que possivelmente pode ocorrer competição entre o crescimento vegetativo e reprodutivo pela partição dos fotoassimilados, o que poderia levar à redução da produtividade. Em relação a isso, tem-se buscado maximizar o uso de carbono e nitrogênio (N) através de regulação do crescimento das plantas. No entanto, são poucos os trabalhos realizados. Desta forma, este trabalho disponibilizará informações sobre a importância do controle do crescimento e da alteração da arquitetura das plantas e como isso repercute na produtividade da cultura.

Portanto, o objetivo do trabalho foi (i) avaliar o efeito da época de aplicação de citocinina em parâmetros fisiológicos e nos componentes de produção da cultura de soja; (ii) avaliar o efeito da utilização de citocinina, ácido salicílico, boro e lactofen na produção de massa de matéria seca de raízes e parte aérea, índice Spad, atividade da nitrato redutase e enzimas antioxidantes (SOD e POD), teor de prolina, peróxido de hidrogênio, peroxidação de lipídios e produtividade da cultura de soja e (iii) avaliar o efeito da aplicação de citocinina, ácido salicílico, boro e lactofen em variedades cultivadas do grupo de maturação (GM) 6.7 (NA-5909-RG) e GM 7.1 (NS-7114-RR).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos ecofisiológicos da cultura de soja

A soja é uma cultura de origem de região de alta altitude (entre 30° e 45° N) com clima temperado a subtropical. Essa característica fez com que sua adaptação após a disseminação pelo mundo ocorre em regiões similares, como o caso dos Estados Unidos ou no Rio Grande do Sul, local no Brasil onde ocorreram os primeiros plantios comerciais de soja. No entanto, os programas de melhoramento genético brasileiros desenvolveram germoplasmas adaptados a regiões de menor latitude, o que contribui para a expansão da soja no País. Isso permite que hoje seja cultivada soja desde a região Sul do Brasil (latitude próximas a 30°) até as regiões Norte e Nordeste (latitudes próximas a 0°) (SEDIYAMA; SILVA; BORÉM, 2015).

Esta é uma cultura de ciclo fotossintético do tipo C₃. Neste caso, a ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxidase (RuBisCO) tem uma eficiência de conversão do CO₂ menor, comparado com plantas de ciclo C₄. Esta enzima tem afinidade tanto ao gás carbônico (CO₂) quanto ao oxigênio (O₂), portanto, a sua atividade carboxilase/oxidase é determinada em função da disponibilidade de CO₂ e O₂ na câmara subestomática. Em condições que favorecem o aumento da concentração e CO₂ na folha (temperaturas amenas, água disponível) mantém a atividade carboxilase da RuBisCO. No entanto, condições de estresse (temperaturas elevadas, *deficit* hídrico) causam fechamento dos estômatos, o que diminui a entrada de CO₂ e aumenta a concentração de O₂ na câmara subestomática. Isto favorece a atividade oxidase da RuBisCO, o que diminui a eficiência fotossintética, embora isto possa ser considerada uma estratégia da planta em manter a fotossíntese em condições de estresse, mesmo com eficiência reduzida (TAIZ; ZEIGER, 2013). Essa característica pode explicar, em partes, a elevada concentração de RuBisCO em plantas C₃. Nestas, esta enzima contribui em mais de 50% do total de proteínas solúveis na folha (SPREITZER; SALVUCCI, 2002) e entre 20 e 30% do total de nitrogênio (N) (EVANS; SEEMANN, 1989; KUMAR *et al.*, 2002; MAKINO, 2003). Em plantas C₄, a mesma contribui com em torno de 30% do total de proteína solúvel (SUGIYAMA; MIZUNO; HAYASHI, 1984) e apenas entre 5 e 9% do total de N na folha (SAGE; PEARCY; SEEMANN, 1987; MAKINO *et al.*, 2003).

Esta cultura se adapta melhor em temperaturas oscilando entre 20 e 30° C, sendo que 30° C é a temperatura ideal para o desenvolvimento (EMBRAPA, 2013). Temperaturas elevadas (acima de 35° C) inibem a germinação do pólen e o crescimento do tubo polínico, no entanto, como a deiscência das anteras ocorre entre 8 e 10 horas da manhã, estes efeitos podem ser minimizados (SALEM *et al.*, 2007). Além disso, a temperatura interfere

crescimento vegetativo o que interfere diretamente nos componentes de produção da cultura (BOARD; ZHANG; HARVILLE, 1996). Temperaturas baixas reduzem a atividade fotossintética e a taxa de crescimento da cultura, pois diminuem a ativação e a atividade das enzimas. No caso de temperaturas elevadas, o primeiro efeito é redução no processo de fotólise da água (PAULSEN, 1994). Como exemplo, Ferris *et al.* (1998) mostraram que temperaturas de 42-43° C causam efeitos deletérios à atividade fotossintética de plantas de soja. O período mais sensível a estresse por temperatura é o desenvolvimento reprodutivo. Estresse durante o florescimento e a formação das vagens (R₁-R₄) afeta o número de sementes, enquanto estresses durante o enchimento de grãos (R₅-R₆) reduz a massa de sementes (GIBSON; MULLEN, 1996), sendo estes problemas causados devido à redução da atividade fotossintética (BOARD; KAHN, 2011).

O requerimento de água por esta cultura varia entre 450-800 mm/ciclo, dependendo das condições climáticas, do manejo e da duração do ciclo da cultura (EMBRAPA, 2013). *Deficit* hídrico resulta alterações fisiológicas que diminuem a taxa de crescimento e a produtividade. Além disso, ocorre redução da fixação de nitrogênio no nódulo em condições de baixo potencial hídrico, o qual contribui para a redução a produtividade (PURCELL; SPECHT, 2004). Os períodos mais críticos a deficiência hídrica são a germinação e emergência das plântulas e o desenvolvimento reprodutivo. Helms *et al.* (1996) mostraram que sementes semeadas em solo com 0,07 kg [água] kg⁻¹ [solo] germinam, mas este teor de água não é capaz de manter a emergência das plântulas, sendo que o aumento do teor de água para 0,09 kg água/kg solo permite que ocorra a germinação e a emergência. *Deficit* hídrico durante este período diminui o stand de plantas e pode resultar em menor produtividade. Devido à redução da população de plantas, o menor índice de área foliar produzido limita a taxa de crescimento das plantas (BOARD; KAHN, 2011).

Durante o crescimento reprodutivo, o *deficit* hídrico causar redução do turgor das células, o que diminui a divisão celular, a diminuição do potencial hídrico na folha causa fechamento dos estômatos, para minimizar a perda de água. Em culturas de ciclo fotossintético C₃, como a soja, esse comportamento se traduz em aumento da atividade oxigenase da RuBisCO (fotorrespiração), o que diminui a eficiência fotossintética. Isso causa redução da taxa de crescimento e diminuição do índice de área foliar, repercutindo em menor produtividade (BOARD; KAHN, 2011). Durante este período e no desenvolvimento reprodutivo, o decréscimo da fixação biológica do nitrogênio causado pela deficiência hídrica também limita a produtividade (PURCELL; SPECHT, 2004), pois a soja apresenta alta concentração de proteína nos grãos, o que faz com que esta cultura tenha uma maior

necessidade deste elemento comparado com as demais (SINCLAIR; WIT, 1976). Estas informações em conjunto mostram que a falta de água reduz o crescimento vegetativo das plantas, repercutindo em menor formação de nós reprodutivos, componente importante para determinar a produtividade de soja. Durante a fase reprodutiva, a redução de produtividade causada pela falta de água está relacionada à diminuição da quantidade de vagens e sementes produzidas (BALL; PURCELL; VORIES, 2000).

A taxa de crescimento da cultura (TCC) acompanha a atividade fotossintética. Até os 20-25 dias após a emergência, a TCC aumenta lentamente e então esta incrementa de forma exponencial até o início da fase reprodutiva. Entre o florescimento (R_1) e o enchimento de grãos (R_5) esta taxa de crescimento é mantida de forma linear e após este estágio decresce até a senescência. Desta forma, a produtividade final é determinada em função da matéria seca total acumulada e a porcentagem desta que é transferida para os grãos (índice de colheita). No entanto, parece não haver uma relação tão direta entre a produção de matéria seca e a produtividade para variedades cultivadas de crescimento indeterminado (HUYGHE, 1998).

A taxa de crescimento é acompanhada pela taxa de acúmulo de nutrientes, sendo que esta é dividida em três fases distintas, sendo: (i) lento acúmulo até aproximadamente 30 dias após a emergência, (ii) máxima taxa entre o florescimento pleno (R_2) e o início do enchimento de grãos (R_5) e (iii) reduzido acúmulo durante a maturação das sementes. Resultados mostram que durante os estádios R_3 - R_4 a taxa de acúmulo de nutrientes pode chegar a $4,8 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, sendo $4,6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ o valor médio (BENDER; HAEGELE; BELOW, 2015).

O nitrogênio é o nutriente mais requerido pela cultura de soja, devido à alta concentração deste elemento na matéria seca da planta. Pesquisas mostram que, em média, são acumulados na parte aérea $79\text{-}83 \text{ kg [N] ha}^{-1}$ para cada tonelada de grãos produzidos. Dados do Brasil mostram que do total extraído, entre 61% (EMBRAPA, 2002) e 80% (OLIVEIRA JUNIOR, 2014) é exportado pelos grãos, enquanto que dados recentes dos Estados Unidos mostram que variedades modernas podem exportar até 74% do N acumulado (BENDER; HAEGELE; BELOW, 2015). Isso significa que variedades cultivadas modernas, as quais na maioria apresentam crescimento indeterminado, podem exportar mais nutrientes que as semeadas anteriormente. Ainda, estes dados são subestimados, pois não consideram o nutriente acumulado na raiz.

O nitrogênio acumulado na cultura de soja é proveniente principalmente da fixação biológica, sendo que em condições que favoreçam a simbiose esta pode fornecer até $300 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$, ou entre 72 e 94% do N total necessário (HUNGRIA *et al.*, 2005). O pico da formação de nódulos ocorre nos estádios R_{1-2} e R_5 (CÂMARA, 2014), os quais coincidem

com o momento da maior demanda de N pela planta. Assim, estresses como altas temperaturas, *deficit* hídrico, solos ácidos entre outros durante estes períodos, reduzem a fixação biológica e limitam o desenvolvimento das plantas, devido a redução da concentração de N na folha (PURCELL; SPECHT, 2004).

A manutenção da fixação biológica é dependente da atividade fisiológica das plantas, da interação com o ambiente, como descrito acima, e com alguns elementos minerais. Por exemplo, a alta concentração de N no solo inibe a nodulação, portanto não é recomendada a adubação nitrogenada, exceto aproximadamente 20 kg [N] ha⁻¹ na semeadura, a qual tem função de estimular o crescimento das raízes e manter o crescimento da planta até o início da nodulação (V₁-V₂) (CÂMARA, 2014).

O molibdênio (Mo) é componente da nitrogenase, junto com o ferro (Fe) e o enxofre (S), enzima que converte o N₂ em NH₃ no nódulo, que em função da disponibilidade de H⁺ se converte para NH₄⁺, sendo assimilado principalmente na forma de ureídeos e transportado para a parte aérea. A atividade desta ocorre apenas em condições de anaerobiose, no entanto a produção e ATP por meio da fosforilação oxidativa é baseada na respiração aeróbia dos bacteroides, sendo então esta dependente da entrada de O₂ no nódulo. Desta forma, a substância leghemoglobina, a qual contém cobalto (Co) na sua estrutura, tem a função de introduzir o O₂ no nódulo, mas ao mesmo tempo regular a sua concentração, pois a nitrogenase é irreversivelmente inativada pelo O₂ (MARSCHNER, 2012). Algumas bactérias fixadoras de nitrogênio, como o *Rhizobium japonicum*, são capazes de conservar energia, pois a evolução do H₂ pela nitrogenase pode consumir até 40% da energia do nódulo (EMERICH *et al.*, 1979). Estas bactérias codificam hidrogenases, as quais são dependentes de níquel (Ni), e oxidam o H₂ (BRITO *et al.*, 1997). Portanto, embora o Ni não requerido para a fixação do nitrogênio, pode melhorar a efetividade desse processo, pela redução no gasto de energia (GONZÁLEZ-GUERRERO *et al.*, 2014).

Para os demais nutrientes, as maiores taxas de absorção também ocorrem entre os estádios R₃-R₄. Por exemplo, durante estes períodos a taxa de absorção de potássio chega até 3,1 kg ha⁻¹ dia⁻¹ (BENDER; HAEGELE; BELOW, 2015). O que tem sido observado nas últimas pesquisas, comparado aos dados passados, é que a taxa de exportação de alguns nutrientes como o K e fósforo (P) tem aumentado. De acordo com Oliveira Junior *et al.* (2014), a exportação destes elementos aumentou 21 e 32%, respectivamente. Isso evidencia a força do dreno dos grãos e reforça a necessidade de melhorar nutrição das variedades cultivadas de crescimento indeterminado. Estes dados em conjunto sugerem que estresses que

reduzam a absorção de nutrientes ou deficiência de nutrientes no solo durante estes períodos comprometem a formação dos grãos, o que pode reduzir a produtividade.

2.2 Componentes de produção da cultura de soja

A produtividade da cultura de soja é determinada por diversos fatores relacionados à arquitetura, fisiologia e manejo, conforme pode ser verificado na Figura 1. Segundo esse modelo, a quantidade de sementes por área é determinada em função da massa das sementes e do número de sementes. O número de vagens é determinado em função da taxa de formação de vagens e do número de flores, que depende do número de nós e do número de hastes por planta e da densidade de plantas por área (OHYAMA *et al.*, 2013). Todos estes componentes são determinados por processos fenológicos como germinação, desenvolvimento vegetativo, florescimento, frutificação e maturação (CATO; CASTRO, 2006). Desta forma, todas estas características podem alterar a produtividade das plantas.

Figura 1 - Componentes da produção da cultura de soja (OHYAMA *et al.*, 2013)

A densidade de plantas é um importante fator para o crescimento e a produtividade de soja, embora a densidade não seja diretamente proporcional à produção de matéria seca e de sementes. Quando a densidade de plantas é elevada, a formação de ramos laterais diminui e dessa forma o número de nós decresce. Ainda, sob alta população de plantas ocorre competição intraespecífica por luz e pela absorção de nutrientes, sendo que estas plantas se tornam estioladas, com os caules finos, propensos ao acamamento (ENDRES, 1996;

TOURINO; REZENDE; SALVADOR, 2002). No entanto, quando a população de plantas é reduzida, as plantas tendem a incrementar a formação de ramos laterais, aumentando o número de nós produzidos (EGLI, 2013). Isso significa que plantas de soja apresentam potencial para terem seu crescimento modulado em função do ambiente ou manejo adotado.

Variações na produtividade de soja frequentemente estão associadas com alterações no número de vagens e sementes por unidade de área. Consequentemente, os processos que determinam o número de vagens e sementes por área desempenham papel importante na produtividade da cultura (EGLI, 2013). Naturalmente, plantas de soja produzem flores em excesso, mas variações no número de nós e, consequentemente, flores por planta repercutem nas variações no número de vagens por planta (EGLI, 2005). A taxa de formação de flores e vagens está diretamente relacionada à formação de ramos laterais nas plantas, a qual é coordenada pelo balanço entre os hormônios auxina e citocinina e que tem a citocinina com fator principal na sua indução, o que pode repercutir em maior produtividade.

No entanto, o número de sementes e vagens por área tem sido associado com a atividade fotossintética ou a taxa de crescimento da cultura entre os estádios de florescimento (R_1) e enchimento de grãos (R_5) (SCHOU; JEFFERS; STREETER, 1978; JIANG; EGLI, 1993; BOARD; TAN, 1995; EGLI, 2010). Isto, associado ao alto nível de aborto de flores sugere que a fotossíntese pode ser mais importante em determinar o número final de vagens do que o número de nós ou de flores produzidas (EGLI, 2013). Dessa forma, em sistemas que buscam aumento da produtividade através do aumento do número de nós e vagens, necessariamente precisam estar associados a condições que potencializem a atividade fisiológica das plantas durante estas fases.

O número de sementes por vagem é geneticamente controlado. Sendo assim, o número total de sementes produzidas pela planta é influenciado pelo número de vagens, o qual depende fortemente do número de gemas florais que formam vagens e chegam até a maturidade. Plantas de soja produzem flores em abundância, no entanto, uma grande proporção destas são abortadas antes de se tornarem vagens. Tem sido relatado que entre 40 e 80% das flores e vagens em desenvolvimento inicial produzidas pela soja são abortadas. Normalmente, o número de vagens é determinado em até cinco dias após a antese (OHYAMA *et al.*, 2013).

Estudos realizados por Kokubun (1988) mostram que o aborto das flores pode ser regulado pela disponibilidade de fotoassimilados. O sombreamento das plantas durante as fases de florescimento, alongação das vagens ou início do enchimento reduziu, em média, 33% da produtividade. Além disso, a disponibilidade de fotoassimilados é importante para

manter elevado número de células em processo de divisão. Isso é importante, pois, segundo Galardo; Thompson e Burstin (2008), a força do dreno é determinada pelo número de células que estão em divisão no tecido (cotilédone). Ainda, de acordo com Peet e Kramer (1980), o tamanho do dreno determina a taxa fotossintética, sendo que drenos com tamanho reduzido reduzem a fotossíntese. Assim, a potencialização da atividade fotossintética através da suplementação de carbono e nutrientes via folha ou até mesmo a utilização de substâncias que reduzem ou tornam as plantas mais tolerantes a estresses poderia potencializar a produtividade das plantas.

Outro possível fator fisiológico que altera a taxa de aborto de flores é a disponibilidade dos hormônios vegetais. Existe uma gama de trabalhos mostrando que a aplicação de 9-benzilaminopurina (um tipo de citocinina) nos racemos reduz a taxa de aborto e incrementa o pegamento das vagens (HUFF; DYBING, 1980; HEINDL *et al.*, 1982; CARLSON *et al.*, 1987; OHYAMA *et al.*, 2013).

Estas informações em conjunto refletem a necessidade cada vez maior de pesquisas que busquem estratégias para potencializar a produtividade de soja com base nos conceitos fisiológicos da cultura.

2.3 Arquitetura de plantas e produtividade

A arquitetura de plantas é o conjunto de características, como número de caules e ramificações, número e comprimento de entrenós, quantidade, estrutura e orientação das folhas, que definem a forma, tamanho e a geometria das plantas. Embora este conceito não tenha recebido muita atenção das pesquisas nos últimos anos, esta é uma característica chave para determinar a produtividade das culturas. É determinada pela base genética das plantas e modulada em função do ambiente, principalmente temperatura, comprimento do dia, intensidade luminosa e disponibilidade de água. Práticas agronômicas como data e densidade de semeadura e utilização de reguladores de crescimento também são fatores importantes que podem alterar a arquitetura das plantas (HUYGHE, 1998). A partir daí, nos sistemas de manejo da cultura de soja, têm sido induzidas modificações na arquitetura das plantas, o que pode resultar em maior produtividade devido ao incremento da partição de fotoassimilados para os grãos (SOARES, 2014).

Em relação às características genéticas, as mais exploradas comercialmente estão relacionadas ao hábito de crescimento, que para a cultura da soja é dividido em determinado, semideterminado e indeterminado. As variedades cultivadas de crescimento determinado normalmente apresentam ciclo mais longo, no entanto o florescimento ocorre em um menor

período, comparado as variedades cultivadas de hábito de crescimento indeterminado. Do ponto de vista prático isso não é vantajoso, visto que vários produtores adotam a segunda safra após o cultivo de soja. Dessa forma, variedades cultivadas de ciclo mais curto (precoces) são mais indicadas, pois são colhidas mais cedo, o que garante o maior aproveitamento da chuva pela cultura de segunda safra. A redução do período de florescimento também não é vantagem, pois, em caso de estresses durante este período, a produtividade será comprometida, devido ao aumento do aborto de flores e vagens em desenvolvimento. A vantagem de se trabalhar com variedades cultivadas de crescimento determinado (ciclo longo) é que as suas fases de desenvolvimento são mais longas (exceto florescimento), o que garante maior tolerância a estresses. No caso de variedades cultivadas de crescimento indeterminado, tal característica permitiu a redução do ciclo. No entanto, cada fase de desenvolvimento ocorre mais rápido, o que diminui a tolerância a estresses, embora o florescimento seja bem prolongado, o que pode garantir que, caso parte das flores ou vagens sejam abortadas (normalmente por algum estresse), ainda há oportunidade para emissão de novos órgãos reprodutivos (SILVA *et al.*, 2015).

Para variedades cultivadas de crescimento indeterminado, Huyghe (1998) cita que possivelmente pode ocorrer competição entre o crescimento vegetativo e reprodutivo pela partição dos fotoassimilados, o que poderia levar à redução da produtividade. Estas informações sugerem que para estas variedades cultivadas, seria necessária a utilização de reguladores de crescimento para adequar a taxa de crescimento vegetativo/reprodutivo. Além disso, suplementação via folha de energia (CH_2O) e nutrientes poderia contribuir para o aumento da produtividade nestas variedades cultivadas. Como exemplo, já foi constatado por Jordão (2014) que variedades cultivadas de crescimento indeterminado apresentam valores críticos de potássio (K) superiores aos observados anteriormente, os quais haviam sido gerados em variedades cultivadas de crescimento determinado. Estas informações sugerem que para o sistema de produção de soja atual, que se baseia principalmente na utilização de variedades cultivadas de crescimento indeterminado, é necessário fazer ajustes em relação ao manejo que era utilizado no passado.

Os fatores como temperatura, comprimento do dia, intensidade luminosa e disponibilidade de água, que interagem com a genética para determinar arquitetura das plantas, são influenciados principalmente em função da época de semeadura. Semeadura fora da época pode submeter as plantas às condições de temperatura desfavoráveis ao desenvolvimento. Isto causa alterações em características fitotécnicas bem como em parâmetros bioquímicos (BRACCINI *et al.*, 2004). Como exemplo, no trabalho realizado por

Djanaguiraman, Prasad e Schapaugh (2013), a elevação da temperatura diurna (39° C) ou noturna (29° C), condições que podem ser ocasionadas em função da alteração da época de plantio, causou redução do índice Spad, redução da taxa fotossintética, aumento da respiração e diminuição da viabilidade do pólen, o que repercutiu em menor índice de pegamento de vagens. Estas características em conjunto ocasionaram redução da produção de sementes por planta.

O crescimento vegetativo pode ser reduzido em função do atraso da semeadura. Isso porque a soja é uma cultura sensível ao fotoperíodo. Desta forma, quando a semeadura é tardia, as plantas são submetidas ao fotoperíodo crítico para indução do florescimento mesmo que estas ainda não tenham desenvolvimento vegetativo para suportar alta produtividade. Portanto, a redução do crescimento vegetativo irá repercutir em menor índice de área foliar e consequentemente, redução da interceptação luminosa pelo dossel, as quais são características importantes para determinação da produtividade (PIEROZAN JUNIOR *et al.*, 2015).

A densidade de semeadura tem um papel importante na determinação da arquitetura destas. Devido à elevada plasticidade da cultura, alterações leves na população de plantas normalmente não alteram a produtividade. No entanto, reduções drásticas na população de plantas aumenta o tempo em que a cultura leva para cobrir o solo, o que ocasiona maior infestação de plantas daninhas (SILVA *et al.*, 2015). No caso de densidade de semeadura muito elevada em relação ao recomendado, a atividade fotossintética das plantas não acompanha a taxa respiratória. Isso significa que a fotossíntese não aumenta a partir de um determinado ponto em função da competição por luz entre as plantas, no entanto a atividade respiratória cresce devido a maior quantidade de tecido, aumentando o consumo de energia, o que repercute, na maioria das vezes, em produtividade igual ou menor à da população normal. Como exemplo, Balbinot Júnior *et al.* (2014) utilizando a variedade cultivada Vmax RR, que para Londrina-PR tem população recomendada variando entre 300 e 350 mil plantas, observaram tendência de estabilização da produtividade quando utilizada população variando entre 300 e 440 mil plantas ha⁻¹.

2.4 Hormônios

2.4.1 Citocinina

2.4.1.1 Caracterização do hormônio

Folke Skoog e colaboradores nas décadas de 1940 e 1950 descobriram que a base adenina do ácido nucléico possuía um pequeno efeito promotor da divisão celular, levando a

pré-conclusão que ácidos nucléicos estimulariam este processo. No entanto, inesperadamente, observaram que o DNA autoclavado do esperma de arenque apresentava forte efeito promotor da divisão celular. A partir disto, foi identificada neste material uma molécula denominada cinetina, a qual foi então a primeira citocinina identificada. No entanto, esta era uma molécula sintética, e não encontrada naturalmente nas plantas. Mais tarde foi identificado que extratos de endosperma imaturos de milho continham uma substância capaz de manter contínua divisão celular, a qual foi denominada zeatina, ou a primeira citocinina natural identificada (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A partir daí, várias outras citocininas foram identificadas em plantas, sendo que *trans*-zeatina, *cis*-zeatina, dihidrozeatina, isopentenil adenina, zeatina ribosídeo, zeatina ribotídeo, *cis*-ribosilzeatina e isopentenil adenosina estão entre as principais (TAIZ; ZEIGER, 2013). Em pesquisas, várias moléculas análogas a citocininas têm sido utilizadas. Estas são produzidas sinteticamente e na maioria das vezes possuem substituição no N⁶ da aminopurina, como a benziladenina ou benzilaminopurina e cinetina. Outras substâncias sintéticas derivadas da fenilureia desempenham atividade de citocinina em plantas. Dentre estas, o tiadizuron é a mais conhecida, pois apresenta ação desfolhante em plantas, sendo desta forma utilizada como herbicida (SRIVASTAVA, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2013).

As citocininas são sintetizadas em tecidos meristemáticos jovens, por exemplo, ápice radicular, gemas da parte aérea, tecidos cambiais, sementes e frutos em desenvolvimento, entre outros (SRIVASTAVA, 2002). A síntese inicia quando um grupo isopentenil do dimetilalil difosfato (DMAPP) é adicionado a uma parte da molécula de adenosina. O modelo de síntese de citocininas em plantas visualiza a transferência de um isopentenil do isopentenil dimetilalil difosfato (DMAPP) para o ATP, ADP ou AMP, transformando-o em isopenteniladenosina tri-, di- ou monofosfato (iPTP, iPDP, ou iPMP, respectivamente). Posteriormente, o isopenteniladenosina monofosfato é hidroxilado em sua cadeia lateral sendo transformado em zeatina monofosfato (ZMP). Similares hidroxilações também ocorrem no iPTP ou iPDP para produzir a zeatina tri (ZTP) e difosfato (ZDP), o qual pode formar o ZMP. No passo 3, a zeatina monofosfato (ZMP) é convertida em zeatina (KAKIMOTO, 2001).

2.4.1.2 Funções

Em plantas, as citocininas desempenham funções que vão desde a promoção do crescimento dos meristemas apicais, a regulação do ciclo celular, a mobilização de nutrientes, o desenvolvimento vascular, o controle da senescência até formação dos nódulos em raízes de plantas fixadoras de nitrogênio.

2.4.1.2.1 Ramificação da parte aérea

A ramificação da parte aérea das plantas é um dos principais fatores que contribuem para a modificação da arquitetura das plantas (TEICHMANN; MUHR, 2015). Como visto acima, para plantas de soja esta é uma das características que contribui para aumento da produtividade. Vários fatores contribuem para habilitar as gemas axilares a formar órgãos vegetativos, incluindo o ambiente, a genética e o controle hormonal. Auxinas, estrigolactonas e citocininas estão relacionados à regulação hormonal para brotação das gemas, sendo os dois primeiros como inibidores e este último como promotor (DUN *et al.*, 2012).

De acordo com o modelo proposto por Tanaka *et al.* (2006) a auxina induz uma dominância apical. A auxina sintetizada no ápice caulinar é transportada de forma polar e basípeta para outros tecidos da planta e inibe o desenvolvimento das gemas laterais, ou seja, promove a dominância apical. O papel da auxina nesse processo está na inibição de genes da enzima IPT (isopentenil transferase) que catalisa uma etapa limitante da biossíntese de citocininas na planta. Além disso, a auxina também aumenta a atividade da enzima citocinina oxidase, que atua na degradação das citocininas. Assim, a auxina inibe a síntese de citocininas e promove a sua degradação, reduzindo os níveis de citocinina na gema apical inibindo a divisão celular e o brotamento das gemas (Figura 2).

Em situações que ocorrem a decapitação do ápice, local onde a síntese de auxina é mais intensa, a biossíntese de citocinina inicia nas regiões próximas às gemas. A enzima adenosina fosfato isopenteniltransferase catalisa o primeiro passo na biossíntese de citocinina (HIROSE *et al.*, 2008). Em função disso a citocinina é transportada para as gemas laterais onde atua. Nessa região a citocinina ativa os meristemas apicais do caule devido suas atividades no ciclo celular em função de uma série de reações em cascatas que envolve ciclinas do tipo D, envolvidas na fase G₁. Em função das relações antagônicas entre citocinina e auxinas na formação de ramificações, a aplicação de citocininas podem resultar numa indução na formação de ramificações (SHIMIZU-SATO; TANAKA; MORI, 2009) (Figura 2).

Figura 2 - Interação entre a auxina (AIA) e citocinina (CK) na regulação do desenvolvimento das gemas laterais. (MASON *et al.* 2014)

Além das auxinas e citocininas no controle da brotação das gemas laterais, foi descoberto em 2008 que as estrigolactonas, uma nova classe de hormônios derivados dos carotenoides, controlam em conjunto com os demais, a ramificação das plantas (GOMEZ-ROLDAN *et al.*, 2008; UMEHARA *et al.*, 2008). Durante a regulação da brotação das gemas, as estrigolactonas reduzem o fluxo do transporte polar das auxinas no caule principal, mantendo alta concentração destas na gema. Ainda, as estrigolactonas e as citocininas são transportadas de forma acropetal pelo xilema e agem diretamente nas gemas para controlar a brotação através da regulação conjunta do fator de transcrição BRANCHED1 (BRC1) (BRAUN *et al.*, 2012; DUN *et al.*, 2012; CHENG; RUYTER-SPIRA; BOUWMEESTER, 2013).

2.4.1.2.2 Senescência e transporte de energia

A senescência é um processo vital do ciclo das plantas. Essa se baseia na reciclagem de nutrientes e energia que foram investidos na produção das folhas e da maquinaria fotossintética. As citocininas tem um papel fundamental em reduzir este processo. Desde 1957, Richmond e Lang apresentaram que o tratamento com citocininas causava grande retenção de clorofila e proteínas em folhas destacadas de *Xanthium pennsylvanicum*.

Trabalhos em várias espécies têm mostrado forte relação entre o decréscimo do teor de citocinina e o progresso da senescência (SINGH; LETHAM; PALNI, 1992). Segundo Zavaleta-Mancera *et al.* (2007), este hormônio mantém a integridade das membranas, evitando que proteases do vacúolo sejam transportadas ao citoplasma e hidrolisem proteínas solúveis das membranas plasmáticas, do cloroplasto e mitocôndria. Ainda, outras funções no atraso da senescência atribuídas a esse hormônio estão relacionadas à prevenção da oxidação de ácidos graxos (fosfolipídios) evitando a degradação das membranas, inibição da formação e quebra de radicais livres, como superóxidos (O_2^-) e hidroxilas (OH^-), prevenindo a oxidação das membranas, inibição da degradação de clorofila, mantendo os tecidos verdes e promoção da síntese de proteínas e RNA (Figura 3).

Outros relatos mostram que o atraso na senescência em função das citocininas está relacionado à atividade da invertase ácida (LARA *et al.*, 2004). Esta enzima tem a sua atividade estimulada pela citocinina e catalisa a clivagem da sacarose em hexoses quando esta é descarregada nos órgãos drenos. Inicialmente, foi observado que plantas de tabaco com atraso na senescência apresentavam elevada atividade da invertase e por último foi demonstrado que a citocinina induz a atividade da invertase e que isto é suficiente para retardar a senescência (ZWACK; RASHOTTE, 2013). Isso significa que a aplicação de citocininas em cultivos poderia manter as folhas verdes por um maior período de tempo, característica importante para maximizar a produção de energia, e esta ser mais bem transportada para os drenos, o que repercutiria em maior produtividade.

Outra função das citocininas que pode contribuir na manutenção das folhas seria o papel deste hormônio na regulação do desenvolvimento dos cloroplastos e na biossíntese das clorofilas. Estudos realizados na década de 1970 já mostravam que durante a transição noturna, as citocininas aceleram a diferenciação do corpo prolamelar na estrutura lamelar, sendo isto acompanhado por um incremento na taxa de biossíntese de clorofila (PARTHIER, 1979). Ainda, Kusnetsov *et al.* (1998) observaram que a citocininas aumentam a estabilidade das enzimas que convertem o protoclorofilídeo em clorofilídeo. Desta forma, isto sugere que as citocininas são fundamentais para a formação das membranas do tilacóide (CORTLEVEN; SCHMÜLLING, 2015). Isto significa que a utilização exógena deste hormônio pode contribuir na formação dos cloroplastos, fato confirmado pelo mesmo autor, onde a utilização de 1 μ M de BA (6-benziladenina) promoveu a formação das membranas do protitlacóide.

Na via de biossíntese das clorofilas, tem sido proposto que as citocininas são importantes em dois pontos: na síntese do ácido-5-aminolevulínico (ALA) e na fotoconversão do protoclorofilídeo em clorofilídeo (CORTLEVEN; SCHMÜLLING, 2015). Segundo

Masuda *et al.* (1995) e Yarovskaya *et al.* (2006), as citocininas aumentam a atividade da Glutamil-tRNA redutase e da Glutamil-tRNA sintase, enzimas na via de conversão do ácido glutâmico, base da síntese das clorofilas, em ALA. Além disso, estudos mais recentes mostram que a citocinina altera a transcrição de genes específicos na via de biossíntese do anel tetrapirrólico (TANAKA; KOBAYASHI; MASUDA, 2011).

Todas estas informações em conjunto mostram que a utilização de citocininas em plantas cultivadas pode manter as folhas mais verdes por um período maior de tempo, o que interfere diretamente na atividade fotossintética, o que repercutiria na maior produção de fotoassimilados e no melhor transporte da energia produzida para os órgãos dreno.

2.4.1.2.3 Estresses bióticos e abióticos

Geralmente tem sido considerado que as citocininas regulam de forma negativa à adaptação das plantas a estresses abióticos. No entanto, alguns destes têm relatado que a concentração de citocininas decresce à medida que o estresse é prolongado (KUDOYAROVA *et al.*, 2007; ALBACETE *et al.*, 2008; GHANEM *et al.*, 2008), sendo que outros mostram incremento no teor de citocinina em resposta a estresses severos (HANSEN; DÖRFFLING, 2003; POSPISILOVA *et al.*, 2005; ALVAREZ *et al.*, 2008).

Havlova *et al.* (2008) mostraram aumento dos níveis e da sinalização da citocinina quando plantas de tabaco foram submetidas a estresse leve e médio. No entanto, estresses severos geralmente têm sido relacionados com redução do crescimento e realocação da limitada energia produzida para a proteção contra o estresse (Figura 3). Esta redução do crescimento pode estar relacionada ao ácido abscísico, pois em caso de plantas deficientes em citocinina, foi observado hipersensibilidade ao ácido abscísico. Esta seria uma estratégia da planta para sobreviver em condições de estresse (NISHIYAMA *et al.*, 2011). Contrastando, particularmente sob condições de estresse severo, alguns autores tem reportado aumento nos níveis de citocinina (HANSEN; DÖRFFLING, 2003; POSPISILOVA *et al.*, 2005; ALVAREZ *et al.*, 2008). De fato, segundo Zwack e Rashotte (2015), parece haver um pico de concentração de citocinina logo após o início do estresse, sendo que este nível diminui quando o estresse é reduzido. No entanto, esta redução pode não ocorrer em casos de estresse mais severos. Diante destas informações, ainda é difícil concluir como a aplicação de citocininas poderia contribuir para o aumento da tolerância a estresse abióticos no campo e de que forma isto influenciaria na produtividade das culturas.

As interações entre as citocininas e estresses bióticos em plantas ganhou mais atenção no momento em que pesquisadores observaram que plantas de tabaco com aumento na

resistência contra vírus do mosaico do tabaco (TMV), vírus do mosaico do pepino (CMV), vírus X da batata (PVX) e vírus Y da batata (PVY), apresentam alta concentração de citocinina (MASUTA *et al.*, 1995), sendo esta correlacionada com o nível de ácido salicílico. Reforçando esta idéia, já havia sido relatado por Kamada *et al.* (1992) que plantas transgênicas com superexpressão de genes que codificam proteínas relacionadas a defesa contra patógenos apresentavam elevada concentração de ácido salicílico, maior expressão de genes relacionados a patogênese (*PR*). Ainda, estas plantas apresentavam fenótipo típico de elevada concentração de citocinina, como baixa dominância apical e alta ramificação. Em plantas que foi aplicado inibidores da percepção das citocininas foi constatado alterações na expressão de genes relacionados a defesa das plantas (*PR-1*) (SANO *et al.*, 1996), sugerindo que as citocininas contribuem na resposta à defesa mediada pelo ácido salicílico e ácido jasmônico (O'BRIEN; BENKOVÁ, 2013). Em síntese, as citocininas ativam o regulador transcricional *ARR2* (*ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 2*), o qual modula positivamente a sinalização do ácido salicílico por interagir com genes responsivos a este hormônio, promovendo a expressão de *PR-1* e *PR-2* (ALAZEM; LIN, 2015).

Aliado a isto, tem sido relatado que as citocininas atuam em um processo chamado *priming*, o qual é importante para proteção contra doenças (CHOI *et al.*, 2011). Este fenômeno está alicerçado no fato de que uma vez as plantas tenham sido exposta aos patógenos, estas eliciarão respostas de defesa de forma muito mais rápida e intensa do que se não tivessem sido atacadas antes. Existem dois tipos de *priming*, o primeiro está relacionado a resistência sistêmica adquirida (RSA), a qual ocorre nas partes mais distantes do local da infecção. Neste caso, esta resposta é dependente do aumento do nível de ácido salicílico proporcionado pela citocinina (VLOT; KLESSING; PARK, 2008). O segundo é desencadeado por bactérias não patogênicas, tais como rizobactérias promotoras de crescimento em plantas, sendo este denominado de resistência sistêmica induzida (RSI) (VAN WEES; VAN DER ENT; PIETERSE, 2008). Como exemplo, *Bacillus subtilis* produz um composto volátil chamado 2,3-butanodiol, o qual promove o crescimento das plantas e a RSI contra *Erwinia corotovora* subsp. *corotovora* (RYU *et al.*, 2004). Esta resposta ocorre mediada por genes relacionados a sensibilidade do etileno e da citocinina, sendo que mutações em genes relacionados a transdução de citocinina bloqueia este efeito (ALONSO *et al.*, 1999).

Estas informações em conjunto sugerem que a utilização de citocininas nas plantas cultivadas pode tornar estas mais tolerantes ao ataque de patógenos, o que repercute diretamente no índice de área foliar (retenção das folhas) das plantas, fator fundamental

durante a fase reprodutiva e que permite maior produção e transporte de energia para os órgãos dreno (grãos, no caso da soja). Essa hipótese é suportada pelo trabalho Choi *et al.* (2010), onde a aplicação de citocinina em plantas de *Arabidopsis* incrementou a resistência destas a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (Figura 3).

Outros trabalhos tem mostrado que as citocininas podem induzir resistência em plantas de um modo independente do ácido salicílico. Em plantas de tabaco, alta concentração de citocinina aumentou a resistência à infecção por *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, e esta resistência foi dependente do incremento dos níveis de fitoalexinas, tais como escopoletina e capsidiol (GROßKINSKY *et al.*, 2011).

Figura 3 - Modelo fisiológico de ação da citocinina na cultura de soja

No entanto, para patógenos biotróficos tem sido relatado que a colonização dos tecidos é dependente da citocinina. Neste caso, tem sido observado que há secreção de citocininas pelo patógeno, além deste induzir a liberação do hormônio pela planta. O acúmulo de citocinina na região da infecção estimula a atividade da invertase, a qual incrementa a concentração de hexoses nesta região, o que causa redução da fotossíntese. No entanto, o aumento da atividade da invertase atrasa a senescência e cria uma região dreno de nutrientes, o que garante o estabelecimento do patógeno (WALTERS; McROBERTS, 2006). Isso significa que as citocininas podem contribuir de forma diferente em função do hábito hospedeiro do patógeno.

2.4.2 Ácido salicílico

2.4.2.1 Caracterização do hormônio

A vários séculos atrás, americanos, indianos e gregos utilizavam cascas e folhas de salgueiro (*Salix* sp.) para curar febres e dores. Além disso, Hipócrates, considerado por muitos o pai da medicina, prescrevia isto para aliviar a dor e febre em mulheres após o nascimento das crianças. Em 1973, os extratos de salgueiro ganharam importância quando o Reverendo Edward Stone informou para a Sociedade Real que este continha substâncias que aliviavam os sintomas da malária. Em 1830, salicilatos (metilsalicilato, saligenina e seus glicosídeos) foram isoladas a partir de extratos de salgueiro e de outras plantas. Mais tarde, o ácido salicílico (AS) foi sintetizado quimicamente a partir da carboxilação do fenóxido de sódio. A partir daí, surgiu o primeiro produto comercial a base de AS sintético, a Aspirina (ácido acetilsalicílico), o qual se tornou conhecido em todo o mundo e substituiu o AS, por proporcionar menor irritação gastrointestinal e ter propriedades medicinais similares. Ainda no século 20, o AS já era utilizado para o tratamento de acne, psoríase, verrugas, calos, amaciador de pele, remoção de células mortas da pele, óleo e limpeza dos poros da pele. Ainda este é utilizado na medicina desde o tratamento de resfriados até ataques do coração (KHAN *et al.*, 2015).

O AS é um composto fenólico de sete carbonos produzido nas plantas a partir de duas vias distintas e compartimentadas que utilizam diferentes precursores. A via dos fenilpropanóides ocorre no citoplasma a partir da fenilalanina enquanto que a via do isocorismato acontece no cloroplasto (CHEN *et al.*, 2009). Depois de sintetizado, este pode ser glicosilado ou metilado. A conjugação com glicose no grupo hidroxil resulta na formação do AS-glicosídeo, no grupo carboxil produz AS-glicose éster enquanto que a conjugação com ácido aspártico forma salicioil ácido-L-aspártico. Além disso, o AS pode ser convertido a metil salicilato e esse glicosilado forma metil salicilato glicosídeo. A função mais estudada deste hormônio nas plantas está relacionada ao papel deste na resistência sistêmica contra patógenos, no entanto, têm sido relatados efeitos deste mediando resposta a estresses abióticos como estresse hídrico, estresse por frio, tolerância a metais pesados, altas temperaturas e estresse osmótico. Além disso, evidências têm sido levantadas sobre o papel deste hormônio na regulação da germinação de sementes, crescimento vegetativo, fotossíntese, respiração, termogêneses, formação das flores, produção de sementes, senescência e um tipo de morte celular não relacionada com as respostas de hipersensibilidade. Ainda, AS pode contribuir

para manter a homeostase redox celular, por regular a atividade de enzimas antioxidantes (RIVAS-SAN VICENTE; PLASENCIA, 2011).

2.4.2.2 Funções

A resistência sistêmica adquirida é uma resposta secundária ativada em locais distantes do local onde houve a infecção na planta. Esta estratégia protege a planta contra uma gama de fungos, bactérias e vírus. O AS tem sido conhecido como o hormônio que regula este mecanismo (AN; MOU, 2011). Das formas em que o AS é encontrado nas plantas, o ácido metilsalicílico é a que apresenta papel mais bem estudado nestas respostas. O ácido metilsalicílico é um composto volátil e móvel no floema que acumula nos tecidos infectados e em regiões distantes da infecção nas plantas (GAO *et al.*, 2015). Nestes locais, o ácido metilsalicílico regula a expressão de genes relacionados à patogênese (*PR*), os quais induzem a defesa das plantas. No entanto, a indução de defesa em plantas pode reduzir o crescimento. Em condições de estresse, as plantas alteram o seu metabolismo com objetivo de direcionar os recursos, como proteínas e metabólitos secundários, para se protegerem da adversidade. Neste momento, a defesa contra o estresse é prioridade em relação à sinalização para o crescimento. Como consequência, a energia e os nutrientes são realocados em resposta ao estresse, o que causa limitação de energia para o crescimento. Ainda há a hipótese que a interação e regulação hormonal durante o estresse reduz o crescimento (REITZ; GIFFORD; SCHÄFER, 2015).

O fechamento dos estômatos também é regulado pelo AS, de uma forma independente da via do ácido abscísico. A regulação das células guardas dos estômatos é um mecanismo imprescindível na tolerância ao *deficit* hídrico, mas também auxilia na resistência das plantas ao ataque de patógenos. No entanto, o fechamento dos estômatos diminui a entrada de CO₂, o que causa redução da fotossíntese (MIURA; TADA, 2014). Após a infecção por patógenos, o nível de AS aumenta e induz respostas de resistência sistêmica adquirida. Este aumento no nível de AS proporciona o fechamento dos estômatos, sendo que causado provavelmente pela formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (MELOTTO *et al.*, 2006). Dong *et al.* (2001), Liu *et al.* (2003) e He *et al.* (2007) mostram que a aplicação exógena de AS aumenta os níveis de H₂O₂ e Ca²⁺, o que leva ao fechamento dos estômatos. Dois mecanismos têm sido propostos para explicar o fechamento dos estômatos proporcionado pelo AS. Um deles é mediado pela NAD(P)H oxidase da membrana plasmática (KWAK *et al.*, 2003) e o outro pelas peroxidases da parede celular (KHOKON *et al.*, 2011). Todavia, o AS induz o fechamento dos estômatos acompanhado pela produção extracelular de ERO, que é mediada

pelo guaiacol peroxidase sensível ao ácido salicilhidroxâmico, acúmulo intracelular de ERO e inativação dos canais de K^+ (MORI *et al.*, 2001; KHOKON *et al.*, 2011).

Trabalhos mostram que o AS promove a detoxificação de ERO como uma importante resposta a estresses. Neste caso, AS e a glutatona estão interligados, fomentando o papel do AS na resposta antioxidante (HERRERA-VÁSQUEZ; SALINAS; HOLUIGUE, 2015). Como exemplo, plantas que apresentaram alta concentração de AS incrementaram os níveis de glutatona e redução no nível de estresse (MATEO *et al.*, 2006). Ainda, plantas deficientes em glutatona apresentam baixa concentração de AS (DUBREUIL-MAURIZI *et al.*, 2011). Isso sugere que o AS desempenha papel antioxidante por modular os níveis de glutatona, embora este mecanismo ainda não seja conhecido (HERRERA-VÁSQUEZ; SALINAS; HOLUIGUE, 2015). Além do fechamento dos estômatos, este mecanismo também pode ser uma estratégia para aumentar a tolerância ao estresse hídrico. Trabalhos mostram que a aplicação de baixas concentrações de AS aumenta a tolerância ao *deficit* hídrico e altas doses reduzem a tolerância. Como exemplo, a aplicação de 2-3 mM de AS reduz o crescimento e a tolerância a estresse de plantas de trigo, enquanto que 0,5 mM melhora estes parâmetros (KANG *et al.*, 2012). Provavelmente, as altas concentrações de AS induzem elevada produção de ERO, o que reduz a atividade fotossintética e diminui o crescimento (MIURA; TADA, 2014) (Figura 4).

Os efeitos do AS em processos fisiológicos como a fotossíntese e crescimento são controversos (JANDA *et al.*, 2014). A aplicação foliar de AS em soja incrementou o crescimento da parte aérea e das raízes, entretanto este tratamento não teve efeito na atividade fotossintética (GUTIÉRREZ-CORONADO *et al.*, 1998). Entretanto, outros autores relatam incremento na fotossíntese líquida em mostarda (*Brassica juncea*), milho (*Zea mays* L.) e soja tratadas com 10^{-5} M de AS (FARIDUDDIN *et al.*, 2003; KHAN; PRITHIVIRAJ; SMITH, 2003), enquanto que altas concentrações tiveram efeitos inibitórios (JANDA *et al.*, 2014). A adição de 0,5 mM de AS na solução hidropônica de plantas jovens de milho, a mesma concentração que promoveu proteção contra danos causados por baixas temperaturas em milho (JANDA *et al.*, 1999) e reduziu os danos por Paraquat em cevada (ANANIEVA *et al.*, 2002), diminui a atividade fotossintética, a condutância estomática e a transpiração (JANDA *et al.*, 1999). Em plantas de cevada, a atividade da RuBisCo diminui, enquanto que a fosfoenolpiruvato carboxilase foi incrementada com o aumento da concentração de AS (PANCHEVA *et al.*, 1996). Isso mostra que a atividade fotossintética reduziu em função da diminuição da concentração de RuBisCO (JANDA *et al.*, 2014) (Figura 4).

Figura 4 - Modelo fisiológico de ação do ácido salicílico na cultura de soja

O tratamento com AS (0,1-0,5 mM) causou leve incremento nos níveis de ERO (HARFOUCHE *et al.*, 2008). Como descrito acima, a produção de ERO mediada pela guaiacol peroxidase sensível ao ácido salicilhidroxâmico é induzida por AS nas células guarda (MORI *et al.*, 2001; KHOKON *et al.*, 2011). Além disso, ascorbato peroxidase, catalase, e anidrase carbônica, as quais estão envolvidas na detoxificação de ERO, foram inibidas por AS (CHEN; SILVA; KLESSIG, 1993; CONRATH *et al.*, 1995; DURNER; KLESSIG, 1995; SLAYMAKER *et al.*, 2002). A inibição destas enzimas por AS induz aumento nos níveis de ERO. Baixos níveis de ERO atuam como sinais secundários para melhorar a atividade de enzimas que protegem as células, como ascorbato peroxidase, catalase, superóxido dismutase (SOD), guaiacol peroxidase, glutathiona redutase, entre outras (SHI *et al.*, 2006) (Figura 4).

2.5 Uso do lactofen como regulador de crescimento

Antes do surgimento das variedades cultivadas resistentes ao Glifosato (variedades cultivadas RR), o lactofen era um herbicida bastante utilizado para controle de plantas daninhas latifoliadas na cultura da soja. Este é um herbicida do grupo éter difenílico que inibe a protoporfirinogênio-IX oxidase (Protox), a qual catalisa a oxidação do protoporfirinogênio-IX a protoporfirina-IX (Proto-IX) e induz a geração de ERO como mecanismo de ação, causando estresse oxidativo em plantas (MATRINGE *et al.*, 1989). Além da elevada produção de ERO, o lactofen reduz a concentração de açúcares solúveis (FERREIRA *et al.*, 2011), os quais desempenham papel fundamental na detoxificação dessas espécies. Estes podem estar

relacionados às vias metabólicas pelas quais são produzidos os agentes detoxificantes. Ainda, podem alimentar a produção metabólica de NADPH, tal como na via oxidativa das pentoses fosfato, que pode contribuir para detoxificação das ERO (COUÉE *et al.*, 2006). Mesmo em plantas tolerantes como a soja, a aplicação de lactofen causa fitotoxidez caracterizada por necrose foliar que inicia logo 6 horas após a aplicação em pós-emergência e sob luz. Os sintomas aparecem nas folhas já desenvolvidas no momento da aplicação, e podem se manifestarem na forma de cloroses, bronzeamentos, pontos ou tecidos necróticos, enrugamento dos trifólios ou enrugamento do bordo das folhas novas (Figura 5a).

Este herbicida ocasiona acúmulo de protoporfirina-IX como resultado da translocação do substrato da Protox (Protoporfirinogênio IX) para o citoplasma (LEHNEN *et al.*, 1990), seguido pela oxidação não enzimática ou por oxidases insensíveis ao herbicida. Na presença de luz, a protoporfirina-IX acumulada, agora compartimentalizada, está incapaz de ser utilizada e reage com o O_2 , formando oxigênio singlete (1O_2). O 1O_2 formado causa a peroxidação dos lipídios e, eventualmente, mata as células (HESS, 2000; GRAHAM, 2005) (Figura 6).

Figura 5 - Danos causados pela aplicação de lactofen em soja, variedade cultivada NS-7114-RR (a, 60 g ha⁻¹ i.a.) e quebra da dominância apical proporcionado pelo lactofen, variedade cultivada NS 8490 RR (b, 180 g ha⁻¹ i.a.). UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

No entanto, atualmente, os produtores de soja têm utilizado o lactofen com outro objetivo. Por ser um herbicida de contato, os danos causados no ápice das plantas “trava” o crescimento das plantas temporariamente. Assim, tem-se utilizado o lactofen como regulador do crescimento de plantas. O estresse oxidativo causado pelo herbicida com posterior morte das células causa danos no ápice das plantas (SOARES, 2014). Devido os danos causados, ocorre a quebra da dominância apical, a qual repercute na formação de ramos laterais e redução do crescimento das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013), como já foi discutido acima (Figura 5b). Ramificações laterais são um dos componentes que regulam a produtividade de soja, pois influi na quantidade de nós reprodutivos formados e, consequentemente de vagens (OHYAMA *et al.*, 2013). Desta forma, a utilização de lactofen poderia contribuir no incremento da produtividade de soja. No entanto, o estresse que este causa devido ao seu modo de ação, poderia reduzir estes efeitos. Isto sugere a necessidade de posicionar, associado ao lactofen, substâncias que reduzem o estresse oxidativo em plantas (Figura 6).

Além disso, trabalhos têm mostrado que herbicidas do grupo difeniléteres, como o lactofen, possuem outras ações em plantas. De acordo com Graham (2005) e Landini, Graham e Graham (2003), o lactofen induz o acúmulo de isoflavonas, como a genisteína e daidzeína, e ativa a capacidade de elicitação de competência da gliceolina, isto é, capacidade do tecido de acumular este composto, além de induzir a expressão de genes relacionados a resistência contra patógenos. A genisteína é um composto tóxico a várias classes de fungos patogênicos (RIVERA-VARGAS; SCHMITTHENNER; GRAHAM, 1993), enquanto a daidzeína é o composto precursor da gliceolina (EBEL, 1986), a qual tem sido relacionada com resistência contra patógenos e insetos em plantas de soja (LANDINI; GRAHAM; GRAHAM, 2003).

Tais efeitos têm sido atribuídos ao forte dano oxidativo causado após a aplicação no lactofen. Neste caso, ocorre a ativação de genes em vias responsáveis pela acumulação de isoflavonas, as quais desencadeiam resposta de resistência a patógenos (LANDINI; GRAHAM; GRAHAM, 2003). Comprovando isso, já foi confirmado o efeito do lactofen na proteção contra *Phytophthora sojae* (podridão de fitófora) (LARUE, 2003). Dessa forma, áreas de soja onde é aplicado lactofen para controle das plantas daninhas podem apresentar resistência a determinadas doenças. Proteção contra mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (DANN; DIERS; HAMMERSCHMIDT, 1999) e nematoide do cisto (*Heterodera glycines*) em soja (LEVENE; OWEN; TYLKA, 1998) também têm sido relatados quando foi aplicado lactofen (LANDINI; GRAHAM; GRAHAM, 2003). No entanto, a menor incidência de mofo-branco pode ser devido ao menor porte das plantas tratadas com lactofen, o que reduz a formação do microclima favorável ao aparecimento de doença (Figura 6).

Figura 6 - Modelo fisiológico de ação do lactofen em plantas de soja

A aplicação de lactofen em plantas proporciona elevada formação de oxigênio singlete como modo de ação. Embora tal composto proporcione a morte em plantas suscetíveis ao herbicida, em plantas menos suscetíveis, como é o caso da soja, o $^1\text{O}_2$ pode causar outros efeitos. O $^1\text{O}_2$ tem sido relacionado como sinalizador de genes das vias de efeito de jasmonatos, salicilatos e etileno (DANON *et al.*, 2005). Estes hormônios e suas interações estão relacionados à defesa contra patógenos e insetos e a redução do crescimento de plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Desta forma, os efeitos do lactofen podem estar relacionados a interações hormonais, que promovem a tolerância a doenças e reduzem o crescimento de plantas. Já foi relatado anteriormente que em casos que há elevada indução de resistência ocorre redução do crescimento das plantas.

2.6 Boro

O boro (B) é um elemento do grupo dos semimetais, os quais compartilham entre os metais e os não-metals. No solo, este se predomina na forma de ácido bórico (H_3BO_3) quando o pH está entre 5 e 9, o que faz com que este seja altamente móvel e sujeito a lixiviação,

principalmente em solos arenosos. Em condições de pH do solo acima de 9,2, ocorre hidrólização do boro, que passa de H_2BO_3^- a H_4BO_4^- (TISDALE; NELSON; BEATON, 1985). Nas plantas, é absorvido principalmente na forma de H_3BO_3 , sendo que no citoplasma, a maior parte do nutriente se encontra nesta forma (MARSCHNER, 2012; FAGAN *et al.*, 2016). Em plantas leguminosas, como o caso da soja, há maior concentração de boro nos tecidos, fato atribuído a maior proporção de composto *cis-diol* nas paredes celulares. Desta forma, os sintomas da deficiência são mais pronunciados nestas plantas, comparado às poáceas (gramíneas) (LOOMS; DURST, 1992).

Embora a sua função nas plantas ainda seja pouco conhecida, comparado aos demais nutrientes, informações existem sobre o papel deste relacionado ao transporte de açúcares, síntese e estruturação da parede celular, lignificação, metabolismo dos carboidratos, do RNA, do ácido indolacético (AIA) e dos fenóis, respiração e função das membranas (MARSCHNER, 2012; FAGAN *et al.*, 2016). Em relação à parede celular, o B está intimamente ligado à formação dos complexos com as pectinas e polissacarídeos, estabilizando-a, sendo que a sua deficiência provoca má formação das paredes. Desta forma, a formação de novas estruturas nas plantas é dependente da disponibilidade de B (BLEVINS; LUKASZEWSKI, 1998; BROWN *et al.*, 2002; MARSCHNER, 2012). Aliado a isso, Schon e Blevins (1990) observaram que a aplicação de $1,12 \text{ kg ha}^{-1}$ B, dividida em seis aplicações entre o pré-florescimento e o enchimento das vagens, aumentou o número de ramificações e a quantidade de vagens por ramificação, o que repercutiu em maior produtividade (Figura 7).

A formação das ramificações nas plantas é dependente da interação entre auxina, citocinina e estrigolactonas. O B controla a síntese de AIA, pois regula a formação da AIA oxidase, a qual controla o nível de auxina nos tecidos (Figura 7). Desta forma, a deficiência de B causa aumento na concentração de auxina, o que reduz a expansão das células da raiz e poderia reduzir a formação das ramificações. Além disso, a inibição da formação de raízes poderia reduzir a síntese de citocininas, já que este hormônio é produzido principalmente nos ápices radiculares (CAMACHO-CRISTÓBAL *et al.*, 2015). No entanto, em casos de elevada deficiência de B, ocorre à morte do ápice das plantas, provavelmente pelo aumento excessivo na concentração de auxina, o que causa a quebra da dominância apical e induz a formação de ramificações (MARSCHNER, 2012; FAGAN *et al.*, 2016). Desta forma, a aplicação de B pode melhorar a relação auxina/citocinina, proporcionando o crescimento das gemas laterais, o que interfere no número de nós por área, os quais são importantes componentes de produtividade da soja.

Em condições de baixa disponibilidade de boro, ocorre redução do desenvolvimento dos pontos de crescimento (ápice da raiz e caules, folhas em desenvolvimento, gemas, flores e frutos). Estes efeitos são atribuídos ao papel do B na parede e membrana celular, particularmente nos tecidos vasculares, o que reduz o transporte de B e água (WANG *et al.*, 2015a). Durante a fase reprodutiva, a má formação dos tecidos vasculares compromete a fixação e o enchimento dos frutos, pois limita o transporte de energia e água para manter o desenvolvimento. Desta forma, a suplementação de B pode contribuir para a melhor formação dos pontos de crescimento.

Trabalhos avaliando a anatomia dos tecidos em plantas perenes têm mostrado danos severos nos tecidos vasculares a nível celular (LIU *et al.*, 2013; SUTINEN; VUORINEN; RIKALA, 2006, SUTINEN; APHALO; LEHTO, 2007; YANG *et al.*, 2013). Em café (*Coffea arabica*), Rosolem e Leite (2007) observaram, sob deficiência de B, tecidos vasculares desorganizados e descontinuidade do xilema e do floema no ápice do caule e das folhas novas.

Figura 7 - Modelo de ação do boro em plantas de soja

A deficiência de B limita o crescimento das raízes e resulta em tecidos vasculares fracos, o que pode alterar o fluxo da água e o transporte nas plantas, o que altera a atividade fotossintética das folhas. No entanto, não existem informações a respeito do efeito direto do B

na fotossíntese, embora, quando sob deficiência de B, ocorre redução da área foliar (WIMMER; EICHERT, 2013).

A detoxificação de ERO em plantas é um mecanismo vital que garante a sobrevivência em condições estressantes. Nesse sentido, o ciclo ascorbato/glutationa é um importante mecanismo que as células utilizam para se livrar do estresse oxidativo (CAMACHO-CRISTÓBAL; GONZÁLEZ-FONTES, 2008). Em condições de deficiência de B, tanto a concentração de ascorbato quanto a glutathione reduzem. Desta forma, a suplementação de B pode proporcionar melhor detoxificação de radicais livres, reduzindo o estresse nas plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de instalação e condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em campo experimental do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), município de Patos de Minas (MG) (18° 36' 36" de latitude Sul, 46° 29' 11" de longitude Oeste e 890 m de altitude) entre os meses de novembro de 2014 e maio de 2015. Patos de Minas, segundo a classificação de Köppen, apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1400 mm, sendo a temperatura média anual igual a 21,1° C, a máxima anual 27,8° C e a mínima anual 16,3° C (SOUZA *et al.*, 2005). Os dados meteorológicos foram coletados na Estação Meteorológica de Sertãozinho (EPAMIG) localizada no município de Patos de Minas (MG).

Os experimentos foram realizados utilizando a espécie *Glycine max* (L.) Merrill. Antes da semeadura, as sementes do Experimento I foram tratadas com inoculante (Atmo[®]) na dose de 0,5 mL kg⁻¹ de sementes, fungicida + inseticida [Standak Top[®] - Fipronil (250 g L⁻¹) + Tiofanato metílico (225 g L⁻¹) + Piraclostrobina (25 g L⁻¹)] na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes e molibdênio + cobalto + aminoácidos + extrato de algas [Exion DA[®] - molibdênio (75,6 g L⁻¹) + cobalto (7,56 g L⁻¹) + aminoácidos (163,8 g L⁻¹) + extrato de algas (37,8 g L⁻¹)]. As sementes do Experimento II foram tratadas com Atmo[®] (0,5 mL kg⁻¹ de sementes) + Standak Top[®] (na dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes) + molibdênio + cobalto [CoMo Platinum[®] - Molibdênio (235,5 g L⁻¹) + Cobalto (23,55 g L⁻¹) + Fósforo (43,96 g L⁻¹)] na dose de 150 mL ha⁻¹. Antes da semeadura, foi realizada a coleta de amostras de solo da área onde o experimento foi instalado. Conforme os dados da análise de solo apresentados na Tabela 1 não foi necessária aplicação de calcário para correção do solo. Como adubação, foi utilizado 450 kg ha⁻¹ da formulação 08:30:10 + 3,26% de Ca + 4,25% de S + 0,2% de B + 0,2% de Zn.

Tabela 1 - Análise de solo (0-20 cm) da área de condução dos experimentos. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

pH	P-rem	P-me1	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al
Água	mg L ⁻¹	----- mg dm ⁻³ -----		----- cmol _c dm ⁻³ -----			
5,60	4,94	10,23	85,70	2,94	0,56	0,02	1,30
SB	t	T	V	m	M.O.		
----- cmol _c dm ⁻³ -----			----- % -----				dag kg ⁻¹
3,72	3,74	5,02	74,11	0,53	3,12		

Para manejo das plantas daninhas, foi realizada aplicação de Roundup Transorb[®] (Glifosato 480 g [i.a.] L⁻¹) na dose de 2 L ha⁻¹ aos 14 e 35 dias após a semeadura. Para manejo de pragas foi realizado aplicação de Fastac Duo[®] [Acetamiprido (100 g L⁻¹) + Alfacipermetrina (200 g L⁻¹)] na dose de 250 mL [p.c.] ha⁻¹ + Pirate[®] [Clorfenapir (240 g L⁻¹)] na dose de 500 mL [p.c.] ha⁻¹ aos 84 dias após a semeadura. O controle de doenças foi realizado com a aplicação de Opera[®] [Piraclostrobina (133 g L⁻¹) + Epoxiconazol (50 g L⁻¹)] aos 54 dias após a semeadura e Orkestra[®] [Fluxapiroxade (167 g L⁻¹) + Piraclostrobina (333 g L⁻¹)] na dose de 300 mL [p.c.] ha⁻¹ aos 70 e 84 dias após a semeadura. Durante as aplicações de inseticida e fungicida foi adicionado à calda de pulverização Assist[®] na dose de 500 mL [p.c.] ha⁻¹. As aplicações de fungicida e inseticida foram suficientes para manter baixo e o mesmo nível de insetos e patógenos em todos os tratamentos, isolando os efeitos do ácido salicílico como indutor de resistência.

3.2 Experimento I

3.2.1 Caracterização do experimento

A semeadura foi realizada no dia 03 de dezembro de 2014. Foi utilizada a variedade cultivada NS-7114-RR (GM 7.1 e hábito de crescimento indeterminado), com população de 380.000 no momento da colheita. Foi adotado delineamento em blocos ao acaso, constituído por 4 tratamentos e 5 repetições (Tabela 2). Cada parcela experimental foi composta por quatro linhas com 7 metros (m) de comprimento por 0,45 m entrelinhas, totalizando uma área de 12,6 m². Assim a área total do experimento foi de 252 m². A área útil de cada parcela foi constituída pelas linhas centrais, descartando 0,5 m em cada extremidade da parcela. As aplicações foram realizadas aos 27 e 34 dias após semeadura, o que correspondeu aos estádios V₄ e V₆ (FEHR; CAVINESS, 1977), respectivamente.

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos utilizados na cultura de soja, Experimento I. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Descrição dos estádios de aplicação	
	V ₄	V ₆
T ₁ (Controle)	-	-
T ₂	Cinetina*	-
T ₃	-	Cinetina
T ₄	Cinetina	Cinetina

* Cinetina: dose de 50 mg ha⁻¹.

3.3 Experimento II

3.3.1 Caracterização do experimento

A semeadura foi realizada no dia 04 de dezembro de 2014. Foi adotado delineamento experimental em blocos ao acaso, constituído por um fatorial 16x2 com quatro repetições. Foi testado o efeito de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro e todas as suas interações (16 tratamentos) em duas variedades cultivadas com grupo de maturação distinto: NA-5909-RG (GM 6.7 e hábito de crescimento indeterminado) e NS-7114-RR (GM 7.1 e hábito de crescimento indeterminado) (informação verbal)¹ (Tabela 3), as quais foram semeadas para obtenção de 400.000 e 380.000 plantas ha⁻¹, respectivamente no momento da colheita. Cada parcela foi composta por quatro linhas com sete metros (m) de comprimento por 0,45 m entrelinhas, totalizando uma área de 12,6 m². Assim a área total do experimento foi de 1612,8 m². A área útil de cada parcela foi constituída pelas linhas centrais, descartando 0,5 m em cada extremidade da parcela. As aplicações foram realizadas aos 28 dias após a semeadura, correspondendo ao estágio V₄ (FEHR; CAVINESS, 1977).

¹ Informação verbal fornecida por Dr. Cláudio Godoi, gerente de pesquisa em melhoramento genético da Nidera Sementes em maio de 2016.

Tabela 3 - Descrição dos tratamentos utilizados na cultura de soja, Experimento II. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos*	Descrição
T ₁	Controle
T ₂	Lactofen*
T ₃	Cinetina**
T ₄	Ácido salicílico***
T ₅	Boro****
T ₆	Lactofen + cinetina
T ₇	Lactofen + ácido salicílico
T ₈	Lactofen + boro
T ₉	Lactofen + cinetina + ácido salicílico
T ₁₀	Lactofen + cinetina + boro
T ₁₁	Lactofen + ácido salicílico + boro
T ₁₂	Lactofen + cinetina + ácido salicílico + boro
T ₁₃	Cinetina + ácido salicílico
T ₁₄	Cinetina + boro
T ₁₅	Cinetina + ácido salicílico + boro
T ₁₆	Ácido salicílico + boro

* Todos os tratamentos foram conduzidos nas duas variedades cultivadas.

** Foi utilizada com fonte o herbicida Cobra[®] (240 g [i.a.] ha⁻¹), na dose de 250 mL ha⁻¹ (60 g [i.a.] ha⁻¹).

*** Dose de 50 mg ha⁻¹.

**** Dose de 200 mg ha⁻¹.

***** Foi utilizado com fonte o produto comercial Vitta Boro[®] (133 g [B] L⁻¹), na dose de 1000 mL ha⁻¹ (133 g [B] ha⁻¹).

As aplicações foliares foram realizadas no estágio V₄ com pulverizador costal propelido a CO₂. A barra utilizada continha quatro bicos tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com pressão de 2 bar. Para todas as aplicações foi utilizado volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Aos 63 DAS, com o objetivo de maximizar a atividade fisiológica das plantas, foi aplicado ureia (6 kg ha⁻¹), sacarose (12 kg ha⁻¹), mono-amônio-fosfato purificado (2,5 kg ha⁻¹), aminoácidos (Concorde[®], 1,5 L ha⁻¹), zinco (63 g ha⁻¹), cobre (58 g ha⁻¹), manganês (150 g ha⁻¹), molibdênio (52 g ha⁻¹), cobalto (2,4 g ha⁻¹), níquel (4,8 g ha⁻¹) e nitrato de potássio (KNO₃ - 1,5 kg ha⁻¹).

3.4 Avaliações

3.4.1 Avaliações bioquímicas

3.4.1.1 Atividade da nitrato redutase

A atividade da nitrato redutase foi realizada aos 39 e 53 DAS no Experimento I e aos 19 dias após a aplicação (DAA) (R_3) no Experimento II de acordo com a metodologia proposta por Mulder, Boxma e Van Veen (1959). Assim, foram retirados 200 mg de folhas frescas na forma de disco com 0,8 cm de diâmetro, os quais foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL com tampas contendo 4 mL de KNO_3 (0,25 M) em tampão fosfato. Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel alumínio e mantidos em banho Maria a 35°C durante 2 h agitado de 5 em 5 minutos. Logo após, foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL para cada um dos respectivos tratamentos, evitando partículas de folhas. Em seguida colocou-se H_2O destilada até completar 25 mL do balão e a seguir 1 mL de ácido sulfanílico. Essa solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min. Posteriormente adicionou-se 1 mL de alfa-naftalamina e 1 mL do tampão de acetato de sódio e completou-se o volume a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos no Espectrofotômetro, o qual foi ajustado ao valor zero com água destilada, a uma leitura de 540 nm.

A estimativa da atividade da nitrato redutase foi obtida por meio da curva padrão de nitrito (NO_2^-), ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^- . A partir das absorbâncias, foi ajustado o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear. De acordo com esses dados, foi realizado o cálculo da atividade da nitrato redutase, expressos em μg de N- NO_2 por g de fitomassa verde por hora.

3.4.1.2 Prolina

A determinação do teor de prolina foi realizada aos 89 DAS no Experimento I e aos 6 DAA (V_8) no Experimento II. Para determinação do teor de prolina, 200 mg de material vegetal liofilizado foram adicionados a 8 mL de ácido sulfossalicílico (3%), sendo a mistura deixada em agitação constante por uma hora à temperatura ambiente (25°C). Após esse período, o homogenato foi centrifugado a 3.000 x g por 10 minutos à temperatura ambiente. O extrato foi utilizado para determinação de prolina livre, de acordo com o método descrito por Bates, Waldren e Teare (1973), com algumas adaptações. Para uma alíquota de 1 mL do extrato, foi adicionado 1 mL de solução de ninhidrina ácida [1,25 g ninhidrina ácida + 30 mL de ácido acético glacial + ácido fosfórico (6 M)] + 1 mL de ácido acético glacial. Essa mistura

foi mantida em tubos com tampa rosqueável em banho Maria a 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 $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF].

3.4.1.3 Atividade de enzimas antioxidantes

A determinação da atividade das enzimas antioxidantes foi realizada aos 89 DAS no Experimento I e aos 6 DAA (V_8) no Experimento II.

3.4.1.4 Obtenção do extrato vegetal

Para estas análises, as amostras de folhas foram coletadas entre oito e dez da manhã, horário em que as enzimas expressam maior atividade. Estas amostras foram colocadas em sacos plásticos e embrulhadas em papel alumínio. Em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido, a fim de paralisar todas as reações imediatamente.

A extração do material vegetal foi realizada de acordo com Kar e Mishra (1976), com algumas modificações. Para isto, as folhas foram maceradas utilizando-se nitrogênio líquido, logo após foi realizada a extração adicionando 4 mL de tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 6,8) sobre 400 mg do material vegetal macerado. As amostras foram então, 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.

3.4.1.4.1 Conteúdo de proteína na folha

Para determinação do teor de proteína na folha foi utilizada a metodologia descrita por Bradford (1976). Sendo assim, o meio de reação foi composto por 30 μL de extrato vegetal + 1 mL de Reagente de Bradford e, após 5 minutos foram realizadas as leituras de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. Os teores de proteína foram obtidos com base em curva padrão de caseína.

3.4.1.4.2 Superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada segundo a metodologia de 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 preparadas em duplicata, sendo que, após o preparo do sistema de reação, uma das amostras foi exposta a luz durante 10 minutos, sem o papel alumínio, e a outra permanecerá com o papel alumínio. Após esse período foram realizadas leituras de absorbância a 560 nm em espectrofotômetro.

3.4.1.5 Peroxidase

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

3.4.1.6 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 realizada 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 ao qual foi 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 H_2O_2 quantidade de H_2O_2 é expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca. A determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio foi realizada aos 89 DAS no Experimento I e aos 6 dias após a aplicação (V_8) no Experimento II.

3.4.1.7 Peroxidação de lipídios

Foi determinada de acordo com a técnica de Heath e Packer (1968), citados por Rama Devi e Prasad (1998). Material vegetal (200 mg) liofilizado em nitrogênio líquido foi homogeneizado em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. Em seguida, o conteúdo foi transferido para tubos de ensaio com rosca e papel filme, e incubado em banho Maria a 90°C por 1 h. Após resfriamento, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos a temperatura ambiente, e, em seguida, o sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido a leituras de absorbância em espectrofotômetro na faixa de 560 e 600 nm. Os resultados foram expressos em nmol de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) por grama de matéria fresca. A peroxidação lipídica foi realizada aos 89 DAS no Experimento I e aos 6 (V₈) dias após a aplicação no Experimento II.

3.4.2 Avaliações fenométricas

3.4.2.1 Fenologia

Foi realizado acompanhamento diário do desenvolvimento das plantas no experimento para caracterização dos estádios fenológicos com base na escala fenológica proposta por Fehr e Caviness (1977), a fim de definir o momento certo das aplicações foliares e acompanhar o desenvolvimento da cultura.

3.4.2.2 Valor Spad

O valor Spad realizada aos 35, 55 e 77 DAS no Experimento I e aos 7 (V₇) e 29 (R₄) DAA no Experimento II. Para determinar a quantidade de clorofila na folha foi utilizado clorofilômetro *Soil Plant Analysis Development* (Spad, marca Minolta, modelo Spad-502[®]), que permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha sem destruí-la.

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

moléculas do tecido foliar desprovidas de clorofila (MINOLTA, 1989; JESUS; MARENCO, 2008).

3.4.2.3 Massa de matéria seca

As determinações de massa de matéria seca de raiz, caule, folha e órgãos reprodutivos foram realizadas aos 40, 67 e 91 DAS no Experimento I e aos 22 (R₃) e 74 (R₇) DAA no Experimento II. As determinações de massa de matéria seca foram realizadas utilizando uma planta para cada repetição. Cada órgão da planta foi acondicionado, separadamente, em sacos de papel, e a secagem das diferentes partes da planta foi realizada utilizando-se o método padrão de secagem em estufa com circulação de ar forçada e com temperatura de 65°C, até peso constante.

3.4.2.4 Número de nós e ramos laterais

Antes da colheita, foram coletadas quatro plantas em cada unidade experimental para contabilização do número de nós da haste principal e das hastes secundárias (ramos laterais). Ainda foi contabilizado o número de ramos laterais.

3.4.2.5 Número de vagens

Antes da colheita das plantas, foi contabilizado o número total de vagens das plantas. Para isso, foram coletadas 4 plantas para cada unidade experimental.

3.4.2.6 Produtividade

As plantas foram colhidas manualmente considerando-se as duas fileiras centrais. Foi descartado 0,5 m em cada extremidade. Logo após, as plantas foram trilhadas em trilhadora acoplada ao trator. Foi determinado o teor de água dos grãos e efetuado o cálculo da produtividade (produção por unidade de área) com o teor de água corrigido para 13% (0,13 g g⁻¹). Para pesagem dos grãos, foi utilizada uma balança digital com precisão de 0,01 grama.

3.4.2.7 Massa de 1.000 grãos

Após colheita, os grãos foram secos à umidade padrão de 13% e pesados 1.000 deles, escolhidos aleatoriamente.

3.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SISVAR[®] (FERREIRA, 2010). A normalidade dos resíduos da ANOVA e a homogeneidade entre as variâncias foram testadas a partir dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente,

ambos a 1% de significância. Logo após, foi realizada análise de variância, sendo análise simples para o Experimento I e fatorial para o Experimento II. As comparações entre as médias foram realizadas por meio do desvio padrão da média e teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro no experimento I e pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Elementos do clima

As condições meteorológicas permaneceram favoráveis ao desenvolvimento da cultura de soja durante todo o período do ensaio, exceto entre 25 de dezembro e 21 de janeiro. Nesse período, o qual coincidiu com o florescimento das plantas, houve apenas 12,8 mm de precipitação pluvial. Embora a distribuição da precipitação tenha sido bastante irregular, foram mensurados um total de 895 mm ao longo do ciclo de cultivo. A precipitação ideal para a cultura de soja varia entre 450 e 800 mm, bem distribuídos. Durante a fase vegetativa e reprodutiva, a precipitação foi de 222 e 676,7 mm, respectivamente (Figura 8).

Figura 8 - Valores de temperatura máxima (Tx, °C) e mínima (Tn, °C) e de precipitação pluvial (Pp, mm) referentes ao período de condução dos ensaios (4 de dezembro de 2014 a 20 de março de 2015). UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Em relação à temperatura, a mínima esteve sempre acima da temperatura basal para a cultura da soja (Figura 8), a qual é de 10°C (BROWN, 1960). Valores de temperaturas abaixo de 18°C reduzem o crescimento da cultura de soja, pois afeta a atividade fotossintética e reduz a atividade de enzimas (BOARD; ZHANG; HARVILLE, 1996). A temperatura máxima também esteve sempre abaixo da temperatura basal superior (35°C) para a cultura de soja (Figura 8). Temperaturas acima de 35°C causam efeitos similares aos das baixas

temperaturas, além de reduzir drasticamente a fotólise da água, o que compromete o crescimento das plantas (FERRIS *et al.*, 1998).

4.2 Experimento I: posicionamentos de cinetina

4.2.1 Atividade da nitrato redutase

A nitrato redutase é uma enzima que reduz nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-), passo chave na regulação da assimilação de nitrogênio. Por ser uma enzima dependente de energia proveniente da fotossíntese [NAD(P)H], a quantificação de sua atividade tem sido um importante sensor para medir o *status* fisiológico de plantas (MARSCHNER, 2012). Dessa forma, a determinação da atividade da nitrato redutase no presente trabalho foi capaz de distinguir os tratamentos utilizados (Figura 9, Anexo A).

Aos 39 dias após a semeadura, a maior atividade da nitrato redutase foi observada no tratamento com cinetina em $V_4 + V_6$. Neste caso, os incrementos foram de 16,2, 14,5 e 79,5% em relação ao Controle, cinetina (V_4) e cinetina em V_6 , respectivamente. Aos 53 DAS, todos os posicionamentos foram superiores ao Controle, com incremento de 74,6, 28,3 e 50,7% para a aplicação em V_4 , V_6 e $V_4 + V_6$, respectivamente (Figura 9, Anexo A). O maior incremento médio quando utilizado cinetina em $V_4 + V_6$, comparado ao Controle, sugere que para manter elevada atividade da nitrato redutase são necessárias aplicações sequenciais do hormônio.

Já tinha sido constatado por Yu, Sukumaran e Márton (1998) em *Arabidopsis thaliana* que a atividade da nitrato redutase aumentou entre 3 a 14 vezes quando as plantas foram cultivadas em meio contendo benziladenina ou quando o hormônio foi aplicado via folhas. Nesse caso, o aumento na atividade da enzima foi atribuído ao aumento da expressão do gene *Nia1*, o qual codifica a expressão da nitrato redutase.

Mais tarde, Reguera *et al.* (2013), utilizando plantas de arroz super expressando o gene *ipt*, observaram que sob condições de *deficit* hídrico, a atividade da enzima nitrato redutase aumentou 3 vezes comparado às plantas selvagem. No entanto, quando as plantas foram bem irrigadas, não houve diferença. Tal comportamento sugere que as citocininas são importantes para manutenção da atividade fisiológica das plantas em condições de estresse.

A assimilação de nitrogênio via nitrato oriundo do solo é fundamental para a produtividade de plantas de soja, mesmo estas sendo capazes de obter N via fixação biológica, pois há uma correlação positiva entre produtividade e assimilação de nitrogênio no estágio R_2 . Isso acontece porque, segundo Fabre e Planchon (2000), após o estágio R_2 ocorre brusca redução na atividade da fixação biológica, acompanhado por aumento da assimilação de nitrato até o estágio R_6 . Além disso, estes autores mostram que existe correlação entre a

fixação biológica nos estádios R_2 e R_5 e o teor de proteína nos grãos. Embora esta mesma correlação não tenha sido observada para a assimilação de nitrogênio via nitrato do solo, tais resultados mostram que é fundamental maximizar o metabolismo do nitrogênio durante a fase reprodutivo em sistemas de alto potencial produtivo.

Figura 9 - Atividade da enzima nitrato redutase (ANR, % em relação ao Controle) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão)

4.2.2 Teor de proteína na folha

O aumento na atividade da nitrato redutase possivelmente repercutiu em maior acúmulo de proteína na folha. A aplicação de cinetina em $V_4 + V_6$ proporcionou incremento médio no teor de proteína total solúvel de 16,2% em relação aos demais tratamentos (Figura 10), os quais corroboram Reguera *et al.* (2013), que observaram maior concentração de proteína na folha em plantas de arroz super expressando o gene *ipt* sob condições de *deficit* hídrico.

A quantificação do teor e proteína na folha é de extrema importância durante o crescimento reprodutivo, uma vez que, durante esta fase as plantas de soja redistribuem aminoácidos das folhas para o enchimento de grãos. No entanto, esta fase é a mais importante para a síntese de fotoassimilados, sendo assim, a perda de proteínas desestrutura a produção destas moléculas. Isso porque, as folhas são os órgãos comprometidos com a fixação

fotossintética do CO_2 atmosférico através da enzima Ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO). Nas folhas de soja, essa enzima perfaz 50% do total de proteína solúvel (FELLER; ANDERS; MAE, 2008). De acordo com Munier-Jolain, Ney e Duthion (1996), existe uma relação entre a velocidade de crescimento de grãos e enchimento dos mesmos. Segundo os autores a disponibilidade de nitrogênio em órgãos vegetativos é decisiva para o prolongamento do período de enchimento de grãos. Tal característica fisiológica já tinha sido descrita por Shibles e Sundberg (1998).

Elevado suprimento de nitrogênio até o estágio R_7 contribui para o aumento do teor de proteína dos grãos (FABRE; PLANCHON, 2000), confirmando a hipótese que o atraso na senescência e consequente remobilização de nitrogênio até o estágio R_6 , associado ao prolongamento do período de assimilação de nitrogênio, aumentam o teor de proteína nos grãos (LEFFEL *et al.*, 1992). No presente trabalho, não foi avaliado o teor de proteína nos grãos. No entanto, o aumento do teor de proteína nas folhas pode ser um indicativo da maior fonte de proteína para ser remobilizada durante a senescência e enchimento dos grãos.

Figura 10 - Teor de proteína total solúvel (mg g^{-1} [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Embora o metabolismo das proteínas seja importante para o crescimento das plantas, o custo do *turnover* dessas representa uma significativa perda da energia requerida para o

crescimento da planta (PENNING DE VRIES, 1974; PENNING DE VRIES, 1975; AMTHOR, 2000). Como exemplo, tem sido relatado que o *turnover* das proteínas representa um custo de aproximadamente 22 a 30% do ATP produzido diariamente ou 11 a 15% do ATP total produzido em plantas de *Dactylis glomerata* L. e *Festuca ovina* L., respectivamente (SCHEURWATER *et al.*, 2000). Desta forma, apenas o aumento na concentração de proteína não garante maior produtividade, pois há um custo na sua síntese e degradação, confirmando que, também, é necessário maximizar a atividade fotossintética para fornecer energia para a assimilação de nutrientes e síntese de esqueletos de carbono para o crescimento e reduzir o nível de estresse das plantas em sistemas de alta produtividade.

4.2.3 Metabolismo oxidativo

O metabolismo oxidativo (atividade da SOD, POD, teor de H_2O_2 e peroxidação lipídica) das plantas é um processo que acompanha as plantas durante toda a sua evolução. A formação de radicais livres ocorre devido à presença de dois elétrons desemparelhados na última camada da distribuição eletrônica no átomo de oxigênio, o que faz com que este receba elétrons, formando espécies reativas de oxigênio (ERO). Estima-se que entre 1 e 2% de todo o oxigênio consumido na planta cause a formação de ERO. As ERO formadas na planta são degradadas por uma série de vias enzimáticas e não enzimáticas, diminuindo os danos na planta. No entanto, sob condições adversas durante o desenvolvimento das plantas, as ERO se acumulam, o que causa danos em ácidos nucleicos, proteínas e membrana celular, ocasionando a peroxidação lipídica (GILL; TUTEJA, 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Portanto, em sistemas de manejo fisiológico, como no presente trabalho, é essencial avaliar pontos dentro do metabolismo oxidativo, como a formação das ERO (teor de H_2O_2), degradação (atividade das enzimas POD e SOD) e os danos que estas podem ter causado (peroxidação lipídica). Apenas dessa forma será possível concluir se os danos celulares causados foram proporcionados pela elevada produção de ERO e limitada atividade das enzimas e compostos antioxidantes, ou se mesmo com elevada atividade antioxidante, não foi possível degradar todas as substâncias tóxicas geradas.

Desta forma, no presente trabalho foram realizadas avaliações de atividade das enzimas SOD (Figura 11) e POD (Figura 12), concentração de H_2O_2 (Figura 13) e peroxidação lipídica (Figura 14). A atividade da enzima SOD foi superior no tratamento que recebeu cinetina em V_4 , no entanto este diferiu apenas do tratamento que recebeu cinetina em

V₆ e o Controle. A aplicação de cinetina em V₄ + V₆ proporcionou redução de 16,8% em relação à aplicação em V₄ (Figura 11).

A SOD é uma metaloenzima que reduz $O_2^{\bullet-}$ a $H_2O_2 + O_2$. Esta enzima pode ser encontrada em três formas, sendo Cu/Zn-SOD, Mn-SOD e Fe-SOD, as quais são encontradas frequentemente na mitocôndria e peroxissomos e citosol, respectivamente (GILL; TUTEJA, 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Figura 11 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, U µg⁻¹ [proteína]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

As peroxidases são um grupo de enzimas, mais ativas no cloroplasto e no glioxissomo, que compreendem a ascorbato peroxidase e a guaiacol peroxidase, as quais convertem H_2O_2 em água. A primeira utiliza o ascorbato como doador de elétrons e segunda prefere doadores aromáticos como o guaiacol e o pirogalol (GILL; TUTEJA, 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). Desta forma, a maior atividade da POD foi observada para a aplicação de cinetina nos estádios V₄ e V₆. Para estes tratamentos, o incremento médio em relação aos demais tratamentos foi de 43,5% (Figura 12). Estes resultados corroboram àqueles obtidos por Zavaleta-Mancera *et al.* (2007), os quais concluíram que a incubação de folhas de trigo no escuro em meio contendo benzilaminopurina (5 mL de uma solução contendo 10⁻¹ M

BAP) apresentaram aumento da catalase e ascorbato peroxidase, redução na concentração de H_2O_2 , o que repercutiu em menor porcentagem de perda de eletrólitos via membrana.

Figura 12 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] min^{-1} mg^{-1} [proteína]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

A redução do radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ produz H_2O_2 , uma ERO moderadamente reativa, que causa estresse oxidativo. Um dos efeitos do H_2O_2 é a inativação de enzimas pela oxidação dos grupos tiol. Entretanto, em baixas concentrações, o H_2O_2 atua como molécula sinalizadora de vários processos em plantas, como senescência, fotorrespiração, fotossíntese, movimento estomático, ciclo celular, desenvolvimento e tolerância a vários estresses bióticos e abióticos. A degradação do H_2O_2 pode ser realizada via catalase (mais ativa no peroxissomo), ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase (mais ativas no cloroplasto). Estas duas últimas utilizam como doador de elétrons o ascorbato ou guaiacol e pirogalol, respectivamente (GILL; TUTTEJA, 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

A alta atividade da POD, mesmo com apenas leves alterações na atividade da SOD, pode ser explicada através da geração espontânea de H_2O_2 , a qual não depende da SOD. Segundo Cheeseman (2007), oxidases com substrato limitado, como a glicolato oxidase no peroxissomo, xantina oxidase e urato oxidase no glioxissomo, enzimas contendo flavina como

acil-CoA oxidase e amina oxidase, oxalato oxidase e a sulfito oxidase podem formar espontaneamente H_2O_2 , confirmando que mesmo com baixa atividade da SOD, é possível que haja elevada geração de H_2O_2 , exigindo assim alta atividade das peroxidases para manutenção de baixo nível de estresse (NYATHI; BAKER, 2006).

Todos os posicionamentos reduziram o a concentração de H_2O_2 , sendo estes de 20,4, 24,1 e 33,7% para o posicionamento de cinetina em V_4 , cinetina em V_6 e cinetina em $V_4 + V_6$, respectivamente (Figura 13). Desta forma, o aumento na atividade da POD quando foi realizada aplicação de cinetina em V_4 ou V_6 , reduziu os níveis de H_2O_2 nestes tratamentos. No entanto, para o tratamento que recebeu aplicação em $V_4 + V_6$, onde não foi observada alteração na atividade da POD, o nível de H_2O_2 foi baixo. Isso significa que outras vias, como a catalase, podem ter agido para reduzir o nível do radical livre ou o tratamento aplicado proporcionou baixo nível de estresse.

Figura 13 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Quando a formação de radicais livres na célula é maior que a capacidade de degradação do metabolismo enzimático e não enzimático, ocorre a peroxidação lipídica. Desta forma, esta é o resultado do estresse oxidativo das plantas. Nesse processo, os compostos formados, como cetonas, monodehidroascorbato (MDA), entre outros, reagem com o ácido

tiobarbitúrico (TBA), formando produtos de coloração avermelhada, determinados substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esse processo permite a determinação da peroxidação lipídica via espectrofotômetro, através da incubação do tecido em elevada temperatura na presença de TBA (GILL; TUTEJA, 2010; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Figura 14 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g⁻¹ [MF]) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Desta forma, as aplicações realizadas no presente trabalho alteraram esta variável, sendo a maior a peroxidação lipídica observada no tratamento em que foi aplicado cinetina em V₄ + V₆, embora este não tenha diferido do Controle e da aplicação de cinetina em V₄ (Figura 14). Possivelmente, o maior suprimento de citocinina estimulou a síntese de ácido salicílico, visto que foi observado por Masuta *et al.* (1995) que plantas de tabaco resistentes a diversas viroses apresentaram alta concentração de citocinina, a qual foi correlacionado com a concentração de ácido salicílico. Já foi citado anteriormente que durante a sinalização do ácido salicílico, este promove acúmulo de ERO, as quais atuam como sinalizadores para expressão de genes relacionados às funções do hormônio. Ainda, segundo Mittler (2002), a aplicação de elevadas concentrações de ácido salicílico (mais que 1 mM) induz altos níveis de espécies reativas de oxigênio, causa decréscimo na capacidade de detoxificação das ERO, morte celular e elevado estresse oxidativo. Desta forma, em trabalhos em que há elevada

adição de hormônios, é necessária a utilização de estratégias de manejo fisiológico, como proposto por Soares (2014).

Os efeitos das citocininas em estresses ainda são muito controversos. Como exemplo, tem sido relatado que a produção de citocinina aumenta a tolerância à seca, enquanto que redução no nível de citocinina proporciona um efeito positivo na tolerância ao estresse hídrico (RIVERO *et al.*, 2007; WERNER *et al.*, 2010; QIN *et al.*, 2011; MACKOVÁ *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2015b). Como exemplo, em tabaco, a aplicação de N(6)-benziladenina aumentou a produção de radicais livres, o que resultou em perda da viabilidade das células (MLEJNEK; DOLEŽEL; PROCHÁZKA, 2003). No entanto, a aplicação de zeatina ribosídeo aumentou a atividade da SOD e APX após o estresse por calor (LIU; HUANG, 2002).

4.2.4 Teor de prolina

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 levadas exposições de arsênio (MISHRA; DUBEY, 2006); (ii) vários estudos tem atribuído a prolina a atividade antioxidante, sugerindo assim um potente agente com atividade “scavenging” (desintoxicante) (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; MATYSIK *et al.*, 2002). Em algas a prolina diminui a peroxidação lipídica quando exposta a metal pesado (MEHTA; GAUR, 1999). Plantas de arroz com aplicação de prolina antes da intoxicação com mercúrio apresentam menor concentração de H₂O₂. Nestes casos, a produção de oxigênio *singlet* e radicais hidroxil são diminuídas pela prolina. Estes podem danificar as membranas dos tilacóides, especialmente aquelas ligadas ao fotossistema II (ALIA; SARADHI; MOHANTY, 1997); (iii) durante os períodos de estresses o funcionamento do ciclo de Calvin reduz, prevenindo assim a oxidação de NADPH para a restauração do NADP⁺. Quando combinado com a luminosidade, o fluxo no transporte de elétrons pode ser suprimido pelo insuficiente pool de aceptor de elétrons (NADP⁺) induzindo assim a produção de oxigênio *singlet* no centro de reação do fotossistema I, produzindo ERO (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; SZABADOS; SAVOURÉ, 2010).

Na mitocôndria, a prolina apresenta distintas funções protetivas. Após o estresse, *pools* de prolina suprem um potencial redutor para a mitocôndria através da oxidação da mesma

através da prolina dehidrogenase (PDH) oferecendo elétrons para a cadeia transportadora contribuindo para suprir a energia para o crescimento (HARE; CRESS, 1997; KAVI-KISHOR *et al.*, 2005). Além disso, a prolina atua na proteção do complexo II da mitocôndria durante o estresse salino estabilizando a respiração mitocondrial (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Desta forma, a concentração de prolina no tecido vegetal pode ser considerada um indicativo do nível de estresse da planta.

Com base nas informações acima, os dados da Figura 15 mostram que todos os tratamentos reduziram o teor de prolina comparado ao Controle. A maior redução foi observada no tratamento que recebeu a aplicação de cinetina em $V_4 + V_6$, sendo esta 49,5% inferior ao Controle. No entanto, a redução no teor de prolina neste tratamento não significou menor nível de estresse, visto que este apresentou a maior peroxidação lipídica, embora não tenha diferido do Controle e da aplicação de cinetina em V_4 (Figura 14).

Sob condições de *deficit* hídrico, Reguera *et al.* (2013) observaram drástica redução no teor de prolina em plantas com super expressão do gene *ipt*. Neste caso, parece que o menor teor de prolina é apenas um reflexo do nível de estresse da planta, pois as plantas mesmo sob estresse, mantiveram elevado assimilação de N e C, sugerindo que possivelmente, a tolerância ao estresse mediada pela citocinina ocorre por uma via independente da prolina. Além disso, há uma diferença de ambiente entre o trabalho de Reguera *et al.* (2013) e o presente trabalho, pois os autores conduziram as plantas em câmara de crescimento com ambiente controlado, reduzindo o máximo possível outros estresses. No trabalho atual, realizado em campo, vários estresses podem ter afetado o desenvolvimento das plantas, devido à instabilidade da precipitação e temperatura após a aplicação (Figura 8). Desta forma, estes podem ter causado alteração em vias que não foram sensíveis ao acúmulo de prolina, ocasionando maior nível de peroxidação lipídica mesmo com baixo nível de prolina.

A aplicação em V_4 ou V_6 proporcionaram reduções de 38,5 e 26,6% em relação ao Controle, respectivamente. Há relatos mostrando que a maior tolerância a estresse em plantas com elevada concentração de citocinina está relacionado, em partes, ao acúmulo de prolina (MEREWITZ *et al.*, 2012), fato não confirmado neste trabalho, pois mesmo com baixo nível de prolina, a aplicação de cinetina em V_6 proporcionou a menor peroxidação lipídica. Isso significa que outras vias, como maior atividade da POD, atuaram para reduzir o nível de estresse das plantas.

Merewitz *et al.* (2012) relatam que a maior tolerância ao *deficit* hídrico em *Agrostis stolonifera* ocorreu por intermédio do acúmulo de aminoácidos (alanina, glicina, valina, prolina, ácido γ -aminobutírico, etanolamina e ácido piroglutâmico), carboidratos (frutose,

glicose e galactose), ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico e ácido oxálico), sendo que estes podem aumentar a tolerância a estresses devido aos seus papéis na sinalização, ajuste osmótico e respiração para produção de energia.

Figura 15 - Teor de prolina ($\mu\text{mol de prolina g}^{-1} \text{ MF}$) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

4.2.5 Índice Spad

O índice Spad é uma medida indireta do teor de clorofila das folhas. O equipamento portátil avalia o índice verde da folha de forma prática e rápida, sem depender de uma metodologia analítica laboratorial. Desta forma, esta avaliação tem sido bastante utilizada para correlacionar com o teor de clorofila das folhas. Os dados apresentados na Figura 16 e no Anexo B mostram o comportamento desta avaliação para os tratamentos testados. Aos 35 e 55 dias após a semeadura, não foi observado diferença entre os tratamentos. Aos 77 DAS, a aplicação de cinetina em V₄ proporcionou redução média de 7,3% em relação aos demais tratamentos.

Embora não tenha sido observada diferença no índice Spad após a aplicação de cinetina, Cortleven e Schmölling (2015) apresentaram que as citocininas estimulam vários passos e enzimas na via de biossíntese das clorofilas, além de estimular a produção de cloroplastos.

Figura 16 - Índice Spad (% em relação ao Controle) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão)

4.2.6 Massa de matéria seca de raiz, caule, folha e vagens

A aplicação de cinetina proporcionou incremento no acúmulo de massa de matéria seca de raízes na avaliação realizada aos 40 DAS em todos os posicionamentos em relação ao Controle (Figura 17, Anexo C). Aos 67 DAS, a aplicação de cinetina em V₆ proporcionou incremento de 24,0, 23,2 e 69,0% em relação à cinetina em V₄, Controle e V₄ + V₆, respectivamente. A aplicação de cinetina em V₄ + V₆ aos 91 DAS proporcionou o maior incremento de massa de matéria seca de raízes, embora não tenha diferido da aplicação em V₆.

O aumento no acúmulo da massa de matéria seca de raízes após a aplicação de cinetina provavelmente é devido à maior atividade da nitrato redutase e redução do nível de estresse, o que proporcionou maior fotossíntese líquida nas plantas tratadas. O elevado crescimento radicular é importante, pois aumenta a capacidade das plantas em absorver água e nutrientes. Plantas com área radicular superior são mais tolerantes a possíveis estresses devido a maior área de exploração do solo (LARCHER, 2004), proporcionando maior crescimento da parte aérea. Nos pontos de crescimento radicular se localiza a maior parte da síntese de citocininas, o que contribui para o maior crescimento da parte aérea. Além disso, a maior área radicular

pode proporcionar maior formação dos nódulos, o que pode repercutir em maior assimilação de N pelas plantas (FAGAN *et al.*, 2015).

Figura 17 - Massa de matéria seca de raízes (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão)

A citocinina também está relacionada com a nodulação, pois de acordo com Fei e Vessey (2004), elevados níveis de citocinina estão associados com aumento na nodulação, enquanto que baixos níveis são correlacionados com aumento de N no solo. Além disso, a maior formação de raízes também é importante para a síntese das citocininas. Estas são produzidas nas pontas das raízes e transportadas para a parte aérea, onde estimulam o crescimento (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O crescimento da parte aérea está associado ao crescimento radicular, pois maior formação de raízes aumenta a absorção de água e nutrientes, potencializando o crescimento de caule, folhas e órgãos reprodutivos. Desta forma, o maior acúmulo de massa de matéria seca de raízes, associado ao aumento na atividade da nitrato redutase e menor nível de estresse, repercutiu em incremento no acúmulo de massa de matéria seca de caule (Figura 18, Anexo D).

Aos 40 DAS, a aplicação de cinetina proporcionou incremento no acúmulo de massa de matéria seca de caule em todos os posicionamentos, sendo este aumento de 27,8%, em

média, em relação ao Controle. Para a avaliação aos 67 DAS, todos os posicionamentos foram superiores ao Controle, sendo os acréscimos de 20,2, 32,2 e 23,2% para a aplicação de cinetina em V₄, V₆ e V₄ + V₆, respectivamente. Aos 91 DAS, a aplicação de cinetina em V₄ + V₆ proporcionou o maior aumento em relação ao Controle, embora este não tenha diferido da aplicação em V₄ e V₆ (Figura 18, Anexo D).

Figura 18 - Massa de matéria seca de caule (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão)

Embora a concentração de nitrogênio na planta represente apenas 3% da massa seca total de uma planta, Levin, Mooney e Field (1989) afirmam que a deficiência deste elemento é altamente limitante para o crescimento e produtividade das culturas, pois este é controlador de diversos processos tais como, distribuição de matéria seca pela planta e assimilação de carbono através da fotossíntese.

Segundo Lawlor (2002), o papel do nitrogênio na produção de fitomassa seca e, conseqüentemente, remobilização para os grãos, está diretamente relacionado com a fotossíntese, pois a energia dos fótons é convertida em energia química, armazenada em ATP e metabólitos secundários, primeiramente o NADH, o qual é utilizado na síntese de assimilados de carbono e nitrogênio, particularmente carboidratos e aminoácidos. Taiz e

Zeiger (2013) afirmam que uma rápida assimilação de CO₂ requer grande quantidade de cloroplastos, principalmente os complexos coletores de luz.

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

Aos 40 DAS, todos os posicionamentos incrementaram o acúmulo de massa de matéria seca de folhas em relação ao Controle, no entanto não foi observada diferença entre a aplicação em V₄, V₆ e V₄ + V₆ (Figura 19, Anexo E).

Aos 67 DAS, a aplicação de cinetina proporcionou o maior incremento no acúmulo de massa de matéria seca em relação aos demais tratamentos, sendo que em relação ao Controle, este foi de 18,8% (Figura 19, Anexo E).

O posicionamento de cinetina em V₄ ou V₆ apresentou menor acúmulo de massa de matéria seca de caule em relação ao Controle. Durante este período, o aumento na massa de matéria seca de folhas é importante para a cultura da soja, pois coincide com o período de formação das vagens e enchimento de grãos, fases de alta demanda de fotoassimilados. As citocininas podem ter atuado neste processo devido ao seu papel na redução da senescência, mantendo as folhas, principalmente do estrato inferior, vivas por maior período de tempo.

Já foi citado anteriormente que as citocininas mantêm a integridade das membranas, evitando que proteases do vacúolo sejam transportadas ao citoplasma e hidrolisem proteínas solúveis das membranas plasmáticas, do cloroplasto e mitocôndria. Além disso, tal hormônio previne a oxidação de ácidos graxos (fosfolipídios) evitando a degradação das membranas, inibição da formação e quebra de radicais livres, como superóxidos (O₂⁻) e hidroxilas (OH⁻), prevenindo a oxidação das membranas, inibição da degradação de clorofila, mantendo os tecidos verdes e promoção da síntese de proteínas e RNA (ZAVALETA-MANCERA *et al.*, 2007).

Além disso, a redução da senescência pode estar relacionada ao aumento na atividade da invertase ácida. Esta enzima tem a sua atividade estimulada pela citocinina e catalisa a clivagem da sacarose em hexoses quando esta é descarregada nos órgãos drenos (LARA *et al.*, 2004). Desta forma, a aplicação de citocinina pode manter as folhas verdes por maior período de tempo, além de estimular o descarregamento da energia nos órgãos dreno, o que pode repercutir em maior produtividade.

Figura 19 - Massa de matéria seca de folhas (% em relação ao Controle) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (barras representam o desvio padrão)

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

A massa de matéria seca de vagens é um reflexo do desenvolvimento radicular e vegetativo das plantas e da atividade fisiológica das plantas. Assim, a aplicação de cinetina em V_6 proporcionou a maior acúmulo de massa de matéria seca de vagens, embora este tenha diferido apenas da aplicação em V_4 (Figura 20).

Figura 20 - Massa de matéria seca de vagens (g planta⁻¹) de soja submetida ao posicionamento de cinetina em diferentes estádios. Dados referentes à avaliação realizada aos 67 DAS. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

Malek *et al.* (2012) citam que a maior produtividade de soja foi relacionada à maior fotossíntese líquida no florescimento e enchimento de grãos, o que proporcionou maior taxa de crescimento das plantas e maior número de vagens por planta, o que, associado ao maior índice de colheita, permitiu maior produtividade.

4.2.7 Massa de 1000 grãos e produtividade

A massa de 1000 grãos foi superior no tratamento que recebeu a aplicação de cinetina em V₄ + V₆ e V₄, embora estes não tenham diferido do Controle (Figura 21). A aplicação de cinetina em V₆ reduziu a massa de 1000 grãos comparada à aplicação em V₄ + V₆ e V₄, fato este que pode ser atribuído à maior produtividade numérica obtida neste tratamento, pois não foi observado diferença entre todos os posicionamentos de cinetina, no entanto, em média, estes foram 16,9% superior ao Controle (Figura 22).

Figura 21 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

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

Figura 22 - Produtividade (kg ha⁻¹) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015 (* médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro)

4.2.8 Resumo: modelo de ação fisiológica da cinetina

O modelo de ação da cinetina pode ser observado na Figura 23. A aplicação de cinetina aumentou a assimilação de nitrogênio (Figura 9), a qual repercutiu em incremento no teor de proteína na folha (apenas para o posicionamento em V₄ + V₆) (Figura 10). Aliado a isso, foi constatado que a cinetina manteve menor nível de estresse nas plantas, comprovado pela leve redução na atividade da SOD (Figura 11), alta atividade da POD (Figura 12), menor concentração de H₂O₂ (Figura 13) e prolina (Figura 15), com leve redução na peroxidação lipídica (Figura 14). A maior assimilação de nitrogênio associado ao menor nível de estresse propiciou incremento no acúmulo de massa de matéria seca de raiz (Figura 17), caule (Figura 18), folha (Figura 19) e vagens (Figura 20), repercutindo em maior produtividade das plantas (Figura 22).

Figura 23 - Modelo de ação da cinetina aplicada em diferentes estádios na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

4.3 Experimento II: associações entre lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro

4.3.1 Caracterização do desenvolvimento das variedades cultivadas

O número de dias após a semeadura, correspondente aos estádios fenológicos nas duas variedades cultivadas de soja é apresentado na Tabela 4. Conforme esperado, a variedade cultivada NA-5909-RG apresentou ciclo menor comparado à NS-7114-RR, devido as diferenças entre grupos de maturação.

O termo grupo de maturação foi adotado no Brasil no início deste século pelas empresas americanas que desenvolvem sementes para o Brasil com o objetivo de substituir os termos precoce, semiprecoce, médio e tardio, utilizados anteriormente (ALLIPRANDINI *et al.*, 2009). A utilização destes termos é muito relativa, pois devido a sensibilidade da soja ao fotoperíodo e temperatura, uma variedade cultivada de ciclo médio para o Rio Grande do Sul não apresentará o mesmo comportamento nas regiões Centro Oeste, Norte e Nordeste. Desta forma, a utilização desta nova nomenclatura permite a recomendação precisa das variedades cultivadas dentro de cada ambiente de produção de soja, devido a padrões pré-estabelecidos (PASCHAL; BERGER; NARI, 2000). Como exemplo, uma variedade cultivada com GM 6.7 apresenta ciclo menor comparado a uma variedade cultivada com GM 7.3 na região de Patos de Minas (MG).

Tabela 4 - Descrição do número de dias após a semeadura correspondentes aos estádios fenológicos em duas variedades cultivadas de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Estádio	Dias após a semeadura	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Semeadura		0
V ₄		26
V ₆		33
R ₁		40
R ₅	58	61
R ₈	104	112
R ₉	108	117

A variedade cultivada NS-7114-RR apresentou 9 dias de aumento na fase reprodutiva em relação à NA-5909-RG. A maior duração da fase reprodutiva pode repercutir em maior potencial produtivo dessa variedade cultivada, devido ao aumento no período de produção de fotoassimilados (Van ROEKEL; PURCELL; SALMERÓN, 2015). Alguns autores relatam que, variedades cultivadas de soja com menor período efetivo de enchimento de grãos apresentam mais rápida remobilização de N, rápida queda na assimilação de CO₂ e abscisão precoce das folhas (EGLI; LEGGETT; DUNCAN, 1987; GAY; EGLI; REICOSKY, 1980), o que reduz o potencial produtivo (Van ROEKEL; PURCELL; SALMERÓN, 2015). Desta forma, nas condições em que os ensaios foram realizados no presente trabalho, a variedade cultivada NS-7114-RR apresentou maior potencial produtivo.

4.3.2 Atividade da nitrato redutase

Ao avaliar o efeito entre as variedades cultivadas analisadas, na média de todos os tratamentos, a NA-5909-RG (grupo de maturação 6.7) apresentou aumento de 30,4% na atividade da enzima em relação à NS-7114-RR (grupo de maturação 7.1). O mesmo desempenho também foi observado no Controle, onde a variedade cultivada NA-5909-RG apresentou ANR 4 vezes superior à variedade cultivada NS-7114-RR (Tabela 5).

Trabalhos conduzidos nos Estados Unidos da América, comparando variedades cultivadas novas (GM 2 e 3) e antigas (GM 00 e 000), mostram que aquelas liberadas recentemente são mais produtivas (De BRUIN; PEDERSEN, 2009; ROWNTREE *et al.*, 2013). Esses autores atribuíram tal fato a aumentos no acúmulo de matéria seca, taxa de crescimento e retenção das folhas durante os estádios reprodutivos, porém poucas alterações

durante o crescimento vegetativo foram verificadas. Desta forma, acredita-se que estas variedades cultivadas também apresentam alterações na atividade fisiológica, o que proporciona maior crescimento, embora isso não tenha sido investigado profundamente.

No presente trabalho, na maioria das vezes a variedade cultivada com GM 6.7 apresentou maior assimilação de N (maior ANR). É especulado que, por ser de ciclo menor comparada com a GM 7.1, a taxa de absorção é maior no mesmo período de tempo, o que proporciona maior ANR, embora esta informação precise ser confirmada com novos trabalhos. Dando suporte a esta hipótese, Kumudini, Hume e Chu (2002) observaram que variedades cultivadas de grupo de maturação precoce (115 dias) e tardia (122 dias) apresentaram concentração de N semelhante no final do ciclo.

Além do efeito das variedades cultivadas na ANR, também foram observadas alterações na ANR em função do tratamento aplicado via foliar, sendo que estas respostas foram dependentes da variedade cultivada. Desta forma, na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de LC, KIN, AS e B, isolados, reduziram a atividade da enzima em 33,3, 38,5, 42,7 e 68,8% em relação ao Controle, respectivamente, enquanto que na NS-7114-RR, LC e B, isolados incrementaram a atividade em 79,2 e 112,5%, comparado ao Controle, respectivamente.

Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC isolado proporcionou aumento de 79,2% em relação ao Controle (Tabela 5). No entanto, o aumento na assimilação de N após a aplicação de LC não é esperado, devido ao estresse causado pela aplicação do herbicida. O LC induz o acúmulo de porfirinas, as quais são fortes promotoras da formação de oxigênio *singlet* sob luz, causando peroxidação das membranas celulares. Além disso, foi observada drástica redução no teor de clorofila total 3 dias após a aplicação de lactofen (FERREIRA *et al.*, 2010). Desta forma, um dos prováveis efeitos do aumento na atividade da nitrato redutase pode estar relacionado à época em que a avaliação foi realizada (19 DAA). No trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2011), a planta de soja que receberam lactofen se recuperaram do dano entre 7 e 14 DAA.

Tabela 5 - Atividade da enzima nitrato redutase (ANR, $\mu\text{g [N-NO}_2\text{] g}^{-1}$ [FV] h^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	ANR ($\mu\text{g [N-NO}_2\text{] g}^{-1}$ [FV] h^{-1})	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	0,96aA	0,24eB
LC	0,64bA	0,43cB
KIN	0,59cA	0,18eB
AS	0,55cA	0,24eB
B	0,30dB	0,51bA
LC + KIN	0,78bA	0,32dB
LC + AS	0,68bA	0,47cB
LC + B	0,59cA	0,42cB
LC + KIN + AS	0,36dB	0,59bA
LC + KIN + B	0,38dB	0,55bA
LC + AS + B	0,53cA	0,19eB
LC + KIN + AS + B	0,69bA	0,53bB
KIN + AS	0,71bA	0,35dB
KIN + B	0,57cB	1,13aA
KIN + AS + B	0,91aA	0,56bB
AS + B	0,38dB	0,57bA
Média	0,60	0,46
cv (%)	12,37	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro

Embora a aplicação de KIN isolada não tenha alterado a atividade da nitrato redutase em relação ao Controle (Tabela 5), tal comportamento não repercute os resultados encontrado no ensaio I, o que confirma a instabilidade de resposta quando hormônios são aplicados isolados. Comprovando tal comportamento, todas as associações contendo KIN foram superiores à KIN isolada. Neste caso, o maior aumento foi observado para KIN + B, sendo este 5,2 vezes superior. Desta forma, a maior resposta com a aplicação de hormônios é obtida quando este é associado a outras aplicações.

A aplicação de B isolado na variedade cultivada NS-7114-RR proporcionou aumento de 112% na atividade da nitrato redutase em relação ao Controle (Tabela 5). Já tinha sido mostrado por Kastori e Petrovic (1989) que a deficiência de B reduz a assimilação de nitrato em plantas. Posteriormente, Camacho-Cristóbal e González-Fontes (2007) utilizando plantas de tabaco observou redução na concentração de nitrato e atividade da nitrato redutase sob deficiência de B. Além disso, a deficiência de boro também reduziu a concentração de cálcio, magnésio e potássio na folha. Estes autores atribuíram este fato à redução nos níveis de transcrição de *Nia*, gene estrutural da nitrato redutase. Além disso, a deficiência de B reduz a atividade da H^+ -ATPase, a qual é essencial para a absorção de nitrato, devido a manutenção do gradiente eletroquímico necessário para o cotransporte do NO_3^- (CAMACHO-CRISTÓBAL; GONZÁLEZ-FONTES, 2007). Desta forma, a aplicação de B pode aumentar a assimilação de N devido ao estímulo da atividade da nitrato redutase.

Embora a aplicação de AS isolado não tenha alterado a atividade da nitrato redutase na variedade cultivada NS-7114-RR (Tabela 5), Kumar, Kumar e Bandana (2010); Aydin e Nalbantoğlu (2011) e Hayat *et al.* (2012) observaram aumento na atividade da nitrato redutase após a aplicação de AS em pepino (*Cucumis sativus* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.) e grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), respectivamente. De acordo estes autores, o AS aumenta a estabilidade da enzima, aumento a sua atividade. Ainda, o AS aumenta a estabilidade da estrutura da membrana e sua fluidez, o que facilita a absorção dos nutrientes, inclusive o nitrato, o qual estimula a atividade da enzima. Em trabalho mais recente, Hayat *et al.* (2014) observaram que a aplicação de 10^{-5} M AS aumentou a atividade da nitrato redutase, glutamina sintetase (GS), glutamato sintase (GOGAT) e glutamato dehidrogenase (GDH) em plantas de grão-de-bico. Desta forma, a aplicação de AS estimula o metabolismo do nitrogênio, o que pode repercutir em maior crescimento das plantas tratadas.

Quando houve associação dos tratamentos, os resultados repercutiram o efeito da aplicação isolada. Assim, na NA-5909-RG, somente a aplicação de KIN + AS + B não reduziu a atividade da nitrato em relação ao Controle. No entanto, na NS-7114-RR, apenas para a aplicação de KIN, AS e LC + AS + B não houve aumento na atividade da enzima em relação ao Controle. Desta forma, a associação de LC com KIN + AS, KIN + B e KIN + AS + B incrementou a atividade da enzima em 29,4% em relação ao LC isolado, respectivamente. Apenas quando o AS foi associado com LC + B não houve aumento em relação ao AS isolado. Estes resultados mostram que quando as aplicações são realizadas associadas os efeitos são potencializados, provavelmente devido à maior possibilidade de ações na planta.

No entanto, para o B, apenas a sua associação com KIN proporcionou aumento na atividade da enzima em relação ao B isolado (Tabela 5).

Salvagiotti *et al.* (2008) avaliaram mais de 600 dados de campo em sua revisão, concluíram que, em média, 50-60% do N acumulado pela soja é fornecido pela fixação biológica, o que significa que a assimilação de N via nitrato do solo é fundamental para a planta. Desta forma, o aumento na assimilação de N via incremento na atividade da nitrato redutase é uma característica importante em sistemas que visam alto potencial produtivo de soja, principalmente nas fases de elevada demanda pela planta, como o início da formação das vagens, período em que foi realizada a avaliação.

4.3.3 Teor de proteína na folha

Embora a variedade cultivada NA-5909-RG tenha apresentado maior assimilação de nitrogênio (constatado pela maior atividade da ANR), não observado aumento no teor de proteína na folha para esta variedade cultivada quando se analisa o Controle. No entanto a aplicação de KIN; LC + AS; LC + KIN + AS + B; KIN + AS e AS + B proporcionou aumento no teor de proteína solúvel total na folha da variedade cultivada NA-5909-RG, enquanto que a aplicação de AS; B; LC + B; LC + KIN + AS; LC + AS + B e KIN + AS + B repercutiu em maior teor de proteína nas folhas da variedade cultivada NS-7114-RR. Os demais tratamentos não diferiram significativamente (Tabela 6). Desta forma, as alterações no teor de proteína ocorreram em função da resposta distinta de cada uma das variedades cultivadas aos tratamentos aplicados. Em sementes, o acúmulo de proteína é dependente da disponibilidade de fotoassimilados e N (ROTUNDO *et al.*, 2009). Acredita-se que o acúmulo de proteína na folha siga o mesmo comportamento. Desta forma, Zhao, Zheng e Arima (2014) concluíram que, embora exista relação entre o teor de proteína e a produtividade de soja, estes efeitos são dependentes da variedade cultivada utilizada.

O teor de proteína para na folha da variedade cultivada NA-5909-RG variou entre 41,4 e 50,1 mg g⁻¹ de matéria fresca. Nesta, a maior concentração foi observada com a aplicação de LC + KIN + AS + B, o qual foi 18,7% superior ao Controle. Nesta variedade cultivada, a aplicação de KIN, AS e B, isolados, incrementou o teor de proteína na folha em 5,7, 3,1 e 4,3%, respectivamente, em relação ao Controle (Tabela 6). Assim sendo, estes dados não repercutem a ANR, pois para estes tratamentos foi observado redução na atividade da enzima, provavelmente esse efeito esteja mais relacionado a fixação biológica. Reguera *et al.* (2013) mostraram que plantas de arroz super expressando o gene *ipt*, o qual promove elevada produção de KIN, continham maior teor de proteína na folha sob condições de estresse, o que

foi correlacionado com a atividade da atividade nitrato e nitrito redutase. Desta forma, no presente trabalho, embora não tenha sido observado aumento na ANR, a aplicação de KIN aumentou o teor de proteína.

Tabela 6 - Teor de proteína na folha (mg g^{-1} [MF]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Teor de proteína (mg g^{-1} [MF])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	42,2d ^{NS}	40,9d
LC	41,4d ^{NS}	43,2c
KIN	44,6cA	41,0dB
AS	43,5cB	48,5aA
B	44,0cB	47,2bA
LC + KIN	44,9c ^{NS}	43,5c
LC + AS	47,8bA	44,6cB
LC + B	44,4cB	47,0bA
LC + KIN + AS	43,7cB	49,5aA
LC + KIN + B	42,4dB	47,4bA
LC + AS + B	44,1c ^{NS}	43,1c
LC + KIN + AS + B	50,1aA	46,3bB
KIN + AS	46,8bA	43,1cB
KIN + B	40,7d ^{NS}	42,2d
KIN + AS + B	47,7bB	50,1aA
AS + B	48,0bA	42,4dB
Média	44,8	45,0
cv (%)	3,03	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Em plantas com metabolismo fotossintético do tipo C_3 , como é o caso da soja, a RuBisCO é a proteína predominante e pode representar mais de 50% do total de proteína solúvel (SPREITZER; SALVUCCI, 2002) e entre 20-30% do nitrogênio presente na folha (EVANS; SEEMANN, 1989; MAKINO, 2003; KUMAR *et al.*, 2002). Desta forma, os tratamentos que apresentar concentração de proteína na folha superior provavelmente

possuíam elevada capacidade de assimilação de CO₂, o que pode contribuir para maior produtividade.

Na NS-7114-RR, o teor variou entre 40,9 e 50,1 mg g⁻¹ [MF], sendo que os maiores teores de proteína foram observados quando aplicou KIN + AS + B; LC + KIN + AS e AS. Neste caso, estes foram, em média, 20,7% superiores ao Controle. Para a aplicação de AS nesta variedade cultivada, o incremento em relação ao Controle foi de 18,6%, embora neste caso não tenha sido constatado aumento na atividade da nitrato redutase nesta variedade cultivada (Tabela 6). Belkadhi *et al.* (2014) mostraram que a aplicação de AS aumenta o teor de proteína nas folhas de linho (*Linum usitatissimum* L.) em condições normais de desenvolvimento e submetidas ao estresse salino. Devido ao AS ser uma molécula sinalizadora, é provável que este cause alterações na expressão de genes (FOYER; NOCTOR, 2005), o que ocasiona síntese de proteína (ZHANG; DU; KLESSIG, 1998) e mecanismos de reparo na membrana (BELKADHI *et al.*, 2013), aumentando o teor de proteína.

O aumento de 15,4% no teor de proteína na folha em relação ao Controle proporcionado pela aplicação de B na variedade cultivada NS-7114-RR (Tabela 6) provavelmente é um efeito do incremento na ANR. Ainda, o B aumenta a estabilidade da parede celular e das membranas, além de manter a estabilidade do complexo que protege a nitrogenase para que esta não seja inativada pelo O₂ (CAMACHO-CRISTÓBAL; GONZÁLEZ-FONTES, 2007), o que pode repercutir em maior assimilação em N. No entanto, mesmo sem aumento na ANR na variedade cultivada NA-5909-RG, houve aumento no teor de proteína na folha, o que indica que maior concentração de proteína na folha não necessariamente depende de maior ANR.

A aplicação de LC na variedade cultivada NS-7114-RR proporcionou incremento de 5,6% em relação ao Controle (Tabela 6). Tal efeito pode estar relacionado ao aumento na ANR proporcionado por este tratamento nesta variedade cultivada. Além disso, como o LC manteve a planta com menor massa de matéria seca de folhas (Tabela 15), as proteínas mantiveram mais concentradas no tecido.

Os efeitos observados quando a aplicação foi realizada isolada repercutiram quando estes foram utilizados associados. Na variedade cultivada NA-5909-RG, quando o LC foi aplicado associado à KIN, AS e B, todos os posicionamentos contendo LC aumentaram o teor de proteína comparado ao LC isolado, exceto a aplicação de LC + KIN + B, sendo que o maior incremento foi observado para a associação entre LC + KIN + AS + B. Na variedade cultivada NS-7114-RR, todos os posicionamentos associados à KIN aumentaram o teor de

proteína comparada à KIN isolada, exceto quando associada ao B. Neste caso, o maior incremento foi observado para a aplicação de KIN + AS + B (Tabela 6).

4.3.4 Índice Spad

O índice Spad foi modulado em função das variedades cultivadas e dos tratamentos utilizados (Tabela 7). No estágio V₇, quando houve diferença significativa, apenas para a aplicação de B isolado não foi observado índice Spad superior na variedade cultivada NA-5909-RG em relação à NS-7114-RR. No estágio R₄, em todos os tratamentos que foi observada diferença significativa, o índice Spad foi superior na NA-5909-RG. Tais efeitos podem estar associados à maior ANR observada nesta variedade cultivada, o que proporciona maior acúmulo de clorofila.

Em plantas de milho (ROSTAMI *et al.*, 2008; AMARANTE *et al.*, 2010), arroz, aveia e trigo (ARGENTA *et al.*, 2001), tem sido mostrado que o índice Spad apresenta relação com o teor de clorofila nas folhas. Desta forma, o maior índice Spad na NA-5909-RG mostra que as plantas desta variedade cultivada apresentam superior teor de clorofila nas folhas. O maior teor de clorofila é um indicativo da maior capacidade fotossintética destas plantas, no entanto, isto depende de outros fatores, como concentração de RuBisCO na folha, índice de colheita, entre outros (FRITSCHI; RAY, 2007). Assim, além da produção de fotoassimilados, a eficiência da variedade cultivada em realocar a energia produzida para a formação de estruturas reprodutivas também é uma característica importante para determinar a produtividade. No entanto, novas pesquisas com maior número de variedades cultivadas devem ser realizadas para confirmar esta hipótese, pois já é bastante difundido comercialmente que as variedades cultivadas de soja apresentam diferenças na coloração das folhas, embora não é conhecido se estas diferenças de cor são dependentes do grupo de maturação ou relacionadas às características genéticas.

No estágio V₇, a aplicação de LC incrementou o índice Spad em 1,8% em relação ao Controle, no entanto a aplicação de KIN, AS e B não alterou esta variável na variedade cultivada NA-5909-RG. Na variedade cultivada NS-7114-RR, apenas a aplicação de B isolado não reduziu o índice em relação ao Controle. No estágio R₄, na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de LC, AS e B isolados aumentou o índice Spad em média em 1,2% comparado ao Controle, enquanto que a KIN isolada não interferiu nesta variável. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC reduziu o índice Spad em 5,5% em relação ao Controle. Nesta variável, a aplicação de KIN, AS e B não interferiu no índice Spad (Tabela 7).

Embora a KIN isolada não tenha proporcionado efeitos no índice Spad na variedade cultivada NA-5909-RG, quando a KIN foi associada ao LC + AS, LC + B e LC + AS + B houve incremento de 4,7, 9,7 e 7,1%, respectivamente, em relação à KIN isolada. Na mesma variedade cultivada no estágio R₄, associação de KIN com LC, LC + B, B e LC + AS + B proporcionou incremento de 7,8, 6,6, 9,5 e 5,9%, respectivamente no índice Spad em relação à KIN isolada. É importante ressaltar que destes tratamentos, apenas LC + KIN e LC + KIN + AS + B apresentaram aumento na atividade da ANR em relação à KIN isolada, o que significa que aumento no índice Spad não necessariamente depende de aumento na assimilação de N (Tabela 7).

As citocininas são importantes no processo de nodulação, pois estas atuam na divisão das células corticais e na organogênese do nódulo, o que pode contribuir para aumento no número de nódulos. Desta forma, trabalhos mostram que a aplicação de benzilaminopurina em *Medicago sativa* (FANG; HIRSCH, 1998) e *Pisium sativum* (LORTEAU; FERGUSON; GUINEL, 2001), enquanto que *trans*-zeatina estimulou a formação de nódulos em soja (TALLER; STURTEVANT, 1991). Assim, a aplicação de KIN pode ter estimulado a fixação biológica e contribuído para a produção de clorofilas, visto que, segundo Salvagiotti *et al.* (2008) este processo representa em torno de 50-60% do N acumulado pela planta de soja. Para a variedade cultivada NS-7114-RR, no estágio R₄, houve redução de 5,9 e 3,5%, respectivamente em relação à KIN isolada, quando esta foi associada à LC + AS + B e AS + B, enquanto que as demais associações não proporcionaram efeitos em relação à KIN isolada (Tabela 7).

Na literatura, é claro o papel das citocininas no desenvolvimento de cloroplastos e na biossíntese de clorofila. Kusnetsov *et al.* (1998) observaram que a citocininas aumentam a estabilidade das enzimas que convertem o protoclorofilídeo em clorofilídeo. Na via de biossíntese das clorofilas, tem sido proposto que as citocininas são importantes em dois pontos: na síntese do ácido-5-aminolevulínico (ALA) e na fotoconversão do protoclorofilídeo em clorofilídeo (CORTLEVEN; SCHMÜLLING, 2015). Segundo Masuda *et al.* (1995) e Yaronskaya *et al.* (2006), as citocininas aumentam a atividade da Glutamil-tRNA redutase e da Glutamil-tRNA sintase, enzimas na via de conversão do ácido glutâmico, base da síntese das clorofilas, em ALA. Além disso, estudos mais recentes mostram que a citocinina alteram a transcrição de genes específicos na via de biossíntese do anel tetrapirrólico (TANAKA; KOBAYASHI; MASUDA, 2011).

Na avaliação no estágio V₇ na variedade cultivada NA-5909-RG, a associação de LC com AS, B e KIN + B incrementou o índice Spad em 3,3, 3,5 e 4,3%, respectivamente, em

relação ao LC isolado, enquanto que a associação do LC com KIN reduziu o índice Spad em 2%, em relação ao LC isolado. No estágio R₄, na mesma variedade cultivada, quando o LC foi conjugado com AS e KIN + AS ocorreu redução média de 3,2% no índice Spad. Na variedade cultivada NS-7114-RR, apenas a associação entre LC + KIN + AS + B incrementou o índice Spad em relação ao LC isolado, quando avaliado no estágio V₇. No estágio R₄, na mesma variedade cultivada, apenas LC + AS + B e LC + KIN + AS + B não aumentaram o índice Spad em relação ao LC isolado (Tabela 7). O aumento no índice Spad proporcionado pela aplicação de LC pode estar relacionado ao fato do herbicida reduzir a divisão e expansão dos tecidos, concentrando a clorofila nas folhas. Assim, não necessariamente a aplicação de LC aumenta o teor de clorofila nas folhas, mas estas ficam mais concentradas devido à redução do porte das plantas.

Tabela 7 - Índice Spad após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	V ₇		R ₄	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	39,3c ^{NS}	39,3a	42,6bA	37,9aB
LC	40,0bA	38,1bB	43,2aA	35,8bB
KIN	38,0cA	36,5cB	40,9bA	37,1aB
AS	38,7c ^{NS}	38,1b	42,8aA	36,8aB
B	38,6cB	40,7aA	43,3aA	36,4aB
LC + KIN	39,2cA	37,8bB	44,1aA	37,1aB
LC + AS	41,3aA	35,2dB	41,4bA	36,7aB
LC + B	41,1aA	38,7bB	43,3aA	37,6aB
LC + KIN + AS	39,8bA	37,9bB	42,2bA	36,3aB
LC + KIN + B	41,7aA	36,1dB	43,6aA	37,7aB
LC + AS + B	40,4bA	37,3cB	44,2aA	34,9bB
LC + KIN + AS + B	40,7b ^{NS}	39,4a	43,3aA	34,9bB
KIN + AS	39,2cA	37,4cB	41,6bA	37,7aB
KIN + B	39,1cA	34,8cB	44,8aA	34,6aB
KIN + AS + B	38,7cA	37,0dB	41,9bA	35,8bB
AS + B	38,3cA	39,8aB	44,2aA	36,6bB
Média	39,6	37,8	42,9	36,5
cv (%)	2,4		3,9	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Em relação ao AS, trabalhos mostram o efeito deste na manutenção e síntese das clorofilas (KHAN; PRITHIVIRAJ; SMITH, 2003; BELKADHI *et al.*, 2014; JAISWAL; PANDURANGAM; SHARMA, 2014). Algumas hipóteses têm surgido para explicar tal fato. De acordo com Jaiswal, Pandurangam e Sharma (2014), o aumento no teor de clorofila proporcionado pelo AS pode estar relacionado à maior disponibilidade de carboidratos, enquanto que Li *et al.* (1992) propõem que o AS inibe a atividade da ACC sintase, o que reduz a produção de etileno e diminui a degradação das clorofilas. Associado a isto, Abreu e Munne-Bosch (2009) sugerem que o AS reduz os danos causados na clorofila, estabilizando e mantendo estas. Desta forma, na variedade cultivada NA-5909-RG no estágio V₇, a

associação de AS ao LC, LC + KIN e LC + KIN + B ocorreu incremento de 6,7, 2,8 e 5,2%, respectivamente, em relação ao AS isolado. No entanto, na mesma variedade cultivada no estádio R₄, a associação de AS com LC, LC + KIN, KIN e KIN + B reduziu em média 2,4% o índice Spad em relação ao AS isolado (Tabela 7).

Poucas informações concretas existem em relação ao efeito do B no teor de clorofila, no entanto, algumas relações têm sido propostas. Uma das funções do B é manter a função e integridade das membranas, o que poderia evitar a degradação de estruturas nas células (BLEVINS; LUKASZEWSKI, 1998; BROWN *et al.*, 2002). Associado a isto, segundo Cakmak e Römheld (1997), quando há deficiência de B, ocorre aumento na oxidação de compostos fenólicos pela polifenoloxidase, o que leva a produção de quinonas. As quinonas são conhecidas como altamente tóxicas e responsáveis pela geração de ERO, os quais causam danos na membrana celular (SHARMA *et al.*, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2013). Desta forma, a aplicação de B via folha pode estimular estas funções, reduzindo o nível de estresse nas plantas. Com base nisso, no estádio V₇, na variedade cultivada NA-5909-RG, a associação de B com LC, LC + KIN e LC + KIN + AS proporcionou aumento de 7,3, 8,0 e 5,4%, respectivamente, em relação ao B isolado. No entanto, no estádio R₄, a associação de B com KIN + AS reduziu o índice Spad em 3,2% em relação B isolado, enquanto que as demais associações contendo B não interferiram no índice Spad comparado com o B isolado (Tabela 7).

4.3.5 Metabolismo oxidativo

Quanto ao metabolismo oxidativo (atividade da SOD, POD, teor de H₂O₂ e peroxidação lipídica), analisando as duas variedades cultivadas dentro de cada tratamento, a aplicação de LC, LC + B, LC + KIN + AS, LC + KIN + B e KIN + AS + B na variedade cultivada NA-5909-RG, incrementou a atividade da SOD comparado a variedade cultivada NS-7114-RR, enquanto que o Controle e a aplicação de B, KIN + AS, KIN + B e AS + B na NS-7114-RR proporcionou maior atividade da SOD em relação à variedade cultivada NA-5909-RG. Desta forma, é possível observar que os tratamentos modularam a atividade da SOD em função da variedade cultivada utilizada. No entanto, ao analisar o tratamento Controle observa-se que a NS-7114-RR apresenta atividade da SOD superior à NA-5909-RG. Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa entre as variedades cultivadas (Tabela 8). Embora exista poucas informações a respeito do efeito de variedades cultivadas na alteração do metabolismo oxidativo, alguns autores têm relatado que plantas que são mais

tolerantes aos estresses apresentam atividade da SOD superior em relação às plantas sensíveis (RAHMAN *et al.*, 2004; ABEDI; PAKNIYAT, 2010; RAO *et al.*, 2013).

Em relação aos efeitos da aplicação foliar dentro de cada variedade cultivada, a utilização de B na NA-5909-RG reduziu a atividade da SOD em 13,5% em relação ao Controle, enquanto que a aplicação de LC, KIN, AS e B, isolados, na variedade cultivada NS-7114-RR, reduziram a atividade da SOD em 25,2, 13,4, 16,5 e 13,4% em relação ao Controle respectivamente (Tabela 8). A superóxido dismutase (SOD) tem sido colocada como importante enzima na tolerância de plantas ao estresse, pois constitui a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos da alta concentração de ERO. Esta enzima remove O_2^- catalisando sua dismutação em $H_2O_2 + O_2$ (GILL; TUTEJA, 2010).

A resposta distinta das variedades cultivadas pode estar relacionada ao seu comportamento fisiológico, determinado em função do grupo de maturação. Devido à NA-5909-RG ser de ciclo menor (grupo de maturação 6.7) comparado à NS-7114-RR (grupo de maturação 7.1), acredita-se que sua atividade fisiológica seja mais intensa, o que torna essa mais suscetível a estresses e menos responsiva aos efeitos estressantes (LC) e hormonais (KIN e AS). Outra hipótese é que variedades cultivadas distintas podem utilizar várias vias de desintoxicação.

A redução na atividade da SOD proporcionada pelo LC pode estar relacionada a duas hipóteses. Inicialmente, a elevada produção de O_2^- causada pela ação do LC pode gerar elevado nível de degradação celular, o que causaria peroxidação das membranas e reduziria a atividade da enzima (HESS, 2000; GRAHAM, 2005). Posteriormente, a degradação do 1O_2 , principal espécie reativa formada pela ação do LC, não é realizado por vias enzimáticas. Tem sido relatado que a desintoxicação do 1O_2 é realizada pela glutathione, prolina, α -tocoferóis e carotenoides. Desta forma, não era esperado elevada atividade da SOD neste tratamento (GILL; TUTEJA, 2010).

Segundo Zwack e Rashotte (2015), os efeitos da KIN no estresse oxidativo são contrastantes. No presente trabalho houve redução na atividade da SOD após a aplicação de KIN na variedade cultivada NS-7114-RR, o que poderia indicar menor nível de estresse. Rivero *et al.* (2007) e Rivero, Shulaev e Blumwald (2009) mostraram que a superexpressão de genes relacionados à síntese de KIN proporcionam maior tolerância ao *deficit* hídrico. No entanto, sob condições de elevado estresse, o efeito da KIN em promover o crescimento de plantas poderia diminuir esta tolerância ao estresse, pois o estímulo ocorreria em condições em que não há atividade fisiológica suficiente para manter o crescimento (ZWACK; RASHOTTE, 2015).

O AS já tem sido relatado inibindo a atividade de enzimas antioxidantes. Durante a indução à resistência a doenças que este promove, ocorre a inibição das enzimas antioxidantes, com o objetivo de aumentar a concentração de ERO (KHOKON *et al.*, 2011), as quais funcionam como moléculas sinalizadoras nesta e em outras ações. Desta forma, era esperada a redução na atividade das enzimas após a aplicação de AS. No entanto, o aumento na concentração de ERO pode estimular a atividade das enzimas posteriormente, o que aumenta a tolerância a estresses (KANG *et al.*, 2012; HERRERA-VÁSQUEZ; SALINAS; HOLUIGUE, 2015).

A aplicação de B isolado reduziu a atividade da SOD em 13,6 e 13,4% na variedade cultivada NA-5909-RG e NS-7114-RR, respectivamente (Tabela 8). A deficiência de B tem sido relacionada à redução na concentração de ascorbato e glutatona, compostos antioxidantes importantes na detoxificação de ERO (CAMACHO-CRISTÓBAL; GONZÁLEZ-FONTES, 2007). Desta forma, a aplicação de B via folha pode ter reduzido o nível de estresse na planta via metabolismo não enzimático, o que reduziu a atividade das enzimas antioxidantes.

O efeito B observado quando este foi aplicado isolado repercutiu quando este foi associado com os demais tratamentos. Dessa forma, a aplicação de B, LC + KIN + B, LC + AS + B, LC + KIN + AS + B, KIN + AS e AS + B na variedade cultivada NA-5909-RG reduziu a atividade da SOD em 13,4% comparados aos demais tratamentos. Nesta variedade, comparando a aplicação de LC isolado e suas associações, o posicionamento de KIN + B, AS + B e KIN + AS + B junto ao LC reduziram a atividade da SOD (Tabela 8).

Na variedade cultivada NS-7114-RR, todos os posicionamentos reduziram a atividade da SOD comparado aos demais tratamentos, o que repercute o efeito individual observado quando foram aplicados isolados, exceto a aplicação de KIN + B. O maior decréscimo foi observado quando aplicado LC + KIN + AS. Quando comparado o efeito isolado do LC e suas associações, o posicionamento de B, KIN + AS e KIN + B junto ao LC, reduziram a atividade da SOD (Tabela 8).

Tabela 8 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, U μg^{-1} [proteína]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	SOD (U μg^{-1} [proteína])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	11,1aB	12,7aA
LC	12,3aA	9,5dB
KIN	11,4a ^{NS}	11,0c
AS	11,5a ^{NS}	10,6c
B	9,6cB	11,0cA
LC + KIN	11,5a ^{NS}	11,6b
LC + AS	11,4a ^{NS}	10,9c
LC + B	11,9aA	4,9fB
LC + KIN + AS	11,6aA	4,1gB
LC + KIN + B	10,5bA	7,8eB
LC + AS + B	10,5b ^{NS}	11,1c
LC + KIN + AS + B	10,3b ^{NS}	10,0d
KIN + AS	9,8cB	11,2cA
KIN + B	11,9aB	13,1aA
KIN + AS + B	11,1aA	9,9dB
AS + B	9,3cB	11,7bA
Média	11,0	10,1
cv (%)	5,58	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

A atividade da POD no tratamento Controle na variedade cultivada NA-5909-RG foi 25,4% inferior à NS-7114-RR (Tabela 9), o qual repercute o comportamento observado na atividade da SOD. Desta forma, acredita-se que variedades cultivadas com ciclo mais rápido apresentam menor atividade de enzimas relacionadas à tolerância aos estresses. Uma hipótese que justifica tal comportamento é que devido ao rápido desenvolvimento destas variedades cultivadas, a maior parte da energia produzida é prioritariamente direcionada para o crescimento e menos para a defesa contra fatores bióticos e abióticos, o que torna estas mais

sensíveis a estresses. Além disso, estas variedades cultivadas podem utilizar outras vias para detoxificação celular.

Na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de KIN (sem diferença significativa) isolada reduziu a atividade da POD em 4,5%, enquanto que a utilização de LC, AS e B, isolados incrementou a atividade da POD em 23,9, 5,7 e 4,5%, respectivamente, comparado ao Controle. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC isolado não alterou a atividade da POD em relação ao Controle, enquanto que a aplicação de KIN, AS e B, isolados, reduziram a atividade da POD em 8,5, 26,3 e 26,3% em relação ao Controle, respectivamente (Tabela 9). Tal comportamento mostra que existe respostas distintas em relação a variedade cultivada utilizada. Desta forma, antes de posicionar produtos com efeitos fisiológicos nas plantas, é necessário entender o comportamento de cada material genético. Na NS-7114-RR, estes resultados mostram que a redução na atividade da SOD repercutiu em menor atividade da POD.

Os resultados obtidos com a aplicação isolada de LC, KIN, AS e B na NA-5909-RG mostram que mesmo sem haver aumento na formação de H_2O_2 via superóxido dismutase, ocorreu alteração na degradação desta molécula via peroxidase. Algumas hipóteses podem ser utilizadas para explicar estes efeitos. Primeiramente, além do H_2O_2 ser gerado a partir da SOD, este também pode ser produzido via glicolato oxidase durante a fotorrespiração, durante a degradação das purinas e durante a β -oxidação (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011), o que significa que mesmo sem alteração na atividade da SOD, pode haver elevada quantidade de H_2O_2 . Ainda, pode haver sensibilidade diferente para cada uma das enzimas aos tratamentos aplicados.

A redução na atividade da POD proporcionada pelo AS é resultado da inibição da atividade das enzimas antioxidantes causada pelo hormônio. Uma das primeiras alterações nas células durante a infecção de patógenos é o aumento na concentração de ERO. Estas ERO atuam como moléculas sinalizadoras para a produção de compostos relacionados à defesa de plantas, entre eles o AS. Ainda, o AS inibe a atividade de enzimas antioxidantes, o que induz aumento na concentração de ERO, importantes para a sinalização da expressão de genes relacionados à defesa (VIDHYASEKARAN, 2015).

Analisando os efeitos das associações, todas, exceto a aplicação de AS + B, aumentaram a atividade da POD em relação ao Controle. Em relação à associação de KIN com LC, AS e B, todas as combinações aumentaram a atividade da POD em relação à KIN isolada. Quanto ao LC, a associação deste com AS e KIN + AS + B reduziu a atividade da POD. Para o AS, a aplicação conjugada deste com LC + KIN e LC + B aumentou a atividade

da POD em 31,2 e 18,3%, respectivamente, em relação ao AS isolado, enquanto que a associação apenas com B reduziu a atividade da POD em 9,7%. A associação do B com LC, LC + KIN e LC + AS incrementou a atividade da POD em 25, 18,5 e 19,6%, respectivamente em relação ao B isolado (Tabela 9). O incremento na atividade da POD indica aumento na degradação do H_2O_2 , o qual pode tornar estas plantas mais tolerantes a condições estressantes (KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011). No entanto, é necessário avaliar se a elevada atividade da enzima foi suficiente para reduzir os danos nas células.

Os resultados da aplicação isolada de KIN, AS e B na variedade cultivada NS-7114-RR refletem o comportamento observado para a SOD nesta variedade cultivada. A menor atividade da SOD nestes tratamentos reduziu a formação de H_2O_2 , exigindo desta forma, menor atividade da POD. Em relação às associações, a aplicação de LC + KIN + AS, KIN + AS, KIN + B e KIN + AS + B reduziram a atividade da POD em 6, 11,9, 15,3 e 28%, respectivamente, em relação ao Controle (Tabela 9). Tal comportamento mostra que os efeitos proporcionados quando estes foram utilizados isolados refletiram nas associações.

Analisando os efeitos da AS, exceto quanto este foi aplicado junto com KIN + B, todas as outras associações aumentaram a atividade da POD em relação ao AS isolado. O mesmo comportamento foi observado para o B e suas associações. Comparando os efeitos do LC, quando este foi associado à KIN + AS houve redução na atividade da POD em 10,5%, comparado ao LC isolado (Tabela 9).

Tabela 9 - Atividade da enzima peroxidase (POD, μmol [purpurogalina] min^{-1} mg^{-1} [proteína]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	POD (μmol [purpurogalina] min^{-1} mg^{-1} [proteína])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	0,088cB	0,118aA
LC	0,109aB	0,124aA
KIN	0,085cB	0,108bA
AS	0,093b ^{NS}	0,087d
B	0,092b ^{NS}	0,087d
LC + KIN	0,113a ^{NS}	0,120a
LC + AS	0,100bB	0,117aA
LC + B	0,115a ^{NS}	0,116a
LC + KIN + AS	0,122aA	0,111bB
LC + KIN + B	0,109a ^{NS}	0,118a
LC + AS + B	0,110aB	0,125aA
LC + KIN + AS + B	0,098bB	0,117aA
KIN + AS	0,093bB	0,104bA
KIN + B	0,092b ^{NS}	0,100c
KIN + AS + B	0,097bA	0,085dB
AS + B	0,084cB	0,115aA
Média	0,100	0,110
cv (%)	6,18	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

A concentração de H_2O_2 na folha variou em função da variedade cultivada utilizada. Desta forma, a NA-5909-RG apresentou teor de H_2O_2 , em média, 11,5% inferior à NS-7114-RR. A aplicação isolada de LC, KIN, AS e B na variedade cultivada NA-5909-RG reduziu, em média, 18,1% a concentração de H_2O_2 em relação ao Controle, respectivamente, enquanto que a aplicação de LC, KIN e B incrementaram a concentração de H_2O_2 em 39,9, 39,9 e 26,2% em relação ao Controle, respectivamente, na variedade cultivada NS-7114-RR (Tabela 10).

Os resultados da aplicação isolada na variedade cultivada NA-5909-RG mostram que o aumento na atividade da POD em relação ao Controle após a aplicação de LC, AS e B foi suficiente para reduzir a concentração de H_2O_2 . No entanto, quando estes foram aplicados associados, todos os posicionamentos incrementaram a concentração de H_2O_2 em relação à aplicação isolada, sendo o maior aumento observado no tratamento que recebeu a aplicação de AS + B. Os resultados da aplicação isolada de LC, KIN, AS e B na NS-7114-RR repercutem a menor atividade da POD após a aplicação de KIN e B, isolados (Tabela 10). Em relação ao LC, devido este herbicida causar danos nas membranas, ocorre aumento na formação de ERO (MATRINGE *et al.*, 1989), o que é comprovado pelo resultado acima.

Embora o H_2O_2 cause danos às células quando em altas concentrações, em baixa concentração este tem sido relacionado às várias vias de sinalização em plantas, entre elas, rotas que medeiam respostas à infecção de patógenos, estresses ambientais, morte celular programada e diferentes estímulos ambientais (MILLER *et al.*, 2010; MITTLER *et al.*, 2004). Além disso, ERO formados nas plantas também podem ser canalizados para atuar como sinalizadores de estresse para ativar a aclimação e mecanismos de defesa, que por sua vez poderia reduzir o estresse oxidativo associado ao estresse (MILLER; SHULAEV; MITTLER, 2008).

Analisando os efeitos do LC, quando este foi aplicado associado à KIN, AS, KIN + B, AS + B e KIN + AS + B, houve redução de 7,5, 9,1, 23,9, 11,4 e 12,5%, respectivamente, no teor de H_2O_2 em relação à aplicação isolada do LC. Avaliando os efeitos da KIN, quando esta foi aplicada associada com LC, LC + B, LC + AS + B, AS, B e AS + B houve redução de 7,8, 24,2, 12,9, 10,2, 25,8 e 27,7% em relação à KIN isolada (Tabela 10). Tais resultados mostram que as aplicações associadas reduzem o nível de moléculas de H_2O_2 , o qual pode causar danos nas membranas.

Em relação aos efeitos do AS, a aplicação associada com LC, LC + KIN, LC + B, LC + KIN + B e KIN foi observado aumento no teor de H_2O_2 em relação à aplicação de AS isolado. Quando se avalia os efeitos do B, a associação deste com LC aumentou a concentração de H_2O_2 em 10,8% em relação ao B isolado, enquanto que a associação com LC + KIN, KIN, KIN + AS e AS reduziu o teor de H_2O_2 em 16, 17,7, 19,9 e 16,5%, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$ [MF])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	16,2dB	18,3dA
LC	13,8eB	25,5bA
KIN	12,5eB	25,6bA
AS	13,3eB	19,8dA
B	13,5eB	23,1cA
LC + KIN	21,5bB	23,6cA
LC + AS	18,3cB	23,2cA
LC + B	18,0cB	25,6bA
LC + KIN + AS	19,1cB	33,2aA
LC + KIN + B	14,8dB	19,4dA
LC + AS + B	15,9dB	22,6cA
LC + KIN + AS + B	17,2cB	22,3cA
KIN + AS	15,9dB	23,0cA
KIN + B	19,3c ^{NS}	19,0d
KIN + AS + B	18,4c ^{NS}	18,5d
AS + B	24,2aA	19,3dB
Média	17,0	22,6
cv (%)	4,77	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Quando os metabolismos enzimáticos e não enzimáticos não são capazes de degradar os radicais livres produzidos, ocorre a peroxidação lipídica das membranas, o que pode causar a morte da célula (GILL; TUTEJA, 2010). Desta forma, os tratamentos e as variedades cultivadas utilizadas alteraram a peroxidação lipídica (Tabela 11, Anexo H, Anexo I). Na NA-5909-RG os menores valores de peroxidação lipídica foram observados no tratamento que recebeu a aplicação de AS, LC + KIN e no Controle, enquanto que na NS-7114-RR, a menor peroxidação lipídica foi observado no Controle, KIN + B, AS + B, KIN + AS + B e LC + KIN + AS + B. Na média entre todos os tratamentos e no Controle, a variedade cultivada NA-

5909-RG apresentou peroxidação lipídica 14,3 e 9,3% inferior a NS-7114-RR, respectivamente (Tabela 11, Anexo H).

Tabela 11 - Peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g⁻¹ MF) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Peroxidação lipídica (nmol [TBARS] g ⁻¹ [MF])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	78,1eB	86,1fA
LC	86,2dB	123,5bA
KIN	73,4fB	98,5eA
AS	81,1eB	101,4eA
B	88,6dB	97,9eA
LC + KIN	79,8eB	116,3cA
LC + AS	88,2dB	119,2cA
LC + B	91,3cB	100,3eA
LC + KIN + AS	92,1cB	138,9aA
LC + KIN + B	93,7c ^{NS}	95,9e
LC + AS + B	98,4bB	109,0dA
LC + KIN + AS + B	86,9d ^{NS}	86,3f
KIN + AS	67,5fB	98,7eA
KIN + B	88,1d ^{NS}	86,8f
KIN + AS + B	108,8aA	88,5fB
AS + B	94,3cA	83,1fB
Média	87,3	101,9
cv (%)	3,77	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de KIN isolada reduziu a peroxidação lipídica em 6,0%, enquanto que a aplicação de LC e B, isolados, aumentou a peroxidação lipídica em 10,4 e 13,4% em relação ao Controle, respectivamente. Desta forma, o aumento na atividade da POD e redução na concentração de H₂O₂ quando aplicado LC e B, isolados, não foi suficiente para reduzir o nível de estresse oxidativo nas células. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de isolada de LC, KIN, AS e B incrementou a

peroxidação lipídica em 43,4, 14,4, 17,8 e 13,7%, respectivamente, em relação ao Controle (Tabela 11, Anexo H), o que pode ser resultado da redução na atividade da SOD, POD, e consequentemente aumento na concentração de H_2O_2 .

Em relação aos efeitos da associação de KIN com LC, AS e B na variedade cultivada NA-5909-RG, todos os posicionamentos, exceto a aplicação de KIN + AS, aumentaram a peroxidação lipídica em relação à KIN isolada, sendo o maior aumento no tratamento KIN + AS + B. A aplicação de KIN associado ao LC reduziu a peroxidação lipídica em 7,4% em relação ao LC isolado. Isso mostra que a aplicação de KIN associado ao LC poderia reduzir o nível de estresse proporcionado pelo herbicida, o que pode estar associado ao aumento na atividade da SOD e POD e redução na concentração de H_2O_2 . No entanto, a associação com B, KIN + AS, KIN + B e AS + B aumentou, em média, 8,9% da peroxidação lipídica em relação ao LC isolado. A associação entre AS reduziu a peroxidação lipídica em relação ao AS isolado apenas quando este foi associado com KIN (Tabela 11, Anexo H).

Na variedade cultivada NS-7114-RR, exceto quando o LC foi associado à KIN + AS, em todos os demais posicionamentos houve redução da peroxidação lipídica em relação ao LC isolado. Neste caso, a maior redução ocorreu quando o LC foi associado KIN + AS + B (Tabela 11, Anexo I). Estes resultados mostram que a utilização de LC em soja deve ser acompanhada de substâncias que reduzem o estresse proporcionado pelo herbicida.

Apenas quando a KIN foi associada ao B e AS + B na variedade cultivada NS-7114-RR houve redução na peroxidação lipídica em relação à KIN isolada, sendo as reduções de 11,9 e 10,2%, respectivamente. Além disso, quando a KIN foi associada ao LC e LC + AS ocorreu incremento de 18,1 e 41,0% em relação à KIN isolada, respectivamente. Em relação às associações com AS, apenas quando este foi conjugado com LC + KIN + B, KIN + B e B houve redução da peroxidação lipídica em relação ao AS isolado. Quando o B foi aplicado associado à LC + KIN + AS, KIN, KIN + AS e AS ocorreu redução média de 12% em relação ao B isolado (Tabela 11, Anexo I).

4.3.6 Teor de prolina

Na média entre todos os tratamentos e comparando apenas o Controle, o teor de prolina na variedade cultivada NA-5909-RG foi superior em 54,5 e 46,8% em relação à NS-7114-RR, respectivamente. Na NA-5909-RG, a aplicação isolada de AS e B reduziu o teor de prolina em 58,7 e 15,1%, respectivamente, em relação ao Controle. Tal comportamento pode ter contribuído para a maior peroxidação lipídica no tratamento que recebeu B. No entanto, a aplicação de LC aumentou em 18,1% (Tabela 12). Desta forma, o aumento no teor de prolina

não foi suficiente para reduzir o estresse oxidativo após a aplicação de LC nesta variedade cultivada.

Tabela 12 - Teor de prolina (μmol [prolina] g^{-1} [MF]) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Prolina (μmol [prolina] g^{-1} [MF])	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	2,98bA	2,03aB
LC	3,52aA	1,59bB
KIN	3,02bA	1,64bB
AS	1,23gB	1,56bA
B	2,53cA	1,30cB
LC + KIN	1,59fB	2,17aA
LC + AS	1,51fA	1,16cB
LC + B	2,31cA	1,98aB
LC + KIN + AS	2,44cA	1,65bB
LC + KIN + B	2,38cA	1,52bB
LC + AS + B	1,09h ^{NS}	1,04d
LC + KIN + AS + B	1,83eA	0,66eB
KIN + AS	1,37gA	0,75eB
KIN + B	2,02dA	0,93dB
KIN + AS + B	0,76i ^{NS}	0,68e
AS + B	2,49cA	0,69eB
Média	2,07	1,34
cv (%)	7,79	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Na NS-7114-RR quando LC, KIN, AS e B foram aplicados isolados houve redução de 21,7, 19,2, 23,2 e 36,0% em relação ao Controle, respectivamente (Tabela 12). Estes resultados mostram que o aumento na peroxidação lipídica nestes tratamentos pode estar relacionado à redução no metabolismo antioxidante e diminuição na concentração de prolina. A concentração de prolina em plantas tem sido relatada como uma das principais alterações em condições de estresse. Esse aminoácido atua como protetor das estruturas celulares, capaz

de proteger a estrutura das proteínas e a atividade de várias enzimas, entre elas, a nitrato redutase, possui papel antioxidante e na manutenção do balanço redox das células (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010). Além disso, uma molécula de prolina pode produzir 30 ATP, o que auxilia as plantas a superar as condições estressantes (JAISWAL; PANDURANGAM; SHARMA, 2014). Desta forma, o maior acúmulo de prolina na variedade cultivada NA-5909-RG poderia tornar essa mais tolerante às condições estressantes. No entanto, tem sido relatado que incremento na concentração de prolina está relacionado ao maior nível de estresse que as plantas estão submetidas, especialmente *deficit* hídrico (KAVI-KISHOR; SREENIVASULU, 2014).

A síntese de prolina nas plantas é tida como um processo dispendioso, pois este é um composto rico em energia. Este aminoácido é derivado do glutamato, o qual também é base para a síntese de outros aminoácidos (KAVI-KISHOR *et al.*, 2005). Desta forma, alto acúmulo de prolina poderia limitar a disponibilidade de glutamato para a formação de compostos e estruturas importantes para o crescimento. Além disso, parte do carbono assimilado é realocado para a formação dos esqueletos de carbono necessário na formação do aminoácido, o que reduz a disponibilidade de energia para o crescimento (LATTANZIO *et al.*, 2009). Assim, a maior produtividade está condiciona às plantas que apresentam eficiente regulação da distribuição da energia produzida para o crescimento e defesa (CARETTO *et al.*, 2015).

Quando se avalia o efeito do LC associado com KIN, AS e B, todas as associações reduziram o teor de prolina em relação ao LC isolado na variedade cultivada NA-5909-RG. Neste caso, a maior redução foi observada quando se aplicou LC + AS + B (Tabela 12). Estes resultados mostram que o incremento na peroxidação lipídica após aplicação de LC + B, LC + KIN + AS, LC + KIN + B e LC + AS + B pode estar associado ao menor nível de prolina, já que esta tem sido associada com a detoxificação celular. O menor investimento da variedade cultivada NA-5909-RG em prolina pode estar associado ao menor grupo de maturação, pois acredita-se que variedades cultivadas de ciclo muitos curtos necessitam ser extremamente eficientes na utilização dos recursos, devido ao limitado período de crescimento. Desta forma, deve ocorrer menor investimento em compostos de defesa, visto que estes são tidos como dispendiosos.

Todas as associações que continham KIN na variedade cultivada NA-5909-RG apresentaram redução no teor de prolina em relação à KIN isolada, sendo que o maior decréscimo foi observado quando se aplicou KIN + AS + B. Isso mostra que nem sempre redução no teor de prolina nas folhas significa redução no nível de estresse, pois neste caso,

foi observado decréscimo na peroxidação lipídica apenas nos após a aplicação de KIN + B e KIN + AS + B. Desta forma, em trabalhos que avaliam estresse em plantas, é necessário avaliar vários pontos regulatórios dentro do metabolismo antiestresse para tirar conclusões certas. Em relação à aplicação de AS, a associação com LC + B e KIN + B reduziu o teor de prolina em 11,4 e 38,2%, respectivamente, em relação ao AS isolado. As demais associações que continham AS apresentaram teor de prolina superior ao do AS isolado. Quando o B foi associado com LC + AS, LC + KIN + AS e KIN houve redução no teor de prolina de 56,9, 27,7 e 20,2% em relação ao B isolado, respectivamente (Tabela 12).

Analisando o efeito das associações que continham LC na variedade cultivada NS-7114-RR, quando este foi conjugado com KIN e B, houve incremento no teor de prolina em 36,4 e 24,5% em relação ao LC isolado. Desta forma, o aumento no teor de prolina também pode ter sido uma estratégia utilizada pela planta para redução do nível de estresse, pois estes tratamentos apresentaram menor peroxidação lipídica em relação ao LC isolado. No entanto, quando associado com AS, AS + B e KIN + AS + B ocorreu redução de 27, 34,6 e 58,5%, respectivamente. Nestes tratamentos também houve redução na peroxidação lipídica, o que indica que provavelmente estes proporcionaram menor nível de estresse na planta ou estas utilizaram outras vias para redução do estresse celular. Uma das estratégias poderia ser o aumento na atividade da SOD nos tratamentos que receberam LC + AS e LC + AS + B (Tabela 12).

A associação de KIN com LC incrementou o teor de prolina em 32,3% em relação a KIN isolada, enquanto que a associação com LC + AS + B, AS, B e AS + B reduziu o teor de prolina. Isso mostra que o LC causa estresse nas plantas (confirmado pelo aumento na peroxidação lipídica), no entanto, este pode ser amenizado quando a KIN, AS, B e suas combinações, exceto KIN + AS, são aplicados associados ao LC. Todas as associações com AS, exceto LC + KIN + AS, reduziram o teor de prolina em relação ao AS isolado. No entanto, foi observada redução na peroxidação lipídica apenas quando aplicado AS + B, KIN + AS + B e LC + KIN + AS + B. Quando o B foi associado com LC e LC + KIN houve incremento de 52,3 e 16,9% no teor de prolina em relação ao B isolado, enquanto que os demais posicionamentos que continham B reduziram a concentração de prolina (Tabela 12).

4.3.7 Massa de matéria seca de raiz, caule, folhas e vagens

O acúmulo de massa de matéria seca é uma característica importante para determinar a produtividade das plantas, pois está relacionada a eficiência de aproveitamento das condições do ambiente (luz, água e nutrientes). Incremento no acúmulo de massa de matéria seca de raiz

é um indicativo de maior capacidade de absorção de água e nutrientes a partir do solo, sendo estas plantas são potencialmente mais produtivas (COMAS *et al.*, 2013). Dessa forma, os tratamentos utilizados alteram o acúmulo de massa de matéria seca de raiz, pois na avaliação realizada no estágio R₃, a variedade cultivada NA-5909-RG apresentou superior acúmulo de massa de matéria seca de raiz em relação à NS-7114-RR quando foi aplicado LC + B, LC + KIN + B, LC + AS + B, LC + KIN + AS + B, KIN + AS e KIN + AS + B, enquanto que a variedade cultivada NS-7114-RR foi superior apenas no Controle e com a aplicação de KIN. Nos demais tratamentos não foram observadas diferenças estatística significativa entre as variedades cultivadas (Tabela 13). O maior acúmulo de massa de matéria seca de raiz na variedade cultivada NA-5909-RG (menor grupo de maturação e ciclo mais rápido) pode estar relacionado à elevada atividade fisiológica destas variedades cultivadas, devido ao rápido crescimento. Já foi citado anteriormente que esta variedade cultivada apresenta maior ANR e índice Spad e menor atividade da SOD e POD.

Na avaliação realizada no estágio R₇, a variedade cultivada NS-7114-RR sempre apresentou massa de matéria seca de raiz superior em relação à NA-5909-RG quando foi observada diferença significativa (Tabela 13). A maior massa de matéria seca de raiz durante a fase reprodutiva é uma característica importante, pois proporciona maior absorção de água e nutrientes no período de elevada demanda (COMAS *et al.*, 2013; BENDER; HAEGELE; BELOW, 2015). Desta forma, variedades cultivadas com maior grupo de maturação podem ser potencialmente mais produtivas, pois proporcionam maior absorção de água e nutrientes durante a fase reprodutiva.

Comparando as associações dentro de cada variedade cultivada, a aplicação de LC + KIN + AS + B proporcionou o maior incremento no acúmulo de massa de matéria seca de raiz na variedade cultivada NA-5909-RG no estágio R₃, sendo este de 48,6% em relação ao Controle. A aplicação de KIN, AS e B isolados incrementou a massa de matéria seca de raiz em 23,8, 9,3 e 37,5%, respectivamente, em relação ao Controle (Tabela 13). Estes resultados refletem os efeitos constatados anteriormente, pois estes tratamentos proporcionaram maior teor de proteína na folha, menor concentração de H₂O₂, menor peroxidação lipídica para KIN e menor teor de prolina para AS e B. Isso significa que provavelmente estas plantas apresentaram incremento na fotossíntese líquida, o que proporcionou maior alocação de energia para o crescimento radicular, característica importante para manter a taxa de absorção de água e nutrientes durante o início do desenvolvimento reprodutivo, fase de elevada demanda.

Embora a aplicação de LC não tenha proporcionado efeitos quando aplicado isolado, todas as associações contendo LC foram superiores ao LC isolado. Neste caso, o maior incremento foi observado no tratamento com LC + KIN + AS + B (Tabela 13). Isso mostra que para que o LC proporcione os maiores efeitos é necessário que este seja associado com substâncias estimulantes e redutoras de estresse. No trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2011) a aplicação de LC proporcionou maior comprimento de raiz ao 14 DAA comparado com as plantas em que foi aplicado LC + nitroprussiato de sódio. Tal comportamento significa que este herbicida não reduz o crescimento radicular, provavelmente por não ser de ação sistêmica. Ainda, devido à inibição temporária no crescimento da parte aérea proporcionado pelo LC (DAMIÃO FILHO; CORSO; ANDRADE, 1992), o que repercute na redução da altura, provavelmente proporciona maior transporte da energia produzida para as raízes, o que repercute em maior disponibilidade de energia para absorção e assimilação dos nutrientes do solo. No presente trabalho, a aplicação de LC não proporcionou maior crescimento radicular, o que sustenta a hipótese anterior. Desta forma, novos trabalhos que avaliem ao longo do tempo o efeito da LC em características fisiológicas e fenométricas da cultura de soja são necessários para elucidar tais hipóteses.

Na variedade cultivada NS-7114-RR, no estágio R₃, o maior acúmulo de massa de matéria seca de raiz em relação ao Controle foi observado após a aplicação de KIN. Neste caso, este foi 14,9% superior ao Controle. Isso mostra que mesmo com maior nível de estresse (maior peroxidação lipídica em relação ao Controle), as plantas que receberam KIN isolada apresentaram elevada capacidade de produção de energia e alocação desta para as raízes. No entanto, todas as associações contendo KIN foram inferiores à KIN isolada. Além disso, a aplicação isolada de LC e AS reduziu a massa de matéria seca de raiz em 30,2 e 13,5%, respectivamente. A associação entre LC + KIN, LC + KIN + AS, LC + KIN + B e LC + AS + B incrementou 27,7, 13,5, 25,7 e 13,2%, respectivamente, no acúmulo de massa seca de raiz em relação à aplicação de LC isolado, o que realça a hipótese de que para obtenção dos melhores resultados com a aplicação de LC é necessário que este seja associado com outras substâncias. Nenhum tratamento em que houve a associação com AS, ocorreu aumento no acúmulo de massa de matéria seca de raiz em relação ao AS isolado. O mesmo comportamento foi observado para o B (Tabela 13).

Tabela 13 - Massa de matéria seca de raiz (g planta⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	R ₃		R ₇	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	0,656eB	0,868bA	0,994a ^{NS}	1,047a
LC	0,658e ^{NS}	0,606e	0,946a ^{NS}	1,008a
KIN	0,812cB	0,997aA	0,806cB	1,044aA
AS	0,717d ^{NS}	0,751c	0,908bB	1,052aA
B	0,902b ^{NS}	0,840b	0,862bB	1,056aA
LC + KIN	0,777c ^{NS}	0,774c	0,721cB	1,110aA
LC + AS	0,707d ^{NS}	0,640e	0,974aB	1,082aA
LC + B	0,789cA	0,568eB	0,779cB	1,066aA
LC + KIN + AS	0,738d ^{NS}	0,688d	0,884bB	1,053aA
LC + KIN + B	0,828cA	0,762cB	0,875b ^{NS}	0,809b
LC + AS + B	0,810cA	0,686dB	0,867b ^{NS}	0,775a
LC + KIN + AS + B	0,979aA	0,626eB	0,729cB	1,046bA
KIN + AS	0,786cA	0,700dB	0,868bB	0,967aA
KIN + B	0,784c ^{NS}	0,844b	0,861b ^{NS}	0,791b
KIN + AS + B	0,876bA	0,738cB	0,968aB	1,095aA
AS + B	0,786c ^{NS}	0,752c	0,776cB	1,067aA
Média	0,79	0,74	0,86	1,00
cv (%)	5,89		7,08	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

No estágio R₇, a aplicação de KIN, AS e B na variedade cultivada reduziu o acúmulo de massa de matéria seca de raiz em relação ao Controle na variedade cultivada NA-5909-RG. Exceto quando o LC foi associado com AS, houve redução, em relação ao LC isolado, no acúmulo de massa de matéria seca de raiz nas associações que continham LC. Neste caso, os maiores decréscimos foram observados quando o LC foi associado à KIN, B e KIN + AS + B. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC + KIN + B, LC + KIN + AS + B e KIN + B reduziram a massa de matéria seca de raiz em relação aos demais tratamentos (Tabela 13).

Os resultados observados anteriormente repercutiram acúmulo de massa de matéria seca de caule. Desta forma, no estágio R₃, a massa de matéria seca de caule para o Controle foi 11,9% superior na NA-5909-RG em relação à NS-7114-RR. O mesmo comportamento foi observado quando se compara o valor médio entre todos os tratamentos para cada uma das variedades cultivadas. No estágio R₇, os resultados se inverteram, sendo a maior massa seca de caule observada na variedade cultivada NS-7114-RR (Tabela 14). Embora não seja característica primordial em plantas leguminosas acumular alta quantidade de reservas no caule, a energia que foi armazenada durante o crescimento vegetativo pode ser remobilizada para ser utilizada durante o enchimento de grãos, o que pode proporcionar maior produtividade (VAN KEULER; WOLF, 1986; CHAVES *et al.*, 2002). Ainda, a taxa de crescimento durante o estágio reprodutivo, período crítico para a produtividade da planta de soja, apresenta uma relação direta com o número de sementes produzidas por área. Desta forma, a maior massa de matéria seca de caule na variedade cultivada NS-7114-RR na segunda avaliação, a qual coincidiu com o final do período de enchimento de grãos, pode proporcionar maior produtividade nesta variedade cultivada.

Na primeira avaliação, os resultados da aplicação de KIN, AS e B, isolados, na NA-5909-RG, repercutiram os efeitos observados na massa de matéria seca de raiz, pois se observou incrementos na massa de matéria seca de caule de 39,3, 18,6 e 54,8% em relação ao Controle, respectivamente, enquanto que para a aplicação de LC não foi observado diferença significativa. Na variedade cultivada NS-7114-RR, incrementos de 76,6 e 14,5% foram observados após a aplicação de KIN e B, respectivamente. Nesta variedade cultivada, a aplicação isolada de LC e não alterou a massa de matéria seca de caule em relação ao Controle. Na segunda avaliação, na variedade cultivada NA-5909-RG, apenas a aplicação de LC e o Controle foram inferiores aos demais tratamentos. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC, KIN e B, isolados, reduziu o acúmulo de massa de matéria seca de caule em 7,6, 37 e 3,7%, respectivamente em relação ao Controle (Tabela 14). A redução da massa de matéria seca de caule na última avaliação pode estar relacionada à maior remobilização das reservas para os grãos. Como citado anteriormente, KIN e B são importantes para manutenção do transporte da energia para os órgãos dreno.

A redução proporcionada pela aplicação de LC da massa de matéria seca de caule na última avaliação pode estar relacionada a alguns fatores. O LC causa estresse nas plantas (maior peroxidação lipídica), o que reduz a eficiência fotossintética, diminuindo a produção de energia necessária para enchimento dos grãos. Isto causa redução da disponibilidade de energia e pode estimular maior dreno da energia armazenada no caule (YANG; ZHANG,

2006). No entanto, todos os tratamentos contendo LC apresentaram aumento no acúmulo de massa de matéria seca de caule em relação ao LC isolado. O maior incremento foi observado quando o LC foi associado à KIN + AS + B (Tabela 14), o que realça a hipótese que os melhores efeitos proporcionados pelo LC ocorrem quando este é aplicado associado a substâncias que reduzem o estresse gerado.

Embora o aumento na produção de matéria seca durante o período reprodutivo tenha sido correlacionado com maior produtividade na cultura de soja, Huyghe (1998) cita que em variedades cultivadas de crescimento indeterminado como as utilizadas no presente trabalho, possivelmente pode ocorrer competição entre o crescimento vegetativo e reprodutivo pela partição dos fotoassimilados, o que poderia levar à redução da produtividade. Desta forma, as conclusões devem ser tomadas com base em um conjunto de variáveis analisadas.

Na avaliação realizada no estádio R₃, para a variedade cultivada NA-5909-RG, a KIN proporcionou efeito em relação à KIN isolada apenas quando foi associada à LC + AS + B. Quando o AS foi aplicado associado a LC + B e LC + KIN + B houve incremento de 11,7 e 32,2%, respectivamente em relação ao AS isolado. Todas as associações contendo B, exceto LC + KIN + AS + B, reduziram o acúmulo de massa de matéria seca de caule em relação ao B isolado. Na variedade cultivada NS-7114-RR, no estádio R₃, quando o LC foi associado à KIN, AS, KIN + AS e KIN + B ocorreram incrementos de 29,3, 15,3, 21,8 e 6,2% em relação ao LC isolado, respectivamente, enquanto que os tratamentos LC + B e LC + KIN + AS + B apresentaram menor massa de matéria seca de caule em relação ao LC isolado. Todos os tratamentos contendo KIN foram inferiores à KIN isolada, sendo o maior decréscimo observado para LC + KIN + AS + B. A associação de AS com LC, LC + KIN e B incrementou a massa de matéria seca de caule em 6,6, 12,7 e 13,8% em relação ao AS isolado, respectivamente. Quando o B foi associado a LC + KIN, KIN, KIN + AS e AS houve incremento de 9,3, 22,8, 10,3 e 26,6% em relação ao B isolado, no entanto quanto associado ao LC e LC + KIN + B reduziu em 9,6 e 11,2%, respectivamente (Tabela 14).

Para a variedade cultivada NA-5909-RG, no estádio R₇, todas as associações contendo LC e B foram superiores à aplicação isolada. Na segunda avaliação, na variedade cultivada NS-7114-RR, quando o LC foi associado à KIN, AS, B e KIN + B houve incremento de 5,9, 14,2, 3,4 e 4,9%, respectivamente, na massa de matéria seca de caule em relação ao LC isolado. Exceto LC + KIN + AS + B, todas as demais associações contendo KIN foram superiores a KIN isolada. A associação de AS com LC aumentou a massa de matéria seca em 9,1% em relação ao AS isolado. No entanto, a associação com LC + KIN, LC + B, LC + KIN + B e KIN reduziu a massa de matéria seca de caule em 23,7, 14,1, 35,8 e 28,8%,

respectivamente, em relação ao AS isolado. Quando o B foi associado com LC, LC + KIN, KIN + AS e AS houve incremento de 7,4, 8,9, 4,6 e 6,6%, respectivamente, em relação ao B isolado. Na mesma época de avaliação, na variedade cultivada NS-7114-RR, a associação de LC com KIN + AS, AS + B e KIN + AS + B reduziu a massa de matéria seca de caule em relação ao LC isolado, enquanto que as demais associações proporcionaram incremento. Neste caso, o maior incremento foi observado para a associação entre LC + AS. Em relação às associações contendo KIN, apenas LC + KIN + AS + B não apresentou maior massa de matéria seca de caule em relação à KIN isolada (Tabela 14).

Tabela 14 - Massa de matéria seca de caule (g planta⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	R ₃		R ₇	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	3,61eA	3,03dB	2,76bB	4,08bA
LC	3,80eA	3,21dB	2,69bB	3,77cA
KIN	5,03bB	5,35aA	3,02aA	2,57eB
AS	4,28cA	3,47cB	2,87aB	4,27bA
B	5,59aA	3,12dB	2,19cB	3,93cA
LC + KIN	3,99d ^{NS}	4,15b	2,96aB	4,32bA
LC + AS	4,29cA	3,70bB	2,94aB	4,66aA
LC + B	4,86bA	2,82eB	3,08aB	4,22bA
LC + KIN + AS	3,95d ^{NS}	3,91b	3,04a ^{NS}	3,26d
LC + KIN + B	4,97bA	3,41cB	3,14aB	4,28bA
LC + AS + B	4,78bA	3,15dB	3,26aB	3,67cA
LC + KIN + AS + B	5,66aA	2,77eB	2,64a ^{NS}	2,74e
KIN + AS	4,18cA	3,47cB	3,02a ^{NS}	3,04d
KIN + B	4,15cA	3,83bB	3,14a ^{NS}	2,97d
KIN + AS + B	4,37cA	3,44cB	3,18aB	4,11bA
AS + B	4,05d ^{NS}	3,95b	3,22aB	4,19bA
Média	4,47	3,55	2,95	3,76
cv (%)	5,3		5,83	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Na primeira avaliação de massa de matéria seca de folhas, na média entre todos os tratamentos em cada variedade cultivada, a NA-5909-RG apresentou 23,9% de incremento em relação à NS-7114-RR, enquanto que na segunda avaliação a NS-7114-RR foi superior em 45,6 e 105,9% no Controle e na média entre todos os tratamentos, respectivamente, em relação à NA-5909-RG (Tabela 15). A maior massa de matéria seca de folhas provavelmente proporcionou maior área foliar, a qual é importante para a manutenção de elevada produção de fotoassimilados (NELSON, 1986; BOARD; MODALI, 2005). Desta forma, a maior massa de matéria seca de folhas na variedade cultivada NS-7114-RR na última avaliação, a qual coincidiu com o final do período de enchimento de grãos, pode ter proporcionado maior produção de fotoassimilados, e assim, maior produtividade grãos. Já foi apresentado anteriormente que esta variedade cultivada apresentou período reprodutivo mais longo, o que é importante para obtenção de alta produtividade. Durante os estádios reprodutivos, a manutenção da área foliar é imprescindível, pois garante maior superfície de captação de luz e consequente produção de energia, o que torna estas plantas potencialmente mais produtivas (BOARD; MODALI, 2005).

A maior massa seca de caule observada na variedade cultivada NA-5909-RG na primeira avaliação quando KIN, AS e B foram aplicados isolados pode estar relacionada à maior área foliar, o que permitiu maior produção de energia para ser alocado no caule. Desta forma, no estágio R₃, a aplicação de LC, KIN, AS e B, isolados, na variedade cultivada NA-5909-RG incrementou a massa de matéria seca de folhas em 17,5, 25,9, 16,2 e 38,6%, respectivamente em relação ao Controle. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de KIN isolada proporcionou aumento de 45,4% na massa de matéria seca de folhas em relação ao Controle, o que pode ter contribuído para maior acúmulo de massa de matéria seca de caule neste tratamento. No entanto a aplicação de LC isolado reduziu em 13,5%. A aplicação de AS e B isolados não alterou o acúmulo de massa de matéria seca de folhas nesta variedade cultivada na primeira avaliação (Tabela 15).

Tais comportamentos mostram que há resposta distinta para variedades cultivadas com diferentes grupos de maturação, o que significa que o posicionamento de produtos com efeitos na fisiologia da planta deve ser baseado na variedade cultivada trabalhada, e não generalizar a mesma recomendação para diferentes ambientes, como é feito na maioria das vezes no campo. Em relação às associações, nem sempre estas repercutiram o efeito da aplicação isolada (Tabela 15).

Na variedade cultivada NS-7114-RR, no estágio R₃, quando LC foi associado à KIN, AS e KIN + AS houve incremento de 47,4, 18,5 e 25,4%, respectivamente, em relação ao LC

isolado, o que os resultados encontrados na massa de matéria seca de caule. No entanto, nenhuma das associações contendo KIN, AS e B aumentou a massa de matéria seca de folhas em relação à KIN, AS e B isolados, respectivamente (Tabela 15).

Tabela 15 - Massa de matéria seca de folhas (g planta^{-1}) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	R ₃		R ₇	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	2,28d ^{NS}	2,07c	0,79bB	1,15eA
LC	2,68bA	1,73dB	0,64cB	1,49dA
KIN	2,87b ^{NS}	3,01a	0,12dB	1,16eA
AS	2,65cA	2,29cB	0,84bB	1,06eA
B	3,16aA	2,04cB	0,06dB	1,40dA
LC + KIN	2,47c ^{NS}	2,55b	0,75bB	1,66cA
LC + AS	2,56cA	2,05cB	0,78bB	2,03bA
LC + B	2,72bA	1,81dB	1,52aB	2,34aA
LC + KIN + AS	2,44cA	2,17cB	0,50cB	1,31dA
LC + KIN + B	2,82bA	1,99dB	0,77bB	1,41dA
LC + AS + B	2,79bA	1,93dB	0,65cB	1,31dA
LC + KIN + AS + B	3,02aA	1,90dB	0,67c ^{NS}	0,50f
KIN + AS	2,29d ^{NS}	2,15c	0,52cB	1,26dA
KIN + B	2,45c ^{NS}	2,25c	0,75bB	1,95bA
KIN + AS + B	2,50cA	1,90dB	0,52cB	1,05eA
AS + B	2,51cA	2,18cB	0,77bB	1,05eA
Média	2,64	2,13	0,67	1,38
cv (%)	6,13		12,77	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

No estágio R₇, na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de LC, KIN e B isolados reduziu a massa de matéria seca em 18,9, 84,8 e 92,4%, respectivamente, em relação ao Controle. No entanto, quando o LC foi associado com KIN, AS, B e KIN + B houve incremento de 17,2, 21,9, 137,5 e 20,3%, respectivamente, em relação ao LC isolado. Neste caso, apenas a associação entre LC + B foi superior ao Controle. Todas as associações

contendo KIN foram superiores à KIN isolada, embora estas associações não tenham sido superiores ao Controle. Nenhuma das associações contendo AS foi superior ao AS isolado (Tabela 15).

Todas as associações contendo B apresentaram acúmulo de massa de matéria seca de folhas em relação ao B isolado. No entanto, apenas o tratamento LC + B foi superior ao Controle. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC e B, isolados, incrementou a massa de matéria seca de folhas em 29,6 e 21,7%, respectivamente, em relação ao Controle. Quando o LC foi associado a KIN, AS e B, houve incremento de 11,4, 36,2 e 57%, respectivamente, em relação ao LC isolado. A associação de KIN com LC, LC + AS, LC + B, AS e B proporcionou incremento de 43,1, 12,9, 21,6, 8,6 e 68,1% em relação à KIN isolada. A associação de AS com LC, LC + KIN, LC + B e KIN proporcionou aumento de 91,5, 23,6, 23,6 e 18,9% em relação ao AS isolado, respectivamente. Em relação aos tratamentos contendo B, apenas as associações em LC + B e KIN + B proporcionaram aumento na massa de matéria seca de folhas em relação ao B isolado. Neste caso, os incrementos foram de 67,1 e 39,3%, respectivamente (Tabela 15).

A variedade cultivada NS-7114-RR apresentou maior massa de matéria seca de vagens em relação à NA-5909-RG. O incremento foi de 8% para o Controle e 15,3% na média entre todos os tratamentos. Nesta mesma avaliação, esta variedade cultivada apresentou maior massa de matéria seca de caule (Tabela 14) e de folhas (Tabela 15), os quais são fatores que podem ter contribuído para incrementar a massa de matéria seca de vagens. Ainda, a maior massa de matéria seca de vagens nesta variedade cultivada pode estar relacionada à maior duração da fase reprodutiva (Tabela 4). A duração do período reprodutivo é uma das características que está relacionada com a produtividade das plantas, pois durante esta fase ocorre intensa produção e remobilização de energia para os grãos. Assim, quando esta fase é maior, ocorre aumento no período de utilização da luz pelas plantas, o que repercute em maior produção de fotoassimilados (EVANS, 1989). Além disso, variedades cultivadas de ciclo curto apresentam baixa massa de raízes durante a fase de enchimento dos grãos (Tabela 13), o que poderia limitar a absorção de água e nutrientes.

Na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de LC, KIN e AS, isolados, proporcionou incremento médio de 13,1% em relação ao Controle na massa de matéria seca de vagens, respectivamente, enquanto que a aplicação de B isolado reduziu em 16,8%. Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC e B, isolados, proporcionou incremento de 26,6 e 17%, respectivamente, em relação ao Controle, enquanto que KIN e AS, isolados, não alteram o acúmulo de massa de matéria seca de vagens (Tabela 16). A massa de matéria

seca de vagens durante este período é uma característica importante, pois a maior parte desta massa é representada pelos grãos (OHYAMA *et al.*, 2013). Desta forma, os tratamentos que apresentaram superior massa de matéria seca de vagens são potencialmente mais produtivos.

Tabela 16 - Massa de matéria seca de vagens (g planta⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Massa de matéria seca de vagens (g planta ⁻¹)	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	6,71bB	7,25cA
LC	7,76aB	9,18aA
KIN	7,38a ^{NS}	7,45c
AS	7,62a ^{NS}	7,76c
B	5,58cB	8,48bA
LC + KIN	7,69aB	9,23aA
LC + AS	7,75aB	8,72bA
LC + B	7,25aB	8,49bA
LC + KIN + AS	7,37aB	8,58bA
LC + KIN + B	7,93aB	8,49bA
LC + AS + B	6,60bB	7,98cA
LC + KIN + AS + B	7,13a ^{NS}	7,53c
KIN + AS	6,88bB	7,71cA
KIN + B	7,53a ^{NS}	7,30c
KIN + AS + B	7,67aB	9,65aA
AS + B	6,92bB	9,61aA
Média	7,23	8,34
cv (%)	4,09	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

Em relação às associações, na variedade cultivada NA-5909-RG, apenas LC + AS + B, KIN + AS e AS + B não proporcionou incremento na massa de matéria seca de vagens em relação ao Controle. No entanto, quando houve aumento, estes não diferiram da aplicação de LC, KIN e AS isolados. Na variedade cultivada NS-7114-RR, as associações LC + KIN, KIN + AS + B e AS + B proporcionaram os maiores incrementos, enquanto que os tratamentos LC

+ AS + B, LC + KIN + AS + B, KIN + AS e KIN + B foram inferiores ao Controle (Tabela 16).

4.3.8 Número de nós

Não foi observada diferença significativa entre o número de nós em nenhuma das variedades cultivadas e entre as variedades cultivadas dentro de cada um dos tratamentos (Tabela 17).

Embora não tenha sido observada diferença significativa, o número de nós em plantas de soja é um dos componentes de produção. Alterações na produtividade da cultura de soja frequentemente estão relacionadas a alterações no número de vagens e sementes por unidade de área. Desta forma, aumento na quantidade de nós poderia potencializar a produtividade das plantas, pois há mais pontos de inserção das estruturas reprodutivas. No entanto é necessário que, além do aumento no número de posições produtivas, ocorra incremento no pegamento de flores e vagens (BOARD; KAHN, 2011; EGLI, 2013; OHYAMA *et al.*, 2013).

A aplicação de citocinina, lactofen e boro pode alterar a formação de nós devido a alteração no número de ramificações. Como mencionado anteriormente, as citocininas estimulam a brotação das gemas laterais (TANAKA *et al.*, 2006; SHIMIZU-SATO, TANAKA, MORI, 2009). Associado a isto, o boro pode atuar indiretamente na formação das ramificações laterais através da redução no nível de auxina, pois este controla a síntese de AIA através da regulação da formação da AIA oxidase, enzima essencial para regular a concentração de auxina nos tecidos (CAMACHO-CRISTÓBAL *et al.*, 2015). Já o lactofen, devido ao dano causado no ápice do caule (GRAHAM, 2005), quebra a dominância apical, o que pode repercutir na formação de ramos laterais e proporcionar maior número de nós por área (SOARES, 2014).

Tabela 17 - Número de nós por planta após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Número de nós (nós planta ⁻¹)	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	17,8 ^{nsNS}	20,5
LC	19,4	20,7
KIN	18,3	22,4
AS	17,9	19,3
B	17,7	20,3
LC + KIN	18,0	23,8
LC + AS	18,8	20,3
LC + B	19,9	22,3
LC + KIN + AS	18,3	20,8
LC + KIN + B	20,9	22,0
LC + AS + B	20,4	23,3
LC + KIN + AS + B	18,1	20,9
KIN + AS	19,3	19,1
KIN + B	19,8	20,6
KIN + AS + B	19,8	21,3
AS + B	18,1	20,8
Média	18,9	21,1
cv (%)	13,53	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

4.3.9 Número de ramificações

Não foi observada diferença significativa entre o número de ramificações em nenhuma das variedades cultivadas e entre as variedades cultivadas dentro de cada um dos tratamentos (Tabela 18).

Embora seja uma característica regulada geneticamente, o número de ramificações das plantas pode ser alterado através da modulação do balanço entre auxina e citocinina e do espaço em que as plantas estão se desenvolvendo. Frequentemente, aumentos na produtividade de soja têm sido relacionados com incremento no número de ramificações, devido ao aumento no número de nós produtivos (EGLI, 2013; OHYAMA *et al.*, 2013).

No entanto, em sistema que visam alterar os componentes de produção da cultura de soja, é necessário que haja ajustes no manejo da cultura, pois estas mudanças e a produção de novos órgãos incrementam a demanda de energia pela planta. Assim, é especulado que, além do estímulo fornecido pelos compostos aplicados, seria necessário alterar os demais sistemas de manejo, principalmente adubação e outros estimulantes aplicados via folha (MURATA, 1969; HAEGELE; BELOW, 2013).

Tabela 18 - Número de ramificações por planta após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Número de ramificações (ramificações planta ⁻¹)	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	4,4 ^{nsNS}	3,8
LC	4,7	3,2
KIN	4,8	3,7
AS	4,8	3,9
B	4,1	3,3
LC + KIN	4,9	3,9
LC + AS	5,1	3,6
LC + B	4,4	2,8
LC + KIN + AS	4,8	3,7
LC + KIN + B	4,1	3,4
LC + AS + B	4,8	4,1
LC + KIN + AS + B	5,1	3,8
KIN + AS	3,8	3,1
KIN + B	4,0	2,9
KIN + AS + B	4,7	2,6
AS + B	4,6	4,0
Média	4,6	3,5
cv (%)	24,32	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

4.3.10 Número de vagens

Quando houve diferença significativa, a variedade cultivada NS-7114-RR sempre apresentou número de vagens superior em relação à NA-5909-RG. Neste caso, a maior

diferença foi observada no tratamento que recebeu a aplicação de LC + AS (Tabela 19). Estes resultados repercutem aqueles encontrados na massa de matéria seca de caule, folha e vagens. Provavelmente a maior massa de matéria seca de folhas proporcionou aumento na área foliar, a qual repercutiu em maior produção de fotoassimilados, os quais foram armazenados no caule e utilizados durante o pegamento e a formação das vagens.

Tabela 19 - Número de vagens (vagens planta⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Número de vagens (vagens planta ⁻¹)	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	31,3 ^{nsNS}	37,3b
LC	34,3 ^{NS}	39,3b
KIN	34,8B	44,2aA
AS	33,1 ^{NS}	37,2b
B	28,1B	39,9bA
LC + KIN	32,2B	45,3aA
LC + AS	34,3B	48,3aA
LC + B	39,4 ^{NS}	44,3a
LC + KIN + AS	28,8B	39,1bA
LC + KIN + B	37,6 ^{NS}	40,6b
LC + AS + B	37,1B	46,3aA
LC + KIN + AS + B	33,6 ^{NS}	37,6b
KIN + AS	32,7 ^{NS}	35,8b
KIN + B	33,6 ^{NS}	36,2b
KIN + AS + B	35,3B	42,1aA
AS + B	35,6 ^{NS}	41,1b
Média	33,8	40,9
cv (%)	12,25	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

O número de vagens é um dos componentes de produção da cultura de soja. Desta forma, incremento nesta variável torna as plantas potencialmente mais produtivas. No entanto,

além do maior número de vagens, é necessário que haja produção de energia suficiente para manter o enchimento das vagens (EGLI, 2013; OHYAMA *et al.*, 2013).

Na variedade cultivada NA-5909-RG, não foi observada diferença no número de vagens. No entanto, na NS-7114-RR, o maior número de vagens ocorreu nos tratamentos KIN, LC + KIN, LC + AS, LC + B, LC + AS + B e KIN + AS + B. Estes tratamentos, em média, apresentaram 6,7 vagens a mais em relação aos demais, o que representa 17,4% (Tabela 19).

4.3.11 Massa de 1000 grãos e produtividade

A maior produção de matéria seca, associada à maior duração da fase reprodutiva, proporcionou maior massa de 1000 grãos na variedade cultivada NS-7114-RR em relação à NA-5909-RG. Tal comportamento pode repercutir em maior produtividade nesta variedade cultivada, visto que esta característica é um dos componentes de produção da soja (OHYAMA *et al.*, 2013). A massa de 1000 grãos na variedade cultivada NA-5909-RG apresentou os menores valores nos tratamentos B, LC + KIN, LC + B, LC + KIN + B e KIN + AS + B. Em média, estes tratamentos foram 4,3% inferiores em relação aos demais. Na variedade cultivada NS-7114-RR, não foi observada diferença significativa (Tabela 20).

A produtividade de uma cultura é resultado de uma interação entre fatores ambientais (intensidade luminosa, fotoperíodo, temperatura, disponibilidade de água, entre outros), genéticos (potencial produtivo da variedade cultivada, adaptabilidade e capacidade de exploração dos fatores ambientais e de manejo, entre outros) e de manejo (adubação, uso de estimulantes, controle de pragas, doenças e plantas daninhas, entre outros). Desta forma, os tratamentos utilizados alteraram a produtividade das plantas por atuarem de forma direto ou indireta em um ou mais destes fatores.

Desta forma, quando houve diferença significativa, a NS-7114-RR sempre foi superior à NA-5909-RG. Os incrementos foram de 9,5, 7,6, 11, 12,8, 26,8, 12,2 e 25,3% para os tratamentos LC, KIN, AS, B, LC + KIN + AS, LC + AS + B e AS + B, respectivamente (Tabela 20). Tais resultados podem estar relacionados à maior duração da fase reprodutiva, menor gasto energético para a síntese de prolina e da maior massa de matéria seca de raiz, caule e folhas durante o final do enchimento de grãos, o que proporcionou maior formação de vagens em massa de 1000 grãos.

Na variedade cultivada NA-5909-RG, a aplicação de KIN incrementou a produtividade em 8,4% em relação ao Controle. Quando a KIN foi associada ao LC, houve incremento de 13,1% em relação ao LC isolado, no entanto, não diferiu da KIN isolada. A

associação entre LC + AS proporcionou incremento médio de 3,1% em relação ao LC e AS isolados, enquanto que a aplicação de LC + B incrementou a produtividade, em média, em 1,6% em relação ao LC e B isolados. A aplicação de LC + KIN + B proporcionou incremento de 7,7 e 8,1% em relação ao LC e B isolados, respectivamente, no entanto, não diferiu da aplicação de KIN isolada. O mesmo comportamento foi observado para o tratamento LC + KIN + AS + B. Neste caso, houve aumento de 4,9, 5,4 e 5,2% em relação ao LC, AS e B, respectivamente, embora não tenha ocorrido incremento em relação à KIN. Este comportamento mostra que a aplicação de KIN potencializou o efeito do LC. (Tabela 20).

Na variedade cultivada NS-7114-RR, a aplicação de LC, KIN, AS e B, isolados, proporcionou incremento médio de 19,4% em relação ao Controle (Tabela 20). Isso mostra que esta variedade cultivada foi mais responsiva aos estímulos fisiológicos, pois na NA-5909-RG, apenas KIN proporcionou aumento em relação ao Controle.

A associação entre LC + KIN na variedade cultivada NS-7114-RR incrementou a produtividade, em média 6,4% em relação ao LC e KIN aplicados isolados. Quando o LC foi associado à KIN + AS, o incremento médio foi de 9,5% em relação ao LC, KIN e AS aplicados isolados. Desta forma, a aplicação associada evidencia o efeito sinérgico da aplicação de LC, KIN e AS. A associação entre AS e B incrementou a produtividade, em média 8,3% em relação ao AS e B, isolados. A associação entre LC + AS reduziu a produtividade, em média 13,2% comparado ao LC e AS isolados. Desempenho semelhante foi observado para KIN + AS, que em média foi 15,8% inferior à KIN e AS isolados. A associação LC + B reduziu a produtividade, em média, 7,1% comparado ao LC e B isolados. Mesmo comportamento foi observado para LC + KIN + AS + B, KIN + B e KIN + AS + B. Estes foram, em média, 9,1% inferiores à aplicação de LC, KIN, AS e B isolados. No entanto, todos estes tratamentos foram superiores ao Controle (Tabela 20).

Tabela 20 - Massa de 1000 grãos (M1000, g) e produtividade (kg ha⁻¹) após o posicionamento de lactofen (LC), cinetina (KIN), ácido salicílico (AS) e boro (B) na cultura de soja. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	M1000 (g)		Produtividade (kg ha ⁻¹)	
	NA-5909-RG	NS-7114-RR	NA-5909-RG	NS-7114-RR
Controle	188,2aB	206,2 ^{ns} A	3395,6b ^{NS}	3242,5d
LC	190,6aB	206,8A	3468,7bB	3797,8bA
KIN	191,4aB	207,4A	3680,7aB	3960,5bA
AS	188,8aB	204,4A	3452,8bB	3833,8bA
B	182,8bB	206,2A	3457,6bB	3899,1bA
LC + KIN	184,0bB	204,8A	3924,7a ^{NS}	4126,5a
LC + AS	188,3aB	208,0A	3569,6a ^{NS}	3368,8d
LC + B	179,0bB	205,0A	3520,3a ^{NS}	3577,0c
LC + KIN + AS	185,5aB	209,6A	3336,8bB	4230,5aA
LC + KIN + B	180,7bB	212,8A	3737,5a ^{NS}	3937,1b
LC + AS + B	185,6aB	202,8A	3543,5aB	3975,2bA
LC + KIN + AS + B	187,2aB	204,5A	3637,8a ^{NS}	3578,6c
KIN + AS	196,4aB	204,8A	3054,8b ^{NS}	3282,1d
KIN + B	189,3aB	210,9A	3284,4b ^{NS}	3508,8c
KIN + AS + B	178,3bB	207,6A	3423,2b ^{NS}	3468,7c
AS + B	187,7aB	207,8A	3340,1bB	4185,8aA
Média	186,5	206,8	3489,3	3748,3
cv (%)	2,36		5,34	

* Letras maiúsculas se referem à comparação entre as variedades cultivadas, dentro de cada tratamento, individualmente, enquanto que, letras minúsculas comparam os diferentes tratamentos, dentro de cada variedade cultivada, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. ns: não significativo

4.3.12 Aplicação isolada de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro

Analisando a influência da aplicação de LC, KIN, AS e B foram observadas algumas interações fisiológicas, onde nem sempre o efeito isolado do produto repercutiu quando estes foram aplicados associados, o que mostra que muitos fatores estão envolvidos, dentre eles, as características genéticas das variedades cultivadas. Desta forma, para as aplicações isoladas, será dividido entre LC, KIN, AS e B comparados ao controle para melhor entendimento:

(i) lactofen: o LC reduziu a ANR nas duas variedades cultivadas, enquanto que no teor de proteína foi observado incremento apenas na NS-7114-RR. O maior teor de proteína não

repercutiu em aumento no índice Spad, pois houve incremento no índice Spad apenas na NA-5909-RG, enquanto que na NS-7114-RR foi observada redução nas duas avaliações. No metabolismo oxidativo, LC não alterou a atividade da SOD na NA-5909-RG e reduziu na NS-7114-RR, incrementou a atividade da POD na NA-5909-RG e não alterou na NS-7114-RR, reduziu a concentração de H_2O_2 na NA-5909-RG e incrementou na NS-7114-RR, aumentou a peroxidação lipídica nas duas variedades cultivadas e incrementou a concentração de prolina na NA-5909-RG e reduziu na NS-7114-RR. Em relação à massa de matéria seca de raiz, caule e folhas, a aplicação de LC não promoveu grandes alterações, com destaque apenas para maior massa de matéria seca de folhas no final do enchimento de grãos na NS-7114-RR e de vagens nas duas variedades cultivadas, embora não tenha alterado o número de vagens e massa de 1000 grãos. Desta forma, foi observado aumento na produtividade apenas na NS-7114-RR, sendo este de 17,1% em relação ao controle.

(ii) cinetina: KIN reduziu a ANR na NA-5909-RG e não proporcionou efeito na NS-7114-RR. Mesmo com redução na ANR, a KIN isolada proporcionou acréscimo no teor de proteína na folha na NA-5909-RG. No entanto, o maior teor de proteína na folha não repercutiu em aumento no índice Spad. No metabolismo oxidativo, a KIN reduziu a atividade da SOD e POD e a concentração de prolina na NS-7114-RR, enquanto que não foi observado efeito na NA-5909-RG. Nas duas variedades cultivadas, a KIN reduziu a concentração de H_2O_2 . Embora não tenha ocorrido alterações na atividade das enzimas antioxidantes e no teor de prolina, as plantas da variedade cultivada NA-5909-RG estava sob baixo nível de estresse, pois houve redução na peroxidação lipídica. No entanto, na NS-7114-RR a redução na atividade das enzimas antioxidantes e no teor de prolina proporcionou maior peroxidação lipídica. Na primeira avaliação de massa de matéria seca, houve incremento em raiz, caule e folhas nas duas variedades cultivadas, enquanto que na segunda avaliação houve redução em raiz e folhas e incremento em caule e vagens na NA-5909-RG e redução em caule na NS-7114-RR. Na massa de matéria seca de raiz, folha e vagens na NS-7114-RR não foi observado efeito na segunda avaliação. Em relação ao número de vagens, não houve alteração na NA-5909-RG e aumento na NS-7114-RR. Na massa de 1000 grãos também não foi observado diferença em nenhuma das variedades cultivadas. Em relação a produtividade, a KIN proporcionou aumento de 8,4 e 22,1% na NA-5909-RG e NS-7114-RR em relação ao controle, respectivamente.

(iii) ácido salicílico: o AS reduziu a ANR na NA-5909-RG, no entanto não alterou esta variável na NS-7114-RR. Embora não tenha incrementado a assimilação e N, houve aumento no teor de proteína na folha nas duas variedades cultivadas, sendo o maior acréscimo na NS-

7114-RR. Entretanto, esta alteração não proporcionou grandes alterações no índice Spad. No metabolismo oxidativo, o AS não alterou a atividade da SOD na NA-5909-RG, no entanto, reduziu a atividade da SOD e da POD na NS-7114-RR e incrementou a atividade da POD na NA-5909-RG. Este comportamento repercutiu em menor concentração de H_2O_2 na NA-5909-RG e incremento na NS-7114-RR. Desta forma, foi observado aumento na peroxidação lipídica na NS-7114-RR, embora tenha proporcionado redução na concentração de prolina nas duas variedades cultivadas, sendo o maior decréscimo na NA-5909-RG. Em relação à massa de matéria seca, o AS proporcionou aumento em raiz na NA-5909-RG nas duas avaliações, enquanto que reduziu na primeira avaliação na NS-7114-RR. Estes resultados repercutiram na massa de matéria seca de caule, pois apenas não foi observado aumento na segunda avaliação na NS-7114-RR, sendo o maior incremento na primeira avaliação na NA-5909-RG. Na massa de matéria seca de vagens, houve incremento apenas na primeira avaliação na NA-5909-RG, o qual repercutiu em maior acúmulo de massa de matéria seca de vagens. O AS não alterou o número de vagens e a massa de 1000 grãos nas variedades cultivada. Embora a NA-5909-RG tenha sido mais responsiva a aplicação de AS, este não proporcionou aumento na produtividade nesta variedade cultivada, enquanto que na NS-7114-RR houve incremento de 18,2%.

(iv) boro: a aplicação de B reduziu a ANR na NA-5909-RG e incrementou na NS-7114-RR, embora tenha sido observado aumento no teor de proteína nas duas variedades cultivadas, sendo o maior incremento na NS-7114-RR. O aumento no teor de proteína não repercutiu em incremento no índice Spad, pois apenas pequenas alterações foram observadas nesta variável. No metabolismo oxidativo, a aplicação de B reduziu a atividade da SOD e a concentração de prolina nas duas variedades cultivadas e a atividade da POD na NS-7114-RR, enquanto proporcionou incremento na POD na NA-5909-RG. Mesmo com aumento na atividade da POD, houve redução na concentração de H_2O_2 na NA-5909-RG. Já na NS-7114-RR, mesmo com a diminuição na atividade da POD, houve incremento na concentração de H_2O_2 . Tal comportamento repercutiu em maior peroxidação lipídica nas duas variedades cultivadas. Em relação à massa de matéria seca, a aplicação de B não alterou o acúmulo na raiz na NS-7114-RR, enquanto que proporcionou incremento na primeira avaliação na NA-5909-RG. Este comportamento repercutiu em maior acúmulo no caule e folha na NA-5909-RG na primeira avaliação, embora isto não tenha repercutido em maior massa de matéria seca de vagens, pois na NA-5909-RG, houve redução nesta variável. A maior massa de matéria seca de folhas na última avaliação na NS-7114-RR repercutiu em incremento no número de vagens nesta variedade cultivada. Estas alterações não repercutiram em maior número de vagens em

nenhuma das variedades cultivadas, além de ter proporcionado redução na massa de 1000 grãos na NA-5909-RG. A produtividade na NA-5909-RG não foi alterada pela aplicação de B, enquanto que na NS-7114-RR incrementou em 20,2% a produtividade.

4.3.13 Aplicação conjunta de lactofen, cinetina, ácido salicílico e boro

Para as associações entre LC, KIN, AS e B será dividido entre os metabolismos avaliados, ressaltando as melhores combinações:

(i) metabolismo do nitrogênio: Na variedade cultivada NA-5909-RG, apenas a associação entre KIN + AS + B proporcionou alta ANR, o que permitiu acúmulo de proteína na folha. No entanto, na NS-7114-RR, KIN + B, LC + KIN + AS, LC + KIN + B, KIN + AS + B, AS + B, LC + KIN + AS + B permitiu elevada ANR, embora isto tenha repercutido em alta concentração de proteína nas folhas apenas quando havia na associação pelo menos LC + KIN ou KIN + AS. Em relação ao índice Spad, na NA-5909-RG, apenas pequenas alterações foram observadas com destaque para LC + AS, LC + B e LC + KIN + B com os maiores valores na primeira avaliação. Na NS-7114-RR, a alta ANR para LC + KIN + AS + B e AS + B proporcionou alto índice Spad na primeira avaliação.

(ii) metabolismo oxidativo: as associações proporcionaram apenas pequenas alterações na atividade da SOD na NA-5909-RG, com destaque para as maiores reduções proporcionado por KIN + AS e AS + B, enquanto que na NS-7114-RR as maiores reduções foram observadas para LC + B e LC + KIN + AS. A baixa atividade da SOD quando aplicado AS + B repercutiu em redução na atividade da POD na NA-5909-RG. No entanto, na NS-7114-RR, foram observadas poucas alterações na atividade da SOD. A redução na atividade da SOD associado à baixa atividade da POD se traduziu em baixo nível de H_2O_2 , redução na peroxidação lipídica e no teor de prolina para KIN + AS na NA-5909-RG. Na NS-7114-RR, as associações contendo LC apresentaram as maiores concentrações de H_2O_2 , peroxidação lipídica e prolina.

(iii) acúmulo de massa de matéria seca: na primeira avaliação, o maior acúmulo de massa de matéria seca na raiz na variedade cultivada NA-5909-RG foi proporcionado pela associação entre LC + KIN + AS + B, enquanto que na NS-7114-RR foi observado para KIN + B. Na segunda avaliação, para a NA-5909-RG, o maior acúmulo de massa de matéria seca de raiz foi observado para LC + AS e KIN + AS + B e pequenas alterações na NS-7114-RR. Para caule e folhas, na primeira avaliação, a maior de matéria seca de raiz repercutiu em maior massa de matéria seca de caule e folhas na NA-5909-RG. Na NS-7114-RR a associação entre LC + AS proporcionou elevado acúmulo de massa de matéria seca de caule e folhas. Na

segunda avaliação, apenas pequenas alterações ocorreram na variedade cultivada NA-5909-RG, enquanto que a associação entre LC + B, LC + AS e KIN + B proporcionaram os maiores incrementos na massa de folhas. As alterações na massa de matéria seca de raiz, caule e folhas na NA-5909-RG repercutiu em maior massa de matéria seca de vagens, embora apenas pequenas diferenças tenham sido observadas entre as associações. No entanto, na variedade cultivada NS-7114-RR, não foi observado o mesmo comportamento.

(iv) componentes de produção e produtividade: não houve diferença significativa no número de nós e ramificações para as associações entre LC, KIN, AS e B. No entanto, na variedade cultivada NS-7114-RR, a associação entre LC + KIN, LC + AS, LC + B, LC + AS + B e KIN + AS + B proporcionou maior número de vagens. Nesta variedade cultivada, apenas na associação entre LC + KIN e LC + AS + B isto repercutiu em alta produtividade. Além deste, LC + KIN + AS e AS + B apresentaram alta produtividade, a qual pode estar relacionada a maior massa de matéria seca de raiz durante o final do período de enchimento de grãos, embora estes tratamentos tenham apresentado elevado nível de estresse celular. Para as associações entre LC + KIN + AS, a elevada produtividade também pode ser devido à alta ANR e ao elevado nível de proteína na folha. Na variedade cultivada NA-5909-RG não houve alteração no número de vagens, no entanto, LC + KIN, LC + AS, LC + B, LC + KIN + B, LC + AS + B e LC + KIN + AS + B proporcionou aumento na produtividade.

4.3.14 Variedades cultivadas: avaliação fisiológica e fenométrica

Em relação às variedades cultivadas, a do GM 6.7 (NA-5909-RG) apresentou maior ANR, o que repercutiu em maior índice Spad, mas não em superior teor de proteína total solúvel na folha. No metabolismo oxidativo, não foi observado padrão entre as variedades cultivadas na atividade da SOD, no entanto, de modo geral, a NS-7114-RR apresentou superior atividade da POD, maior teor de H_2O_2 , peroxidação lipídica e menor teor de prolina em relação à NA-5909-RG. Nas avaliações de massa de matéria seca, a NA-5909-RG apresentou maior acúmulo nas raízes, caule e folhas na primeira avaliação e menor na segunda, o que repercutiu em maior massa de matéria seca de vagens na NS-7114-RR. Mesmo com maior nível de estresse, a variedade cultivada NS-7114-RR manteve elevado teor de proteína na folha, o que proporcionou maior acúmulo de massa de matéria seca durante o final do período do enchimento de grãos e permitiu maior massa de 1000 grãos e produtividade em relação à NA-5909-RG.

4.3.15 Considerações finais

Ainda são escassas as informações científicas que elucidam as alterações fisiológicas proporcionadas pela aplicação de hormônios (cinetina e ácido salicílico) herbicidas utilizados como “reguladores de crescimento” (lactofen) e micronutrientes (boro) na cultura de soja e como estas podem alterar a produtividade. No presente trabalho foi possível observar que a aplicação de cinetina em V_4 , V_6 ou $V_4 + V_6$ reduz o nível de estresse, estimulam o metabolismo do nitrogênio e do carbono, o que repercute em maior produtividade. No entanto, alguns pesquisadores têm sugerido que outros tipos de citocinina como benziladenina, isopenteniladenina e zeatina podem proporcionar melhor efeito em relação à cinetina. Portanto, é necessário que seja avaliado o efeito destes outros tipos de citocinina em plantas cultivadas.

Associados aos efeitos da cinetina, esta foi capaz de reduzir os danos proporcionados pelo lactofen, no entanto, foi realizado apenas um posicionamento ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas. Portanto, é necessário que seja avaliado outros posicionamentos do herbicida, por exemplo, nos estádios V_3 , V_4 , V_5 ou V_6 e suas interações como citocinina, a fim de determinar a melhor época para posicionamento, pois neste trabalho foi observado tendência de melhor efeito da cinetina quando aplicada em V_6 . Ainda, no campo, tem sido utilizadas outros produtos como reguladores de crescimento, entre eles o herbicida imazetapir, o precursor de etileno ethephon, o triazol propiconazol, mas não há informações científicas que atestam o efeito positivo destes e em quais épocas e doses devem ser aplicados.

Além disso, os efeitos proporcionados pela aplicação de cinetina, ácido salicílico e lactofen são muito dependentes das condições do sistema de produção, entre elas, nível de adubação e nutrição, disponibilidade de água, temperatura do ar, variedade cultivadas utilizada, entre outros. Portanto, é necessário que seja investigado os efeitos que estes produtos proporcionam nestas diferentes condições, uma vez que a soja é cultivada desde a latitude 40° S e 40° N, em diversas altitudes, níveis de investimento e com materiais genéticos, pois se considerarmos apenas o Brasil, existem mais de 1000 variedades cultivadas distintas.

Os efeitos proporcionados pela aplicação de boro ainda são inconsistentes, embora tenha proporcionado alguns incrementos que produtividade quando este foi aplicado. Portanto, é necessário que seja investigado novas doses e posicionamento para definir qual o real papel desse micronutriente em estimular variáveis fisiológicas e os componentes de produção de soja. Ainda, é importante que seja considerado as interações entre a aplicação via folha e os diferentes níveis de boro encontrado no solo, o que não foi avaliado neste trabalho.

Por fim, foi constatado que a variedade cultivada de menor grupo de maturação apresenta diferenças no metabolismo, além de ter sido menos responsiva em produtividade em função dos tratamentos realizados. Portanto, é fundamental que em trabalhos futuros seja investigado o comportamento fisiológico de variedades cultivadas com diferentes grupos de maturação para confirmar as hipóteses levantadas neste trabalho.

5 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos e do que foi discutido, pode-se concluir que:

- (i) a aplicação de KIN em V_4 , V_6 ou V_4+V_6 aumenta a ANR e o teor de proteína na folha, reduz o nível de estresse e aumenta o acúmulo de massa de matéria seca e a produtividade;
- (ii) a aplicação de LC aumenta o nível de estresse das plantas e incrementa a produtividade apenas no cultivar do GM 7.1;
- (iii) a aplicação de KIN proporciona maior efeito na produtividade no cultivar NS-7114-RR;
- (iv) mesmo o cultivar NA-5909-RG sendo mais responsivo à aplicação de AS para as características fisiológicas e fenométricas, este incrementou a produtividade apenas no NS-7114-RR;
- (v) a aplicação de B proporciona os melhores efeitos na NS-7114-RR;
- (vi) o efeito das associações entre LC + KIN + AS e AS + B é mais estável na NS-7114-RR, enquanto que no NA-5909-RG, os efeitos mais estáveis foram observados para LC + KIN + AS + B;
- (vii) considerando as duas variedades cultivadas, a aplicação de L + KIN proporciona o maior incremento de produtividade; e
- (viii) o cultivar NS-7114-RR manteve maior teor de proteína na folha, superior acúmulo de massa de matéria seca durante o final do período do enchimento de grãos e maior massa de 1000 grãos, o que repercutiu em maior produtividade em relação ao NA-5909-RG.

REFERÊNCIAS

- ABEDI, T.; PAKNIYAT, H. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, Praha, v.46, n.1, p.27-34, 2010.
- ABREU, M.E.; MUNNÉ-BOSCH, S. Salicylic acid deficiency in *NahG* transgenic lines and *sid2* mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.60, n.4, p.1261-1271, 2009.
- ALAZEM, M.; LIN, N.S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions. **Molecular Plant Pathology**, Malden, v.16, n.5, p.529-540, 2015.
- ALBACETE, A.; GHANEM, M.E.; MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C.; ACOSTA, M.; SÁNCHEZ-BRAVO, V.; LUTTS, S.; DODD, I.C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, p.4119-4131, 2008.
- 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 & Environment**, Malden, v.24, p.1337-1344, 2001.
- ALIA; SARADHI, P.P.; MOHANTY, P. Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photo damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Oxford, v.38, n.2/3, p. 253-257, 1997.
- ALLIPRANDINI, L.F.; ABATTI, C.; BERTAGNOLLI, P.F.; CAVASSIM, J.E.; GABE, H.L.; KUREK, A.; MATSUMOTO, M.N.; OLIVEIRA, M.A.R.; PITOL, C.; PRADO, L.C.; STECKLING, C. Understanding soybean maturity groups in Brazil: environment, cultivar classification, and stability. **Crop Science**, Madison, v.49, p.801-808, 2009.
- ALONSO, J.M.; HIRAYAMA, T.; ROMAN, G.; NOURIZADEH, S.; ECKER, J.R. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. **Science**, Washington, v.284, p.2148-2152, 1999.
- ALVAREZ, S.; MARSH, E.L.; SCHROEDER, S.G.; SCHACHTMAN, D.P. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. **Plant, Cell and Environment**, Malden, v.31, p.325-340, 2008.
- AMARANTE, C.V.T.; STEFFENS, C.A.; SANGOI, L.; ZANARDI, O.Z.; MIQUELOTO, A.; SCHWEITZER, C. Quantificação de clorofilas em folhas de milho através de métodos ópticos não destrutivos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 1, p. 39-50, 2010.
- AMTHOR, J.S. The McCree-de Wit-Penning de Vries-Thornley respiration paradigms: 30 years later. **Annals of Botany**, Oxford, v.86, p.1-20, 2000.

AN, C.; MOU, Z. Salicylic acid and its function in plant immunity. **Journal of Integrative Plant Biology**, Malden, v.53, p.412-428, 2011.

ANANIEVA, E.A.; ALEXIEVA, V.S.; POPOVA, L.P. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.15, p.685-693, 2002.

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; BARTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M.L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.13, n.2, p.158-167, 2001.

AYDIN, B.; NALBANTOGLU, B. Effects of cold and salicylic acid treatments on nitrate reductase activity in spinach leaves. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v.35, n., p.443-448, 2011.

BALBINOT JÚNIOR, A.A.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; FERREIRA, A.S.; WERNER, F.; IWASAKI, G.S. Interação entre densidade de semeadura e adubação nitrogenada no crescimento e produtividade da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 34., 2014, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA, 2014. p. 33-35.

BALL, R.A.; PURCELL, L.C.; VORIES, E.D. Short-season soybean yield compensation in response to population and water regime. **Crop Science**, Madison, v.40, p.1070-1078, 2000.

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

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, v.44, n.1, p.276-287, 1971.

BELKADHI, A.; De HARO, A.; SOENGAS, P.; OBREGON, S.; CARTEA, M.E.; DJEBALI, W.; CHAÏBI, W. Salicylic acid improves root antioxidant defense system and total antioxidant capacities of flax subjected to cadmium. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, New York, v.17, p.398-406, 2013.

BELKADHI, A.; De HARO, A.; SOENGAS, P.; OBREGON, S.; CARTEA, M.E.; CHAÏBI, W.; DJEBALI, W. Salicylic acid increases tolerance to oxidative stress induced by hydrogen peroxide accumulation in leaves of cadmium-exposed flax (*Linum usitatissimum* L.). **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v.9, n.1, p.647-654, 2014.

BENDER, R.R.; HAEGELE, J.W.; BELOW, F.E. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern soybean varieties. **Agronomy Journal**, Madison, v.107, n.2, p.563-573, 2015.

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

BOARD, J.E. KAHLON, C.S. Soybean yield formation: what controls it and how it can be improved. In.: EL-SHEMY, H.A. **Soybean Physiology and Biochemistry**, InTech, p. 2-36, 2011. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/soybean-physiology-and-biochemistry>. Acesso em: 14 maio 2015.

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

BOARD, J.E.; TAN, Q. Assimilatory capacity effects on soybean yield components and pod number. **Crop Science**, Madison, v.35, p.846-851, 1995.

BOARD, J.E.; ZHANG, W.; HARVILLE, B.G. Yield rankings for soybean cultivar grown in narrow and wide rows with late planting dates. **Agronomy Journal**, Madison, v.88, p.240-245, 1996.

BRACCINI, A.L.; MOTTA, I.S.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, M.C.L.; ÁVILA, M.R.; MESCHÉDE, D.K. Características agronômicas e rendimento de sementes de soja na semeadura realizada no período de safrinha. **Bragantia**, Campinas, v.63, p.81-92, 2004.

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.

BRAUN, N.; DE SAINT GERMAIN, A.; PILLOT, J. P.; BOUTET-MERCEY, S.; DALMAIS, M.; ANTONIADI, I.; LI, X.; MAIA-GRONDARD, A.; SIGNOR, C.; BOUTEILLER, N.; LUO, D.; BENDAHMANE, A.; TURNBULL, C.; RAMEAU, C. The pea TCP transcription factor PsBRC1 acts downstream of strigolactones to control shoot branching. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.158, p.225-238, 2012.

BRITO, B.; MARTÍNEZ, M.; FERNÁNDEZ, D.; REY, L.; CABRERA, E.; PALACIOS, J.M.; IMPERIAL, J.; RUIZ-ARGÜESO, T. Hydrogenase genes from *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae are controlled by the nitrogen fixation regulatory protein NifA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.94, p.6019-6024, 1997.

BROWN, D.M. Soybean ecology. I. development-temperature relationships from controlled environment studies. **Agronomy Journal**, Madison, v.52, n.9, p.493-4396, 1960.

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

CAKMAK, I.; RÖMHELD, V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.193, p.71-83, 1997.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J.; GONZÁLEZ-FONTES, J.R. Boron in plants: deficiency and toxicity. **Journal of Integrative Plant Biology**, Malden, v.50, n.10, p.1247-1255, 2008.

- CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J.; MARTÍN-REJANO, E.M.; HERRERA-RODRÍGUEZ, M.B.; NAVARRO-GOCHICOA, M.T. REXACH, J.; GONZÁLEZ-FONTES, A. Boron deficiency inhibits root cell elongation via an ethylene/auxin/ROS-dependent pathway in *Arabidopsis* seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.13, p.3831-3840, 2015.
- CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J.; GONZÁLEZ-FONTES, A. Boron deficiency decreases plasmalemma H⁺-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagine in tobacco roots. **Planta**, Berlim, v.226, p.443-451, 2007.
- CÂMARA, G.M.S. Fixação biológica do nitrogênio em soja. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n.147, p.1-9, 2014.
- CARETTO, S.; LINSALATA, V.; COLELLA, G.; MITA, G.; LATTANZIO, V. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. **International Journal of Molecular Science**, Basel, v.16, p.26378-26394, 2015.
- CARLSON, D.R.; DYER, D.J.; COTTERMAN, C.D.; DURLEY, R.C. The physiological basis for cytokinin induced increases in pod set in IX93-100 soybean. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.84, p.233-239, 1987.
- CATO, S.C.; CASTRO, P.R.C. Redução da altura de plantas de soja causada pelo ácido 2,3,5 - triiodobenzóico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.981-984, 2006.
- CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, Oxford, v.103, p.551-560, 2009.
- CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.P.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSÓRIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field: photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, London, v.89, p.907-916, 2002.
- CHEESEMAN, J.M. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. **Plant Stress**, v.1, n.1, p.4-15, 2007.
- CHEN, Z.; SILVA, H.; KLESSIG, D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. **Science**, Washington, v.262, p.1883-1886, 1993.
- CHEN, Z.; ZHENG, Z.; HUANG, J.; LAI, Z.; FAN, B. Biosynthesis of salicylic acid in plants. **Plant Signaling and Behavior**, v.4, n.6, p.493-496, 2009.
- CHENG, X.; RUYTER-SPIRA, C.; BOUWMEESTER, H. The interaction between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.4, p.1-16, 2013.
- CHOI, J.; CHOI, D.; LEE, S.; RYU, C-M.; HWANG, I. Cytokinins and plant immunity: old foes or new friends? **Trends in Plant Science**, Cambridge, v.16, n.7, p.388-394, 2011.

- CHOI, J.; HUH, S.U.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; PAEK, K-H.; HWANG, I. The cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis*. **Developmental Cell**, Cambridge, v.19, p.284-295, 2010.
- COMAS, L.H.; BECKER, S.R.; CRUZ, M.V.; BYRNE, P.F.; DIERIG, D.A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.4, p.1-16, 2013.
- CONRATH, U.; CHEN, Z.; RICIGLIANO, J.R.; KLESSIG, D.F. Two inducers of plant defense responses 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, p.7143-7147, 1995.
- CORTLEVEN, A.; SCHMÜLLING, T. Regulation of chloroplast development and function by cytokinin. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, p.1-15, 2015.
- COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; EL AMRANI, A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, n.3, p.449-459, 2006.
- CRAIGIE, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, Sidney, v.23, p.371-393, 2011.
- DAMIÃO FILHO, C.F.; CORSO, G.M.; ANDRADE, E.V.M.M. Efeitos do herbicida lactofen sobre três cultivares de soja I. Alterações morfológicas externas e internas de folhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v.10, n.1/2, p.17-24, 1992.
- DANN, E.K.; DIERS, B.W.; HAMMERSCHMIDT, R. Suppression of Sclerotinia stem rot of soybean by lactofen herbicide treatment. **Phytopathology**, Palo Alto, v.89, p.598-602, 1999.
- DANON, A.; MIERSCH, O.; FELIX, G.; CAMP, R.G.; APEL, K. Concurrent activation of cell death-regulating signaling pathways by singlet oxygen in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, Malden, v.41, p.68-80, 2005.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.2, p.1-13, 2014.
- De, BRUIN, J.L.; PEDERSEN, P.; New and old soybean cultivar responses to plant density and intercepted light. **Crop Science**, Madison, v.49, n.6, p.2225-2232, 2009.
- DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P.V.V.; SCHAPAUGH, W.T. High day- or night time temperature alters leaf assimilation, reproductive success, and phosphatidic acid of pollen grain in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Crop Science**, Madison, v.53, n.4, p.1594-1604, 2013.
- DONG, F.C.; WANG, P.T.; SONG, C.P. The role of hydrogen peroxide in salicylic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. guard cells. **Acta Phytophysiologica Sinica**, Beijing, v.27, p.296-302, 2001.

DUBREUIL-MAURIZI, C.; VITECEK, J.; MARTY, L.; BRANCIARD, L.; FRETTEINGER, P.; WENDEHENNE, D.; MEYER, A.J.; MAUCH, F.; POINSSOT, B. Glutathione deficiency of the *Arabidopsis* mutant *pad2-1* affects oxidative stress-related events, defense gene expression, and the hypersensitive response. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.157, p.2000-2012, 2011.

DUN, E.A.; DE SAINT GERMAIN, A.; RAMEAU, C.; BEVERIDGE, C.A. Antagonistic action of strigolactone and cytokinin in bud outgrowth control. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.158, n.1, p.487-498, 2012.

DURNER, J.; KLESSIG, D.F. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, p.11312-11316, 1995.

EBEL, J. Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p.235-264, 1986.

EGLI, D.B. Soybean reproductive sink size and short-term reductions in photosynthesis during flowering and pod set. **Crop Science**, Madison, v.50, p.1971-1977, 2010.

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

EGLI, D.B.; LEGGETT, J.E.; DUNCAN, W.G. Influence of N stress on leaf senescence and N redistribution in soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v.70, n.1, p.43-47, 1978.

EGLI, D.B.; TEKRONY, D.M.; HEITHOLT, J.J.; RUPE, J. Air temperature during seed filling and soybean seed germination and vigor. **Crop Science**, Madison, v.45, p.1329-1335, 2005.

EMERICH, D.W.; RUIZ-ARGÜESO, T.; CHING, T.M.; EVANS, H.J. Hydrogen-dependent nitrogenase activity and ATP formation in *Rhizobium japonicum* bacteroids. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.137, p.153-160, 1979.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja**: região central do Brasil 2003. Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste: ESALQ, 2002. 199p.

ENDRES, V.C. Espaçamento, densidade e época de semeadura. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste (Dourados, MS). **Soja**: recomendações técnicas para Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Dourados, 1996. p.82-85. (Circular Técnica, 3).

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

EVANS, J.R.; SEEMANN, J.R. The allocation of nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. In.: BRIGGS, W.R. **Photosynthesis**. New York: Alan R. Liss, 1989. p.183-205.

FABRE, F.; PLANCHON, C. Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean. **Plant Science**, v.152, p.51-58, 2000.

FAGAN, E.B.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; CHALFUN JUNIOR, 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.

FANG, Y.; HIRSCH, A.M. Studying early nodulin gene ENOD40 expression and induction by nodulation factor and cytokinin in transgenic alfalfa. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.116, n.1, p.53-58, 1998.

FARIDUDDIN, Q.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. **Photosynthetica**, Lysolaje, v.41, p.281-284, 2003.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12p. (Special Report, 80).

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

FELLER, U.; ANDERS, I.; MAE, T. Rubiscolytics: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, n.7, p.1615-1624, 2008.

FERREIRA, D.F. **SISVAR** - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

FERREIRA, L.C.; CATANEO, A.C.; REMAEH, L.M.R.; BÚFALO, J.; SCAVRONI, J.; ANDRÉO-SOUZA, Y.; CECHIN, I.; SOARES, B.J.A. Morphological and physiological alterations induced by lactofen in soybean leaves are reduced with nitric oxide. **Planta Daninha**, Viçosa, v.29, n.4, p.837-847, 2011.

FERREIRA, L.C.; CATANEO, A.C.; REMAEH, L.M.R.; COMIANI, N.; FUMIS, T.F., SOUZA, Y.A.; SCAVRONI, J.; SOARES, B.J.A. Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in soybean plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v.97, p. 47-54, 2010.

FERRIS, R.; WHEELER, T.R.; HADLEY, P.; ELLIS, R.H. Recovery of photosynthesis after environmental stress in soybean grown under elevated CO_2 . **Crop Science**, Madison, v.38, p.948-955, 1998.

- FOYER, C.H.; NOCTOR G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.1, p.1866-1875, 2005.
- FRITSCHI, F.B.; RAY, J.D. Soybean leaf nitrogen, chlorophyll content, and chlorophyll a/b ratio. **Photosynthetica**, Praha, v.45, n.1, p.92-98, 2007.
- GALLARDO, K.; THOMPSON, R.; BURSTIN, J. Reserve accumulation in legumes seeds. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v.331, p.755-762, 2008.
- GAO, Q.M.; ZHU, S.; KACHROO, P.; KACHROO, A. Signal regulators of systemic acquired resistance. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, p.1-9, 2015.
- GAY, S.; EGLI, D.B.; REICOSKY, D.A. Physiological aspects of yield improvement in soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, n.1, p.387-391, 1980.
- GHANEM, M.E.; ALBACETE, A.; MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C.; ACOSTA, M.; ROMERO-ARANDA, R.; DODD, I.C.; LUTTS, S.; PÉREZ-ALFOCEA, F. Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, p.3039-3050, 2008.
- GIBSON, L.R.; MULLEN, R.E. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. **Crop Science**, Madison, v.36, p.1615-1619, 1996.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v.48, p.909-930, 2010.
- GOMEZ-ROLDAN, V.; FERMAS, S.; BREWER, P.B.; PUECH-PAGÈS, V.; DUN, E.A.; PILLOT, J.P.; LETISSE, F.; MATUSOVA, R.; DANOUN, S.; PORTAIS, J.C.; BOUWMEESTER, H.; BÉCARD, G.; BEVERIDGE, C.A.; RAMEAU, C. ROCHANGE, S.F. Strigolactone inhibition of shoot branching. **Nature**, London, v.455, p.189-194, 2008.
- GONZÁLEZ-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**, Lausanne, v.5, p.1-6, 2014.
- GRAHAM, M.Y. The diphenylether herbicide lactofen induces cell death and expression of defense-related genes in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v.139, p.1784-1794, 2005.
- GROBKINSKY, D.K.; NASEEM, M.; ABDELMOHSEN, U.R.; PLICKERT, N.; ENGELKE, T.; GRIEBEL, T.; ZEIER, J.; NOVÁK, O.; STRNAD, M.; PFEIFHOFER, H.; VAN DER GRAAFF, E.; SIMON, U.; ROITSCH, T. Cytokinins mediate resistance against *Pseudomonas syringae* in tobacco through increased antimicrobial phytoalexin synthesis independent of salicylic acid signaling. **Plant Physiology**, Palo Alto, v. 157, p.815-830, 2011.
- GUTIÉRREZ-CORONADO, M.A.; TREJO-LÓPEZ, C.; LARQUÉ-SAAVEDRA, A. Effect of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v.36, p.563-565, 1998.

- HAEGELE, J.W.; BELOW, F.E. **The six secrets of soybean success**: improving management practices for high yield soybean production. 2013. Disponível em: <<http://cropphysiology.cropsci.illinois.edu/documents/2012%20Six%20Secrets%20of%20Soybean%20Success%20report.pdf>>. Acesso em: 8 nov. 2015.
- HANSEN, H.; DÖRFFLING, K. Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance? **Functional Plant Biology**, Melbourne, v.30, p.365-375, 2003.
- HARE, P.; CRESS, W. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, Dorchester, v.21, p.79-102, 1997.
- HARFOUCHE, A.L.; RUGINI, E.; MENCARELLI, F.; BOTONDI, R.; MULEO, R. Salicylic acid induces H₂O₂ production and endochitinase gene expression but not ethylene biosynthesis in *Castanea sativa* in vitro model system. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.165, p.734-744, 2008.
- HAVLOVÁ, M.; DOBREV, P.I.; MOTYKA, V.; STORCHOVÁ, H.; LIBIUS, J.; DOBRÁ, J.; MALBECK, J.; GUADINOVÁ, A.; VANKOVA, R. The role of cytokinins in responses to water deficit in tobacco plants over-expressing trans-zeatin O-glucosyltransferase gene under 35S or SAG12 promoters. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v.31, p.341-353, 2008.
- HAYAT, Q.; HAYAT, S.; ALYEMENI, M.N.; AHMAD, A. Salicylic acid mediated changes in growth, photosynthesis, nitrogen metabolism and antioxidant defense system in *Cicer arietinum* L. **Plant, Soil and Environment**, Praha, v.58, p. 417-423, 2012
- HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M.N.; AHMAD, A. Salicylic acid enhances the efficiency of nitrogen fixation and assimilation in *Cicer arietinum* plants grown under cadmium stress. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v.9. n.1, p-35-42, 2014.
- HE, J.H.; WANG, P.T.; WANG, W.J.; SONG, C.P. Effect of salicylic acid on stomatal movement and K⁺ channel on plasma membrane of guard cells in *Vicia faba* L. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v.33, p.1479-1787, 2007.
- HEINDL, J.C.; CARLSON, D.R.; BRUN, W.A.; BRENNER, M.L. Ontogenetic variation of four cytokinins in soybean root pressure exudates. **Plant Physiology**, Rockville, v.70, p.1619-1625, 1982.
- HELMS, T.C.; DECKARD, E.; GOOS, R.J.; ENZ, J.W. Soybean seedling emergence influenced by days of soil water stress and soil temperature. **Agronomy Journal**, Madison, v.88, p.657-661, 1996.
- HERRERA-VÁSQUEZ, A.; SALINAS, P.; HOLUIGUE, L. Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, p.1-9, 2015.
- HESS, F.D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, Lawrence, v.48, p.160-170, 2000.

- HIROSE, N.; TAKEI, K.; KUHORA, T.; NOBUSADA, T.K.; HAYASHI, H.; SAKAKIBARA, H. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, n.1, p.75-83, 2008.
- HUFF, A.; DYBING, C.D. Factors affecting shedding of flowers in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.31, n.3, p.751-762, 1980.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. **Nitrogen fixation in agriculture, forestry ecology and environment**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p.25-42.
- HUYGHE, C. Genetics and genetic modifications of plant architecture in grain legumes: a review. **Agronomie**, Paris, v.18, p.383-411, 1998.
- JAISWAL, A.; PANDURANGAM, V.; SHARMA, S.K. Effect of salicylic acid in soybean (*Glycine Max* L. Merrill) under salinity stress. **The Bioscan**, Jharkhand, v.9, n.2, p.671-676, 2014.
- JANDA, T.; GONDOR, O.K.; YORDANOVA, R.; SZALAI, G.; PÁL, M. Salicylic acid and photosynthesis: signalling and effects. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v.36, n.10, p.2537-2546, 2014.
- JANDA, T.; SZALAI, G.; TARI, I.; PÁLDI, E. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. **Planta**, Berlim, v.208, p.175-180, 1999.
- JESUS, S.V.; MARENCO, R.A. O Spad-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**, Manaus, v.38, n.4, p.815-818, 2008.
- JIANG, H.; EGLI, D.B. Shade induced changes in flower and pod number and fruit abscission in soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v.85, p.221-225, 1993.
- JORDÃO, L.T. **Absorção, redistribuição e uso de potássio (rubídio) por plantas de soja com tipo de crescimento indeterminado**. 2014. 85p. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e no Ambiente) - Centro de energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- KAKIMOTO, T. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate:ATP/ADP isopentenyltransferases. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.42, n.7, p.677-685, 2001.
- KAMADA, I.; YAMAUCHI, S.; YOUSSEFIAN, S.; SANO, H. Transgenic tobacco plants expressing *rpg1*, a gene encoding a *ras*-related GTP-binding protein from rice, show distinct morphological characteristics. **The Plant Journal**, Malden, v.2, p.799-807, 1992.
- KANG, G.; LI, G.; XU, W.; PENG, X.; HAN, Q.; ZHU, Y.; GUO, T. Proteomics reveals the effects of salicylic acid on growth and tolerance to subsequent drought stress in wheat. **Journal Proteome Research**, Washington, v.11, p.6066-6079, 2012.

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

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J-C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, Melbourne, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

KASTORI, R.; PETROVIC, N. Effect of boron on nitrate reductase activity in young sunflower plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.12, n., p.621-632, 1989.

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

KAVI-KISHOR, P.B.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation *per se* correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, Cell & Environment**, Malden, v.37, n.2, p.300-311, 2014.

KHAN, M.I.R.; FATMA, M.; PER, T.S.; ANJUM, N.A.; KHAN, N.A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, p.1-17, 2015.

KHAN, W.; PRITHIVIRAJ, B.; SMITH, D.L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.160, p.485-492, 2003.

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

KHOKON, A.R.; OKUMA, E.; HOSSAIN, M.A.; MUNEMASA, S.; URAJI, M.; NAKAMURA, Y.; MORI, I.C.; MURATA, Y. Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid- induced stomatal closure in *Arabidopsis*. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v.34, n.3, p.434-443, 2011.

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

KUDOYAROVA, G.R.; VYSOTSKAYA, L.B.; CHERKOZYANOVA, A.; DODD, I.C. Effect of partial root zone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) xylem sap and leaves. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.58, p.161-168, 2007.

KUMAR, P.A.; PARRY, M.J.; MITCHELL, R.C.; AHMAD, A.; ABROL, Y. Photosynthesis and nitrogen-use efficiency. In: FOYER, C.H.; NOCTOR, G. **Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. p.23-34.

- KUMAR, S.P.; KUMAR, V.C.; BANDANA, B. Effects of salicylic acid on seedling growth and nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Journal of Stress Physiology and Biochemistry**, v.6, n. 3, p. 102-113, 2010.
- KUMUDINI, S.; HUME, D.J.; CHU, G. Genetic improvement in short-season soybeans: II. nitrogen accumulation, remobilization, and partitioning. **Crop Science**, Madison, v. 42, p.141-145, 2002.
- KUSNETSOV, V.V.; HERRMANN, R.G.; KULAEVA, O.N.; OELMÜLLER, R. Cytokinin stimulates and abscisic acid inhibits greening of etiolated *Lupinus luteus* cotyledons by effecting the expression of the light-sensitive protochlorophyllide oxidoreductase. **Molecular Genetic and Genomics**, Berlin, v.259, p.21-28, 1998.
- KWAK, J.M.; MORI, I.C.; PEI, Z.M.; LEONHARDT, N.; TORRES, M.A.; DANGL, J.L.; BLOOM, R.E.; DODDE, S.; JONES, J.D.; SCHROEDER, J.I. NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis*. **The EMBO Journal**, London, v.22, n.11, p.2623-2633, 2003.
- LANDINI, S.; GRAHAM, M.Y.; GRAHAM, T. Lactofen induces isoflavone accumulation and glyceollin elicitation competency in soybean. **Phytochemistry**, Murcia, v.62, p.865-874, 2003.
- LARA, M.E.B.; GARCIA, M-C.G.; FATIMA, T.; EHNEß, R.; LEE, T.K.; PROELS, R.; TANNER, W.; ROITSCH, T. Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.16, n.5, p.1276-1287, 2004.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004. 531p.
- LARUE, C.T. **Lactofen-mediated accumulations of isoflavones in soybean leaf tissue and induction of a systemic protection response towards pathogens in lactofen treated soybeans**. 2003. 110p. Magister Science Thesis - Ohio State University, Columbus, 2003.
- LATTANZIO, V.; CARDINALI, A.; RUTA, C.; FORTUNATO, I.M.; LATTANZIO, V.M.T.; LINSALATA, V.; CICCIO, N. Relationship of secondary metabolism to growth in oregano (*Origanum vulgare* L.) shoot cultures under nutritional stress. **Environment and Experimental Botany**, Oxford, v.65, p.54-62, 2009.
- LAWLOR, D.W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n.370, p.773-787, 2002.
- LEFFEL, R.C.; CREGAN, P.B.; BOLGIANO, A.P.; THIBEAU, D.J. Nitrogen metabolism of normal and high-seed-protein soybean, **Crop Science**, Madison, v.32, p.747-750, 1992.
- LEHNEN, L.P.; SHERMAN, T.D.; BECERRIL, J.M.; DUKE, S.O. Tissue and cellular localization of acifluorfen-induced porphyrins in cucumber cotyledons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v.37, p.239-248, 1990.

LEVENE, B.C.; OWEN, M.D.K.; TYLKA, G.L. Influence of herbicide application to soybeans on soybean cyst nematode egg hatching. **Journal of Nematology**, Loudonville, v.30, p.347-352, 1998.

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

LI, N.; PARSONS, B.L.; LIU, D.; MATTOO, A.K. Accumulation of wound-inducible ACC synthase transcript in tomato fruit is inhibited by salicylic acid and polyamines. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v.18, 477-487, 1992.

LIU, X.; MENG, F.X.; ZHANG, S.Q.; LOU, C.H. Ca^{2+} is involved in the signal transduction during stomatal movement induced by salicylic acid in *Vicia faba* L. **Journal of Plant Physiology Molecular Biology**, New Delhi, v.1, p.59-64, 2003.

LIU, X.Z.; HUANG, B. Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress. **Crop Science**, Madison, v.42, n.2, p.42466-42472, 2002.

LIU, Y.Z.; LI, S.; YANG, C.Q.; PENG, S.A. Effects of boron-deficiency on anatomical structures in the leaf main vein and fruit mesocarp of pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck]. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology**, Jeollabuk-do, v.88, p.693-700, 2013.

LOOMS, W.D.; DURST, R.W. Chemistry and biology of boron. **Biofactors**, Malden, v.3, p.229-239, 1992.

LORTEAU, M.A.; FERGUSON, B.J.; GUINEL, F.C. Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.112, n.3, p.421-428, 2001.

MACKOVÁ, H.; HRONKOVÁ, M.; DOBRÁ, J.; TUREČKOVÁ, V.; NOVÁK, O.; LUBOVSKÁ, Z.; MOTYKA, V.; HASEL, D.; HÁJEK, T.; PRÁŠIL, I.T.; GAUDINOVÁ, A.; ŠTORCHOVÁ, H.; GE, E.; WERNER, T.; SCHMÜLLING, T.; VANKOVÁ, R. Enhanced drought and heat stress tolerance of tobacco plants with ectopically enhanced cytokinin oxidase/dehydrogenase gene expression. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.64, n.10, p.2805-2815, 2013.

MAKINO, A. Rubisco and nitrogen relationships in rice. Leaf photosynthesis and plant growth. **Soil Science & Plant Nutrition**, Tokyo, v.49, p.319-327, 2003.

MAKINO, A.; SAKUMA, H.; SUDO, E.; MAE, T. Differences between maize and rice in N-use efficiency for photosynthesis and protein allocation. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.44, p.952-956, 2003.

MALEK, M.A.; MONDAL, M.M.A.; ISMAIL, M.R.; RAFII, M.Y.; BERAHIM, Z. Physiology of seed yield in soybean: growth and dry matter production. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v.11, n.30, p.7643-7649, 2012.

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

MASON, M.G.; ROSS, J.J.; BABST, B.A.; WIENCLAW, B.N.; BEVERIDGE, C.A. Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.111, n.16, p.6092-6097, 2014.

MASUDA, T.; OHTA, H.; SHIOI, Y.; TSUJI H.; TAKAMIYA K. Stimulation of glutamyl-transfer RNA reductase activity by benzyladenine in greening cucumber cotyledons. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.36, p.1237-1243, 1995.

MASUTA, C.; TANAKA, H.; UEHARA, K.; KUWATA, S.; KOIWAI, A.; NOMA, M. Broad resistance to plant viruses in transgenic plants conferred by antisense inhibition of a host gene essential in S-adenosylmethionine-dependent transmethylation reactions **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, p.6117-6121, 1995.

MATEO, A.; FUNCK, D.; MUHLENBOCK, P.; KULAR, B.; MULLINEAUX, P.M.; KARPINSKI, S. Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, p.1795-1807, 2006.

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

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

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.

MELOTTO, M.; UNDERWOOD, W.; KOCZAN, J.; NOMURA, K.; HE, S.Y. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. **Cell**, Cambridge, v.126, p.969- 980, 2006.

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**, Oxford, v.63, n.3, p.1315-1328, 2012.

MILLER, G.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.133, p.481-489, 2008.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v.33, p.453-467, 2010.

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

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**, Cambridge, v.7, p.405-410, 2002.

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

MIURA, K.; TADA, Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.5, p.1-132, 2014.

MLEJNEK, P.; DOLEŽEL, P.; PROCHÁZKA, S. Intracellular phosphorylation of benzyladenosine is related to apoptosis induction in tobacco BY-2 cells. **Plant, Cell & Environment**, Malden, v.26, p.1723-1735, 2003.

MORI, I.C.; PINONTOAN, R.; KAWANO, T.; MUTO, S. Involvement of superoxide generation in salicylic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.42, p.1383-1388, 2001.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VAN VEEN, W.L. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, The Hague, v.10, p.335-355, 1959.

MUNIER-JOLAIN, N.G.; NEY, B.; DUTHION, C. Termination of seed growth in relation to nitrogen content of vegetative parts in soybean plants. **European Journal of Agronomy**, Montpellier, v.5, p.219-225, 1996.

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

NAVARRO JÚNIOR, H.M.; COSTA, J.A. Expressão do potencial de rendimento de cultivares de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, p.275-279, 2002.

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

NISHIYAMA, R.; WATANABE, Y.; FUJITA, Y.; LE, D.T.; KOJIMA, M.; WERNER, T.; VANKOVA, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; KAKIMOOTO, T.; SAKAKIBARA, H.; SCHMÜLLING, T.; TRAN, L.S. 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. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.23, p.2169-2183, 2011.

NYATHI, Y.; BAKER, A. Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1763, p.1478-1495, 2006.

O'BRIEN J.; BENKOVÁ, E. Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.4, p.1-11, 2013.

OHYAMA, T.; MINAGAWA, R.; ISHIKAWA, S.; YAMAMOTO, M.; VAN PHI HUAN, N.; OHTAKE, N.; SUEYOSHI, K.; SATO, T.; NAGUMO, Y.; TAKAHASHI, Y. Soybean seed production and nitrogen nutrition. In.: BOARD, J. E. **A comprehensive survey of international soybean research: genetics, physiology, agronomy and nitrogen relationships**. Rijeka: InTech, 2013. p.115-157.

OLIVEIRA JUNIOR, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F.A.; FOLONI, J.S.S. Marcha de absorção e acúmulo de macronutrientes em soja com tipo de crescimento indeterminado. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 34., 2014. Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2014. p.133-136.

PANCHEVA, T.V.; POPOVA, L.P.; UZUNOVA, A.N. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.149, p.57-63, 1996.

PARTHIER, B. The role of phytohormones (cytokinins) in chloroplast development. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Jena, v.174, p.173-214, 1979.

PASCHAL, H.; BERGER, G.; NARI, C. Soybean breeding in South America. p.11-18. In. **American Seed Trade Association Conference**, 30th. ASTA, Chicago, IL. 2000.

PAULSEN, G.M. High temperature responses of crop plants. In.: BOOTE, K.J.; SINCLAIR, T.R.; PAULSEN, G.M. **Physiology and determination of crop yield**, Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.365-389.

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

PENNING DE VRIES, F.W.T. Substrate utilization and respiration in relation to growth and maintenance in higher plants. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v.22, p.40-44, 1974.

PENNING DE VRIES, F.W.T. The cost of maintenance processes in plant cells. **Annals of Botany**, Oxford, v.39, p.77-92, 1975.

PIEROZAN JUNIOR, C.; KAWAKAMI, J.; BRIDI, M.; MÜLLER, M.M.L.; CONTE, M.V.D.; MICHALOVICZ, L. Phenological and quantitative plant development changes in soybean cultivars caused by sowing date and their relation to yield. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v.10, n.6, p.515-523, 2015.

POSPISILOVA, J.; VAGNER, M.; MALBECK, J.; TRAVNICKOVA, A.; BATKOVA, P. Interactions between abscisic acid and cytokinins during water stress and subsequent rehydration. **Biologia Plantarum**, Amsterdam, v.49, p.533-540, 2005.

PURCELL, L.C.; SPECHT, J.E. Physiological traits for ameliorating drought stress. In.: BOERMA, H.R.; SPECHT, J.E. **Soybeans: Improvement, production, and uses**. Madison: American Society of Agronomy. 2004. 1180p.

QIN, H.; GU, Q.; ZHANG, J.; SUN, L.; KUPPU, S.; ZHANG, Y.; BUROW, M.; PAYTON, P.; BLUMWALD, E.; ZHANG, H. Regulated expression of an isopentenyltransferase gene (IPT) in peanut significantly improves drought tolerance and increases yield under field conditions. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.52, n.11, p.1904-1914, 2011.

RAHMAN, S.M.L.; MACKAY, W.A.; NAWATA, E.; SAKURATANI, T.; UDDIN, A.S.M.M.; QUBEDEAUX, B. Superoxide dismutase and stress tolerance of four tomato cultivars. **HortScience**, Palo Alto, v.39, n.5, p.983-986, 2004.

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

RAO, A.; AHMAD, S.D.; SABIR, S.M.; AWAN, S.I.; SHAH, A.H.; ABBAS, S.R.; SHAFIQUE, S.; KHAN, F.; CHAUDHARY, A. Potential antioxidant activities improve salt tolerance in ten varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v.4, p.69-76, 2013.

REGUERA, M.; PELEG, Z.; ABDEL-TAWAB, Y.M.; TUMIMBANG, E.B.; DELATORRE, C.A.; BLUMWALD, E. Stress-induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.163, p.1609-1622, 2013.

REITZ, M.U.; GIFFORD, M.L.; SCHAFER, P. Hormone activities and the cell cycle machinery in immunity-triggered growth inhibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.8, p. 2187-2197, 2015.

RIVAS-SAN VICENTE, M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defense: its role growth and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.62, n.10. p.1-18, 2011.

RIVERA-VARGAS, L.I.; SCHMITTHENNER, A.F.; GRAHAM, T.L. Soybean flavonoid effects on and metabolism by *Phytophthora sojae*. **Phytochemistry**, Murcia, v.32, p.851-857, 1993.

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

RIVERO, R.M.; SHULAEV, V.; BLUMWALD, E. Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.150, p.1530-1540, 2009.

ROSOLEM, A.; LEITE, V.M. Coffee leaf and stem anatomy under boron deficiency. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, p.477-483, 2007.

- ROSTAMI, M.; KOOCHKEI, A.R.; MAHALLATI M.N.; KAFI, M. Evaluation of chlorophyll meter (Spad) data for predicting of nitrogen status in corn (*Zea mays* L.). **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Science**, Dubai, v. 3, n. 1, p. 79-85, 2008.
- ROTUNDO, J.L.; BORRÁS, L.; WESTGATE, M.E.; ORF, J.H. Relationship between assimilate supply per seed during seed filling and soybean seed composition. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.112, p.90-96, 2009.
- ROWNTREE, S.C.; SUHRE, J.J.; WEIDENBENNER, N.H.; WILSON, E.W.; DAVIS, V.M.; NAEVE, S.L.; CASTEEL, S.N.; DIERS, B.W.; ESKER, P.D.; SPECHT, J.E.; CONLEY, S.P. Genetic gain $\times$ management interactions in soybean: I. planting date. **Crop Science**, Madison, v.53, p.1128-1138, 2013.
- RYU, C.M.; FARAG, M.A.; HU, C.H.; REDDY, M.S.; KLOEPPER, J.W.; PARÉ, P.W. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.134, p.1017-1026, 2004.
- SAGE R.F.; PEARCY R.W.; SEEMANN J.R. The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants: III. Leaf nitrogen effects on the activity of carboxylating enzymes in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). **Plant Physiology**, Palo Alto, v.85, p.355-359, 1987.
- SALEM, M.A.; KAKANI, V.G.; KOTI, S.; REDDY, K.R. Pollen-based screening of soybean genotypes for high temperatures. **Crop Science**, Madison, v.47, p.219-231, 2007.
- SALVAGIOTTI, F.; CASSMAN, K.G.; SPECHT, J.E.; WALTERS, D.T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.108, p.1-13, 2008.
- SANO, H.; SEO, S.; KOIZUMI, N.; NIKI, T.; IWAMURA, H.; OHASHI, Y. Regulation of cytokinins of endogenous levels of jasmonic and salicylic acids in mechanically wounded tobacco plants. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.37, p.762-769, 1996.
- SCHEURWATER, I.; DÜNNEBACKE, M.; EISING, R.; LAMBERS, H. Respiratory costs and rate of protein turnover in the roots of a fast-growing (*Dactylis glomerata* L.) and a slow-growing (*Festuca ovina* L.) grass species. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.51, p.1089-1097, 2000.
- SCHON, M.K.; BLEVINS, D.G. Foliar boron application increase the final number of branches and pods on branches of field-grown soybeans. **Plant Physiology**, Rockville, v.92, p.602-607, 1990.
- SCHOU, J.B.; JEFFERS, D.L.; STREETER, J.G. Effects of reflectors, black boards, or shades applied at different stages of plant development on yield of soybeans. **Crop Science**, Madison, v.18, p.29-34, 1978.
- SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio a colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015. 333p.

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

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**, Cairo, v.2012, p.1-26, 2012.

SHI, Q.; BAO, Z.; ZHU, Z.; YING, Q.; QIAN, Q. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v.48, p.127-135, 2006.

SHIBLES, R.; SUNDBERG, D.N. Relation of leaf nitrogen content and other traits with seed yield of soybean. **Plant Production Science**, Tokyo, n.1, v.1, p.3-7, 1998.

SHIMIZU-SATO, S.; TANAKA, M.; MORI, H. Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching. **Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.69, p.429-435, 2009.

SILVA, A.F.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SILVA, F.C.S. Cultivares. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio a colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015. p.149-167.

SINCLAIR, T.R.; WIT, C.T. Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. **Agronomy Journal**, Madison, v.68, p.319-324, 1976.

SINGH, S.; LETHAM, D.S.; PALNI, L.M.S. Cytokinin biochemistry in relation to leaf senescence. VIII. translocation, metabolism and biosynthesis of cytokinins in relation to sequential leaf senescence of tobacco. **Physiologia Plantarum**, Malden, v.86, n.3, p.398-406, 1992.

SLAYMAKER, D.H.; NAVARRE, D.A.; CLARK, D.; DELPOZO, O.; MARTIN, G.B.; ANDKLESSIG, D. The tobacco salicylic acid-binding protein 3(SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.99, p.11640-11645, 2002.

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

SOARES, L.H. **Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja**. 2013. 130p Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

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

SPREITZER, R.J.; SALVUCCI, M.E. RUBISCO: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p.449-475, 2002.

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

SUGIYAMA, T.; MIZUNO, M.; HAYASHI, M. Partitioning of nitrogen among ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and pyruvate orthophosphate dikinase as related to biomass productivity in maize seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v.75, p.665-669, 1984.

SUTINEN, S.; APHALO, P.J.; LEHTO, T. Does timing of boron application affect needle and bud structure in Scots pine and Norways spruce seedlings? **Trees**, Berlin, v. 21, p. 661-670, 2007.

SUTINEN, S.; VUORINEN, M.; RIKALA, R. Developmental disorders in buds and needles of mature Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., in relation to needle boron concentrations. **Trees**, Berlin, v.20, p.559-570, 2006.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. Ed., Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TALLER, B.J.; STURTEVANT, D.B. Cytokinin production by rhizobia. In: HENNECKE, H.; VERMA, D.P.S. (Ed.). **Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions**, v.1. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1991. p.215-221.

TANAKA, M.; TAKEI, K.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; MORI, H. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. **The Plant Journal**, Malden, v.45, n.6, p.1028-1036, 2006.

TANAKA, R.; KOBAYASHI, K.; MASUDA, T. Tetrapyrrole metabolism in *Arabidopsis thaliana*. **The Arabidopsis Book**, Baltimore, v.9, e0145, 2011.

TEICHMANN, T.; MUHR, M. Shaping plant architecture. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.8, p.1-18, 2015.

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.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil fertility and fertilizers**. New York: MacMillan, 1985. 754p.

TOURINO, M.C.C.; REZENDE, P.M.; SALVADOR, N. Espaçamento, densidade e uniformidade de semeadura na produtividade e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.8, p.1071-1077, 2002.

UMEHARA, M.; HANADA, A.; YOSHIDA, S.; AKIYAMA, K.; ARITE, T.; TAKEDA-KAMIYA, N.; MAGOME, H.; KAMIYA, Y.; SHIRASU, K.; YONEYAMA, K.; KYOZUKA, J.; YAMAGUCHI, S. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. **Nature**, London, v.455, p.195-200, 2008.

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

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

VAN ROEKEL, R.J.; PURCELL, L.C.; SALMERÓN, M. Physiological and management factors contributing to soybean potential yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.182, p.86-97, 2015.

VAN WEES; S.C.M.; VAN DER ENT, S.; PIETERSE, C.M.J. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.11, p.443-448, 2008.

VIDHYASEKARAN, P. **Plant hormone signaling systems in plant innate immunity**. New Delhi: Springer, 2015. 458p.

VLOT, A.C.; KLESSING, D.F.; PARK, S.W. Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.11, p.436-442, 2008.

WALTERS, D.R.; McROBERTS, N. Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? **Trends in Plant Science**, Cambridge, v.11, p.581-586, 2006.

WANG, N.; YANG, C.; PAN, Z.; LIU, Y.; PENG, S. Boron deficiency in woody plants: various responses and tolerance mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, p.1-14, 2015a.

WANG, Y.; SHEN, W.; CHAN, Z.; WU, W. Endogenous cytokinin overproduction modulates ROS homeostasis and decreases salt stress resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, p.1-12, 2015b.

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

WERNER, T.; NEHNEVAJOVA, E.; KOLLMER, I.; NOVAK, O.; STRNAD, M.; KRAMER, U.; SCHMULLING, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.22, p.3905-3920, 2010.

WIMMER, M.A.; EICHERT, T. Review: mechanisms for boron deficiency- mediated changes in plant water relations. **Plant Science**, Amsterdam, v.203, p.25-32, 2013.

YANG, C.Q.; LIU, Y.Z.; AN, J.C.; LI, S.; JIN, L.F.; ZHOU, G.F.; WEI, Q.J.; YAN, H.Q.; WANG, N.N.; FU, L.N.; LIU, X.; HU, X.M.; YAN, T.S.; PENG, S.A. Digital gene expression analysis of corky split vein caused by boron deficiency in ‘Newhall’ navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck) for selecting differentially expressed genes related to vascular hypertrophy. **PLoS ONE**, Cambridge, v. 8, e65737, 2013.

YANG, J.; ZHANG, J. Grain filling of cereals under soil drying. **New Phytologist**, Lancaster, v.169, p.223-236, 2006.

YARONSKAYA, E.; VERSHILOVSKAYA, I.; POERS, Y.; ALAWADY, A.E.; AVERINA, N.; GRIMM, B. Cytokinin effects on tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic activity in barley seedlings. **Planta**, Berlin, v.224, p.700-709, 2006.

YU, X.; SUKUMARAN, S.; MÁRTON, L. Differential expression of the Arabidopsis *Nia1* and *Nia2* genes: cytokinin-induced nitrate reductase activity is correlated with increased *Nia1* transcription and mRNA levels. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, p.1091-1096, 1998.

ZAVALETA-MANCERA, H.A.; LÓPEZ-DELGADO, H.; LOZA-TAVERA, H.; MORA-HERRERA, M.; TREVILLA-GARCÍA, C.; VARGAS-SUÁREZ, M.; OUGHAM, H. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.164, p.1572-1582, 2007.

ZHANG, S.; DU, H.; KLESSIG, D.F. Activation of tobacco SIP kinase by both a cell wall-derived carbohydrate elicitor and purified proteinaceous elicitors from *Phytophthora* spp. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.10, p.435-449, 1998.

ZHAO, X.; ZHENG, S-H.; ARIMA, S. Influence of nitrogen enrichment during reproductive growth stage on leaf nitrogen accumulation and seed yield in soybean. **Plant Production Science**, Tokyo, v.17, n.3, p.209-217, 2014.

ZWACK, P.J.; RASHOTTE, A.M. Cytokinin inhibition of leaf senescence. **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v.8, n.7, p e24737-1-e24737-7, 2013.

ZWACK, P.J.; RASHOTTE, A.M. Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.16, p.4863-4871, 2015.

ANEXOS

Anexo A - Atividade da enzima nitrato redutase (ANR, $\mu\text{g} [\text{N-NO}_2] \text{ g}^{-1} [\text{FV}] \text{ h}^{-1}$) em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Dias após a semeadura	
	39	53
Controle	0,68b	0,67d
Cinetina (V_4)	0,69b	1,17a
Cinetina (V_6)	0,44c	0,86c
Cinetina ($V_4 + V_6$)	0,79a	1,01b
cv (%)	7,16	2,12
dms	0,087	0,009

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

Anexo B - Índice Spad em soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG), 2015

Tratamentos	Dias após a semeadura		
	35	55	77
Controle	36,6ns	35,4ns	49,1a
Cinetina (V ₄)	37,6	35,6	45,3b
Cinetina (V ₆)	36,5	36,5	49,1a
Cinetina (V ₄ + V ₆)	35,1	35,5	49,1a
cv (%)	4,97	3,94	2,73
dms	3,4	2,65	2,47

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

Anexo C - Massa de matéria seca de raízes (g planta⁻¹) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Dias após a semeadura		
	40	67	91
Controle	0,487b	1,54b	0,93c
Cinetina (V ₄)	0,749a	1,55b	1,00bc
Cinetina (V ₆)	0,723a	1,91a	1,08ab
Cinetina (V ₄ + V ₆)	0,741a	1,13c	1,14a
cv (%)	8,12	2,77	5,73
dms	0,10	0,08	0,112

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

Anexo D - Massa de matéria seca de caule (g planta⁻¹) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Dias após a semeadura		
	40	67	91
Controle	2,51b	6,30d	6,05b
Cinetina (V ₄)	3,12a	7,57c	6,39ab
Cinetina (V ₆)	3,34a	8,33a	6,26ab
Cinetina (V ₄ + V ₆)	3,16a	7,76b	6,67a
cv (%)	4,03	0,77	4,20
dms	0,229	0,108	0,500

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

Anexo E - Massa de matéria seca de folhas (g planta⁻¹) de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Tratamentos	Dias após a semeadura		
	40	67	91
Controle	2,11b	5,16b	3,03ns
Cinetina (V ₄)	2,30a	4,59c	3,16
Cinetina (V ₆)	2,37a	6,13a	2,96
Cinetina (V ₄ + V ₆)	2,39a	4,63c	3,12
cv (%)	2,76	0,85	6,20
dms	0,118	0,082	0,358

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

Anexo F - Visualização das plantas de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. Imagem referente à avaliação aos 67 dias após a semeadura. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Anexo G - Visualização das plantas de soja após o posicionamento de cinetina em diferentes estádios. Imagem referente à avaliação aos 91 dias após a semeadura. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

Anexo H - Visão geral dos danos causados após a aplicação dos tratamentos aos 6 DAA no Experimento II, variedade cultivada NA-5909-RG. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

1 – Controle
 2 – Lactofen (LC)
 3 – Cinetina (CK)
 4 – Ácido salicílico (AS)
 5 – Boro (B)
 6 – LC + CK
 7 – LC + AS
 8 – LC + B

9 – LC + CK + AS
 10 – LC + CK + B
 11 – LC + AS + B
 12 – LC + CK + AS + B
 13 – CK + AS
 14 – CK + B
 15 – CK + AS + B
 16 – AS + B

Anexo I - Visão geral dos danos causados após a aplicação dos tratamentos aos 6 DAA no Experimento II, variedade cultivada NS-7114-RR. UNIPAM. Patos de Minas (MG). 2015

1 – Controle
 2 – Lactofen (LC)
 3 – Cinetina (CK)
 4 – Ácido salicílico (AS)
 5 – Boro (B)
 6 – LC + CK
 7 – LC + AS
 8 – LC + B

9 – LC + CK + AS
 10 – LC + CK + B
 11 – LC + AS + B
 12 – LC + CK + AS + B
 13 – CK + AS
 14 – CK + B
 15 – CK + AS + B
 16 – AS + B