

**Rodrigo Nascimento da Silva**  
**Químico (UCPel), M.Sc. (UFPel)**

**CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS  
DE SOJA [*Glycine max* (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE  
HIPOXIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Nei Fernandes Lopes, PhD.

Co-orientador: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes.

Co-orientador: Pesq. Dr. Flávio Gilberto Herter.

Pelotas, 2009

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901

Biblioteca de Ciência & Tecnologia – UFPel

S586c Silva, Rodrigo Nascimento da

Características fisiológicas e bioquímicas de plantas de soja [*Glycine max* (L.) merrill] sob condições de hipoxia / Rodrigo Nascimento da Silva ; orientador Nei Fernandes Lopes ; co-orientador Dario Munt de Moraes, Flávio Gilberto Herter. – Pelotas, 2009. – 96f. ; gráf. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2009.

1.Fisiologia vegetal. 2.Soja. 3.Hipoxia. 4.Alagamento. 5.Estresse hídrico. 6.Crescimento. 7.*Glycine Max*. I.Lopes, Nei Fernandes. II.Moraes, Dario Munt de. III.Herter, Flávio Gilberto. IV.Título.

CDD: 633.34

**Aprovada em 19 de novembro de 2009.**

**Banca examinadora**

.....  
Prof. Nei Fernandes Lopes, PhD. – UFPel (Presidente)

.....  
Prof. Dr. Dario Munt de Moraes. – UFPel

.....  
Prof. Dr. Luciano do Amarante. – UFPel

.....  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Claudete Miranda Abreu. –Unipampa

.....  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciana Bica Dode. – UFPel

A meu pai, JOSE SAMPAIO, onde quer que você esteja, estará sempre em meu coração.

A minha mãe, ELIZA, pela educação, incentivo e companheirismo.

A meus amores, ANA LÚCIA, ARTHUR E NICOLLE, razões de minha existência.

A todos os meus irmãos, de perto ou de longe, pelo incentivo e auxílios.

A minha dinda, GENITA, pelo amor doado o seu afilhado.

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, supremo criador e que está sempre ao meu lado na realização de mais um sonho.

A Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela oportunidade de cursar o Doutorado.

Em especial, ao meu amigo e companheiro em todas as etapas da Pós-Graduação, Prof. Nei Fernandes Lopes, PhD., pela orientação e amizade, por acreditar no meu potencial durante o desenvolver do curso, figura que será eterna em toda a minha vida.

Em especial, a Supervisora de Ensino, Pedagoga Gina Mikowaiski Valent, do Campus Bento Gonçalves do Instituto Federal do Rio Grande do Sul pelo seu expresso empenho e dedicação em me ajudar nas etapas finas desta trajetória.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, pela realização de algumas análises e a Embrapa Rondônia e Universidade de Rondônia, por auxílios prestados.

A Embrapa Clima Temperado pela cedência da casa-de-vegetação e porômetro.

Ao programa de Pós-Graduação em Sementes da UFPel, pelos equipamentos utilizados.

Ao Instituto Federal Sul-rio-grandense, pelas ajudas, e ao Serviço Autônomo de Saneamento de Pelotas, pela realização de algumas análises do experimento da Tese.

Aos Professores Doutores, Dario Munt de Moraes e ao Pesquisador Dr. Flavio Gilberto Herter, que contribuíram para a co-orientação desse ensaio.

À Reitora, Prof<sup>a</sup>. Dra. Cláudia Shieldick Souza e ao Diretor-Geral, Prof. Eduardo Giovannini, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, pelas ajudas concedida ao término desta trajetória e pelo aceite no processo de redistribuição para outro Instituto Federal.

Ao Pró-Reitor de Desenvolvimento Institucional do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Prof. Jackson Bezerra Nunes, e ao Diretor-Geral do campus Colorado do Oeste, Prof. José Ribamar de Oliveira do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, pelas liberações, incentivos para conclusão do Doutorado e pela redistribuição.

À Filósofa Suzi Urbana da Silva Braga, pela dedicação que teve e auxílios prestados ao longo desta trajetória e a Técnica Química Luíza Helena dos Santos Meirelles, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas pelos incentivos, por algumas análises e apoio moral em todas as etapas.

Aos servidores Rudinei da Silva Teixeira, Sérgio Roberto Nolasco da Luz e Ari Dalvo Rössler Carré, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pelotas, que muito me auxiliaram no desenvolvimento do meu experimento.

Ao Diretor-substituto de Articulação com os Municípios da Secretaria Estadual de Educação/RS, Prof. Elifalete Xavier pelas ajudas concedidas no final dessa trajetória.

À minha colega e amiga, Prof<sup>a</sup>. Marilda da Rosa Duarte, da Escola Estadual de Ensino Médio Osmar da Rocha Grafulha, pelo apoio em todas as situações.

À Prof<sup>a</sup>. Gisela Loureiro Duarte, Diretora do Instituto Federal Sul-Rio-grandense-Campus Pelotas, pela amizade e facilitação na concretização do doutorado, e pelo aceite na redistribuição para este campus.

A todos, que de uma forma ou de outra, em que possa ter esquecido, mas que contribuíram para consecução deste objetivo.

## RESUMO

SILVA, RODRIGO NASCIMENTO, M.Sc., Universidade Federal de Pelotas, novembro de 2009. **Características fisiológicas e bioquímicas de plantas de soja [*Glycine max* (L.) MERRILL] sob condições de hipoxia.** Orientador: Prof. Nei Fernandes Lopes, PhD. Co-orientadores: Prof. Dr. Dario Munt de Moraes, Pesq. Dr. Flávio Gilberto Herter.

Os solos de várzea no Rio Grande do Sul ocupam 20% da área do Estado e são usados para o cultivo do arroz irrigado. O problema é a difícil adaptação de culturas com retorno econômico, para rotação de cultura com o arroz, utilizando a mesma infra-estrutura e elevado rendimento. A cultura da soja aparece como opção e apresenta variabilidade genética para tolerar o excesso de umidade no solo. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em vasos, contendo como substrato um Planossolo, coletado em local anteriormente cultivado com arroz irrigado. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2x5x2), constituído de duas cultivares de soja (FT-Abyara e CD 202), cinco períodos de inundação do solo (0; 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia) e duas épocas de avaliação (estádios V4 e R1), com três repetições, objetivando avaliações de tolerância das cultivares de soja em solos alagados. A inundação foi aplicada em V4, mantendo-as por até oito dias e a recuperação avaliada em R1. Avaliaram-se atributos morfológicos, massas fresca e seca de órgãos, teores de ureídeos na seiva do xilema e proteínas totais em nódulos e raízes, bem como, teores de pigmentos dos cloroplastídeos e resistência estomática e transpiração. Os dados foram submetidos à análise estatística. Houve diferença de resposta entre os dois cultivares na maioria das características avaliadas em relação aos períodos de

hipoxia e pós-hipoxia. A cultivar FT-Abyara tem melhor adaptação ao alagamento, quando comparada com a CD 202.

Palavras-chave: soja, hipoxia, alagamento, estresse hídrico, crescimento.



## ABSTRACT

SILVA, RODRIGO NASCIMENTO, M.Sc., Federal University of Pelotas, november, 2009. **Biochemical and physiological characteristics of soybean plants [*Glycine max* (L.) MERRILL] under conditions of hypoxia.** Advisor: Prof. Nei Fernandes Lopes, Co-Adivisions: Prof. Dario Munt de Moraes, Dr. Flávio Gilberto Herter.

The soils in the floodplain of Rio Grande do Sul occupy 20% of the area of the state and are being pursued with the cultivation of rice. The problem is the difficult adaptation of crops with economic return for this, looking up, species that use the same infrastructure and high performance. The soybean culture appears as an option and displays genetic variability to allow the excess moisture in the soil. The experiment was conducted in a greenhouse in pots containing a substrate as albaqualf, collected in a area previously cultivated with rice. The experimental design was randomized blocks, in a factorial scheme (2x5x2), consisting of two soybean cultivars (FT-Abyara, CD 202), five duration of flooding the soil (0; 2; 4; 6 and 8 days of hypoxia) and two times (V4 and R1), with three replications. In order to assessments of tolerance of soybean cultivars in flooded soils. The flooding was applied in V4, keeping them for up to eight days and recovery valued at R1. It wasevaluated the morphological attributes, fresh and dry weight of organs and levels of ureides in the xylem sap and total proteins in nodules and roots, as well as contents of chlorophyll pigments and stomatal resistance and transpiration. The data were submitted to statistical analysis. It is concluded that there was difference in response between the two cultivars in most parameters assessed in relation to

periods of hypoxia and post-hypoxia. Cultivar FT-Abyara has a better performance against the flooding when compared with the CD 202.

Keywords: soybean, hypoxia, flooding, water stress, growth.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1. Curva de retenção de água do substrato solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (Albaqualf) proveniente da camada superficial (0-0,2m) coletado em áreas cultivadas com arroz irrigado no município de Pelotas/RS..... 24
- Figura 2. Teores de clorofila a de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 30
- Figura 3. Teores de clorofila b de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 32
- Figura 4. Teores de clorofila b de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia(●—●)..... 34

Figura 5. Teores de clorofila total de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia(●—●)..... 36

Figura 6. Teores de carotenóides de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia(●—●)..... 38

Figura 7. Teores de ureídeos totais em exsudato xilemático de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●) ..... 40

Figura 8. Teores de proteínas totais em raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia(●—●)..... 42

## CAPÍTULO 2

- Figura 1. Resistência estomática de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar FT-Abyara, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D)..... 52
- Figura 2. Resistência estomática de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar CD 202, em função de dias de hipoxia e pós-hipoxia (recuperação), aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D)..... 52
- Figura 3 – Transpiração de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar FT-Abyara, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D)..... 55
- Figura 4 – Transpiração de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar CD 202, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D)..... 63

### CAPÍTULO 3

- Figura 1. Área foliar de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 66
- Figura 2. Massa fresca de parte aérea de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 68
- Figura 3. Massa seca de parte aérea de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●) ..... 70
- Figura 4. Volume de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 72
- Figura 5. Massa fresca de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio

vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 74

Figura 6. Massa seca de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 75

Figura 7. Razão de massa seca de parte aérea / massa seca de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●)..... 78

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1. Análise química de um substrato de solo do tipo planossolo Háplico Eutrófico Solódico (Albaqualf), em Pelotas, RS.....	23
Tabela 2. Principais características das cultivares de soja FT-Abyara e CD 202.....	25
Tabela 3. Qualidade fisiológica de sementes de soja ( <i>Glycine max</i> ), cultivares FT-Abyara e CD 202.....	25



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	18
CAPITULO 1 - TEORES DE PIGMENTOS CLOROPLASTÍDEOS, UREÍDEOS E PROTEÍNAS EM PLANTAS DE SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA	21
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÕES.....	43
CAPITULO 2 - RESISTÊNCIA ESTOMÁTICA E TRANSPIRAÇÃO EM CULTIVARES DE SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA	44
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
CONCLUSÕES.....	59
CAPITULO 3 - CRESCIMENTO DE CULTIVARES DE SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA	60
INTRODUÇÃO.....	60
MATERIAL E MÉTODOS.....	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
CONCLUSÕES.....	79
CONCLUSÕES GERAIS.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

## INTRODUÇÃO GERAL

O Rio Grande do Sul possui aproximadamente cinco milhões e quinhentos mil hectares de solos aluviais e/ou hidromórficos (EMBRAPA, 2006), geralmente planos e ricos em matéria orgânica, facilmente irrigáveis por gravidade, na maioria dos casos, e inundados temporariamente ou não (margens de córregos, rios, vales úmidos), porém, apresentando, muitas vezes, umidade excessiva, necessitando de drenagem adequada (MARCHEZAN, 2002). Desse modo, apenas dois milhões de hectares são utilizados para cultivar arroz irrigado, sendo usado, anualmente, apenas um quarto deste total, e o restante não é explorado com cultura de grãos, devido à incidência de plantas daninhas.

Vários trabalhos são realizados com a finalidade de buscar alternativas para cultivos nas várzeas arroseiras, proporcionando maior retorno econômico dessas áreas, mas o grande problema é a difícil adaptação de culturas que possibilitem retorno econômico em solos alagados, na rotação com arroz, pois a maioria das culturas produtoras de grãos são mesófitas. Buscam-se, como alternativas, espécies que permitam a utilização da mesma estrutura empregada no arroz, apresentem mecanismos de tolerância às condições impostas pela inundação do solo, e possuam elevado potencial de rendimento. Para isso, a cultura da soja aparece como boa alternativa (BARNI et al., 1985; GASTAL et al., 1998), visto que é uma espécie originária de áreas alagadiças do norte da China (EVANS, 1996) e apresenta variabilidade genética para tolerar o excesso de umidade no solo (VANTOAI et al., 1994; THOMAS et al., 2000; PIRES et al., 2002).

A soja [*Glycine max* (L.) MERRILL] é a principal cultura do país, responsável por 10% das exportações brasileiras. Desde 1970, a produção e o consumo de soja quadruplicaram no Brasil (MERCOSOJA, 2009). O RS apresenta

grande cultivo de arroz em áreas de várzeas e como rotação de cultura, a soja seria a oportunidade, devido a utilização das mesmas infra-estruturas orizícolas.

Os solos de arroz são extremamente alagadiços e essa característica do encharcamento modifica sua atmosfera, pois promove deficiência de gás oxigênio ( $O_2$ ), acúmulos de gás carbônico ( $CO_2$ ), metano ( $CH_4$ ), etileno ( $C_2H_4$ ), gás sulfídrico ( $H_2S$ ) e redução da respiração aeróbica. O crescimento das raízes é paralisado, com o limite de tolerância das raízes de soja em relação ao  $CO_2$ , que é 20% na atmosfera do solo (COSTA, 1996).

O estresse experimentado pelas plantas sob inundação é intensificado com o tempo, de tal forma que a planta parte de privação parcial (hipoxia) para total (anoxia) de  $O_2$ , dificultando a respiração de órgãos vegetais subterrâneos e pela ação de toxinas por microrganismos aeróbios que vivem no solo. Assim, anoxia e toxinas podem matar as raízes, mas algumas das respostas iniciais à hipoxia e à ação do etileno permitem que as raízes evitem a anoxia e toxicidade se a inundação persistir (JACKSON, 1985).

A diminuição no teor de  $O_2$  provoca desordens metabólicas na planta (uma das principais é a respiração anaeróbica), diminuindo a eficiência na utilização de C e aumentando a produção de acetaldeído, etanol e lactato (MARSCHNER, 1995). A deficiência de  $O_2$  prejudica a síntese de fitorreguladores, tais como giberelinas e citocininas (SMIT et al., 1990).

As plantas que toleraram condições de restrição de  $O_2$  estão ligadas com a capacidade das raízes em oxidar a rizosfera por meio da transferência de  $O_2$  da parte aérea para as raízes (BARTLETT e JAMES, 1993).

Em concentrações subatmosféricas de oxigênio, a taxa respiratória é reduzida, sendo acompanhada por diminuição na produção de compostos altamente energéticos como trifosfato de adenosina (ATP), redutores: dinucleotídeo de adenina-nicotinamida (NADH) e dinucleotídeo de flavina-adenina ( $FADH_2$ ) e compostos intermediários para síntese de novas substâncias indispensáveis ao crescimento e desenvolvimento vegetal. Desse modo, a absorção e incorporação de íons são drasticamente afetadas, ocorrendo desnutrição mineral, com visíveis sintomas de deficiência de elementos minerais essenciais (DREW, 2000). Por outro lado, a planta para sobreviver sob condições anaeróbicas necessita assegurar a presença de substratos respiratórios (VARTAPETIAN et al., 1977), produzir ATP

com eficiência e eliminar produtos tóxicos do metabolismo anaeróbico (CRAWFORD et al., 1998).

Conforme a espécie, a tolerância ao estresse de oxigenação pode variar de algumas horas a muitos dias. Normalmente, os vegetais superiores não sobrevivem sob anoxia por longos períodos, pois em poucas horas com déficit de oxigênio ocorrem prejuízos letais ao metabolismo celular (SACHS et al., 1980).

A inundação do solo prejudica a nodulação de leguminosas e inibe a fixação de N<sub>2</sub> em nódulos previamente formados (JACKSON, 1985). Na soja, esse efeito não deve ser diferente, pois traz prejuízos na associação com *Bradyrhizobium japonicum*, e torna necessária a aplicação de nitrogênio na forma mineral para plantas cultivadas sob inundação.

Do exposto, as terras baixas com solos rasos normalmente cultivados com arroz, possuem problemas no que tange a rotação de culturas, em virtude da hipoxia ou anoxia que as raízes são submetidas pelo alagamento dessas áreas após chuva pesada.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância de dois genótipos de soja [*Glycine max* (L.) MERRILL], cultivares FT-Abyara e CD 202, às condições de encharcamento do solo, comuns nas terras orizícolas da região sul do Rio Grande do Sul.

## **CAPITULO 1**

# **TEORES DE PIGMENTOS DOS CLOROPLASTÍDEOS, UREÍDEOS E PROTEINAS EM PLANTAS DE SOJA [*Glycine max* (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA**

## **INTRODUÇÃO**

Brasil e Argentina são o segundo e o terceiro maiores produtores mundiais de soja, respectivamente. Na safra 2007/08, foram ocupados 36,6 milhões de hectares para a produção do grão nos dois países, totalizando 106,2 milhões de toneladas. No Cone Sul, foram cultivados 40,5 milhões de hectares, alcançando produção de 115 milhões de toneladas do grão. Assim, a soja é a grande responsável pelo crescente volume de exportações e o conseqüente avanço da economia na região (MERCOSOJA, 2009)

As áreas de várzeas do Estado do Rio Grande do Sul têm camada superficial do solo pouco profunda e a subsuperficial quase impermeável estando sujeitas ao alagamento em determinados períodos do ano (EMBRAPA, 2009), sendo que um grande percentual das mesmas é utilizado principalmente para cultivo de arroz (IBGE, 2009). Visando rotação de cultura, é necessária a avaliação de outras espécies que utilizem as mesmas infra-estruturas do arroz, demonstrando ainda, mecanismos de tolerância ao encharcamento do solo e bom potencial produtivo.

O cultivo da soja é uma opção economicamente viável, pois estudos realizados revelam a existência de especificidade de interação entre cultivares de soja e diversos regimes hídricos, apesar de ter sua produtividade prejudicada pela inundação do solo (ZENZEN et al., 2007).

A hipoxia provoca variações na respiração aeróbica, no nível nutricional e na fotossíntese (FERNANDEZ, 2006). Frequentemente o teor foliar de clorofila está associado ao conteúdo de N (YODER e PETTIGREW-CROSBY, 1995) e a clorofila *a* é o principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa, enquanto que a clorofila *b* e os carotenóides têm função fotoprotetora, associadas, representam fatores relacionados à eficiência fotossintética de plantas, ao crescimento e à adaptabilidade a diferentes ambientes (TAIZ, 2008).

Em estágio mais avançado, esses danos podem ser exteriorizados pela redução nos teores de clorofilas resultante da degradação e/ou decréscimo de sua síntese, como constatado em folhas de outras espécies submetidas a diferentes níveis de inundação (HUANG et al., 1994; PEZESHK et al., 1996).

As condições de encharcamento do solo, levando a hipoxia, acarretam emurchamento foliar, epinastia, clorose das folhas, hipertrofia diminuição no crescimento do caule, da planta e da produtividade, aumento na susceptibilidade ao ataque de pragas, doenças e morte das raízes. Alguns destes podem ser considerados mecanismos fisiológicos de adaptação das plantas ao encharcamento do solo (BAILEY-SERRES e VOESENEK, 2008).

O nitrogênio é o nutriente mais sensível às condições de aeração do solo e em situação de alagamento as reações de nitrogênio são alteradas (SCHOLLES e VARGAS, 2004). O excesso de água no solo reduz a fixação do dinitrogênio e pode ser mais severa durante o florescimento, pois nesse período o processo de fixação biológica do  $N_2$  atinge seu pico máximo, declinando a partir do estágio de formação de vagens (R3), por meio de senescência de nódulos. A diminuição na fixação do  $N_2$  é devido à redução do suprimento de fotoassimilados aos nódulos, que competem com as estruturas reprodutivas (MAHLER et al., 1994)

O objetivo deste trabalho foi o de quantificar os teores dos pigmentos dos cloroplastídeos (clorofilas *a*, *b*, *total* e carotenóides), ureídeos e proteínas em dois genótipos de soja, FT-Abyara e CD 202, durante os períodos de hipoxia e normoxia, no intuito de verificar o grau de tolerância e buscar alternativas para as áreas de várzea subutilizadas com a cultura do arroz no Estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (EMBRAPA) de Pelotas/RS no período de setembro de 2007 a março de 2008.

Foi utilizado como substrato, um solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (EMBRAPA, 2006), com classificação americana de Albaqualf (ESTADOS UNIDOS, 2006), proveniente da camada superficial (0-0,2m) coletado em local anteriormente cultivado com arroz irrigado, de modo a representar as condições reais do solo a ser cultivado com soja em rotação com a cultura do arroz.

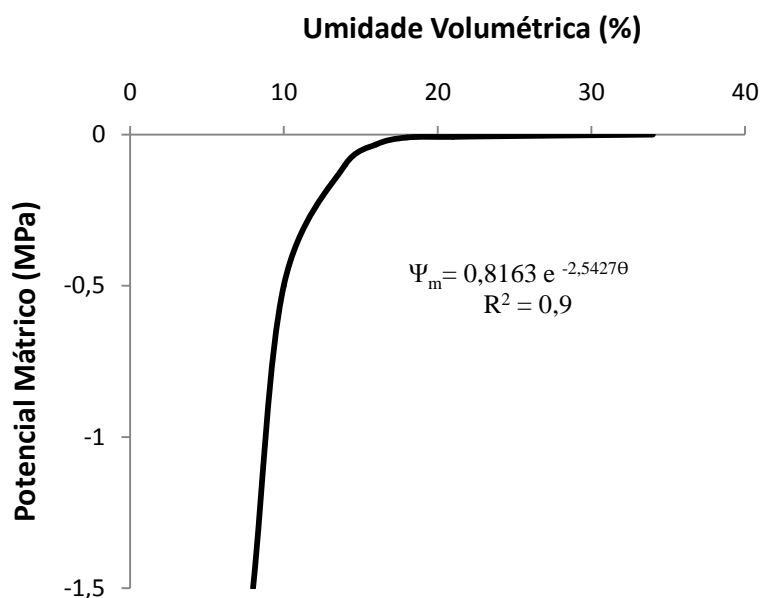
No referido substrato, foi efetuado a correção e fertilização, após análise físico-química (Tabela 1), com adição de 100 mg de P e 40 mg de K por quilograma de substrato, nas formas de superfosfato triplo ou fosfato monocálcico [ $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] e cloreto de potássio (KCl), respectivamente. O pH do substrato foi corrigido para 6,5 a fim de favorecer a simbiose rizóbio-soja, sendo usado 8g de calcário dolomítico C por quilograma de substrato, seguindo as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo (1995) para suprir as deficiências minerais do cultivo da soja.

**Tabela 1.** Análise química de um substrato de solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (Albaqualf), em Pelotas, RS.

ANÁLISE BÁSICA				ANÁLISE AUXILIAR					
Arg <sup>1</sup> (%)	pH <sup>2</sup> -	IND. SMP <sup>3</sup> (%)	M.O <sup>4</sup>	P	K	Na	Al	Ca	Mg
				.....mg L-1.....			.....mmolc dm-3.....		
15	4,4	7,6	1,70	3,5	73	4,9	12	6	5

1. Argila; 2. Potencial Hidrogeniônico em Água; 3. (Índice Shoemaker, MacLean e Pratt, 1962); 4. Matéria Orgânica

O substrato foi seco ao ar em casa-de-vegetação, posteriormente irrigado, colocando-o na capacidade de campo, conforme curva de retenção de água no solo (Figura 1), obtida por meio de extrator de pressão com placa de cerâmica porosa.



**Figura 1** – Curva de retenção de água do substrato solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (Albaqualf) proveniente da camada superficial (0-0,2m) coletado em áreas cultivadas com arroz irrigado no município de Pelotas/RS.

Vasos perfurados e vedados ao fundo, com capacidade de 6L foram preenchidos com o substrato previamente corrigido. Em cada vaso foi colocado à mesma quantidade de solo (6 kg). Esses vasos foram irrigados e deixados em repouso por 30 dias para acomodação do substrato.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial (2 x 5 x 2), constituído de duas cultivares (FT-Abyara e CD 202), cinco tratamentos (0; 2; 4; 6 e 8 dias de inundação), duas épocas de avaliação (estádios V4 e R1) baseado na escala diferencial de desenvolvimento da soja (FEHR e CAVINESS, 1977), com três repetições. A FT-Abyara foi escolhida baseada no desempenho razoável em condições de cultivo em solos alagados (TOMAS et al., 2000 e PIRES et al., 2002), e a inexistência de informações a respeito da cultivar CD 202 em condições de solo alagado, sendo suas características descritas na Tabela 2.



**Tabela 2.** Principais características das cultivares FT-Abyara e CD 202 (1)

Características	Cultivar	
	FT-Abyara	CD 202
Ciclo (dias)	121-130	117-120
Ciclo (classificação)	Semi-precoce	Precoce
Altura de planta (cm)	84	84
Hábito de crescimento	Determinado	Determinado
Massa de 100 semente (g)	14,2	15,6
Fertilidade	Alta	Média/alta
Genealogia	União x Sant`Ana	CEPS 7716 x Invicta

(1) Dados obtidos da Associação dos Produtores de Sementes do Rio Grande do Sul (APASSUL, 2003) e da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODECT, 2005).

Os tratamentos foram aplicados a intervalos regulares de 2 dias até no máximo 8 dias, para garantir a sobrevivência das plantas.

A qualidade fisiológica das sementes das cultivares FT-Abyara e CD 202 (Tabela 3) foi determinada por meio da primeira contagem de germinação (PCG), do teste de Germinação (BRASIL, 1992) e da condutividade elétrica (VIEIRA e CARVALHO, 1994).

**Tabela 3.** Qualidade fisiológica de sementes de soja, cultivares FT-Abyara e CD 202

CULTIVAR	Primeira Contagem %	Teste germinativo %	Condutividade elétrica mS m <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup>	
			3h	24h
FT-Abyara	85,5	93,0	209	730
CD 202	88,6	91,0	199	780

A semeadura foi feita manualmente, colocando em cada vaso sete sementes previamente inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* contendo estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, em meio líquido de marca comercial RhizomaxR. Após emergência das plântulas foi realizado um desbaste, reduzindo o número de plântulas para três, evitando assim, maior competição entre as plantas durante o ciclo de desenvolvimento.

A partir da abscisão dos cotilédones e até o final do experimento, as plantas foram nutridas com solução a meia-força de HOAGLAND e ARNON (1938) sem nitrogênio mineral, duas vezes por semana. O solo foi mantido com potencial

hídrico próximo da capacidade de campo ( $\Psi_w = - 0,03$  MPa) (Figura 1) sendo irrigado quando o substrato possuía 18% de água, determinados por gravimetria.

No estágio V4 (40 dias após emergência-DAE), os vasos foram irrigados com solução nutritiva diluída, de forma a manter uma lâmina de 30 mm, acima do solo, permanecendo durante o período determinado de hipoxia (2; 4; 6; 8 dias de inundação), para tal os orifícios do fundo do vaso foram vedados, evitando a drenagem da solução, havendo para cada dia de alagamento, um tratamento controle.

As amostras foram coletadas ao 0; 2; 4; 6 e 8 dias após inundação (DAI) durante estágio V4. Enquanto, a drenagem dos vasos ocorreu concomitantemente e a avaliação da recuperação do efeito do tratamento foi durante estágio R1, a partir dos 70 DAE nos mesmos tratamentos e intervalos de dias.

A extração dos pigmentos dos cloroplastídeos foi realizada com acetona ( $C_3H_6O$ ) a 80% v/v, na presença de carbonato de cálcio ( $CaCO_3$ ) e magnésio, usando a terceira folha da haste principal, conforme método descrito por ARNON (1949). As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro a 663, 647 e 470 nm e calculados conforme equações de LICHTENTHÄLER (1987), sendo os teores de clorofilas a, b e total (a+b) e de carotenóides expressos em mg do pigmento g<sup>-1</sup> de massa fresca.

Abaixo do nó cotiledonar foi feito o corte do caule, em forma de bisel, no horário compreendido entre 11h e 13h, para coletar o exsudato xilemático, com microcapilares de vidro, a fim de avaliar os teores de ureídeos totais, conforme McCLURE e ISRAEL (1979), posteriormente foram armazenados em banhos de gelo e conservação em freezer. A amostragem para dosagem de ureídeos do exsudato xilemático foi baseada em VOGELS e van der DRIFT (1970). Foram transferidos 250 µL de amostras de seiva ou dos padrões de alantoína (0-150 nmol mL<sup>-1</sup>) para tubos de ensaio, devidamente diluídos, e um branco (água) adicionando-se 0,5mL de água destilada e 0,25mL de hidróxido de sódio 20 g L<sup>-1</sup>. Em seguida, os tubos foram tampados com bolas de vidro e levados ao banho-maria a 100 °C por dez minutos e resfriados em água corrente, acrescentando-se 0,25 mL de ácido clorídrico 23,7g L<sup>-1</sup>, após aquecidos a ebulição por cinco minutos e novamente resfriados foi colocado 0,25mL de tampão fosfato 0,4 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0) e 0,25mL de fenilidrazina 0,33% p/v. Após repouso, aproximadamente quatro minutos, os tubos foram submetidos a

banho de gelo para adição de 1,25mL de ácido clorídrico concentrado e 0,25mL de ferrocianeto de potássio 1,65% p/v com agitação (vórtex). As amostras foram lidas em espectrofotômetro PG- instruments em comprimento de onda de 535nm, sendo os valores expressos em  $\mu\text{mol}$  de ureídeos por  $\text{mm}^3$  de exsudato xilemático.

Os tecidos de raízes foram coletados do terço inferior do sistema radical, lavados e retirando-se o excesso de umidade com papel toalha. As amostras de raízes ( $1,5 \pm 0,03$  g) e nódulos ( $0,5 \pm 0,03$  g) foram conservadas e transportadas em banhos de gelo e armazenadas em freezer.

A extração dos metabólitos de raízes foi realizada conforme o descrito por BIELESKI e TUNER (1966). Os tecidos das raízes foram macerados com nitrogênio líquido e homogeneizados com solução extratora de metanol/clorofórmio/água na proporção 12:5:3, empregando  $10\text{mL g}^{-1}$ , e transferidos para frascos escuros, permanecendo em repouso por 24h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas ( $1000\times g$  por 30min), sendo a fração do sobrenadante recuperada em proveta e para cada 4 mL, acrescentava-se 1,0mL de clorofórmio e 1,5mL de água pura, sendo agitada em seguida e deixada em repouso por 24h para a separação das fases. A fase aquosa (superior) foi coletada e evaporada em banho-maria a  $39^\circ\text{C}$  por aproximadamente 16h para eliminação do resíduo de clorofórmio e concentração das amostras. A fase clorofórmica (inferior) foi descartada. As amostras concentradas tiveram seu volume mensurado e armazenadas em tubos eppendorf à temperatura de aproximadamente  $-18^\circ\text{C}$ . O precipitado foi resuspenso em 10mL de NaOH 0,1 N e homogeneizado em vórtex. Após 24h em repouso, estes extratos foram centrifugados e coletados o sobrenadante contendo a porção protéica (BUENO, 1989).

As proteínas totais foram dosadas, utilizando amostras e padrão soro albumina bovina (BSA) em quantidades variando entre 0 e  $100\mu\text{g}$  num volume de 0,1mL, acrescidos de 5,0mL de reagente de cor (Coomasie Brilliant G 250, 100mg em 50mL de etanol 95% e 100mL de ácido fosfórico 85% p/v ) para nódulos, enquanto para raízes as quantidades do padrão variaram de 0 a  $20\mu\text{g}$  de proteína por 0,1mL, com 1mL de reagente de cor. Após a adição do reagente de cor sobre as amostras e padrões, os tubos foram agitados para posterior leitura das absorbâncias a 595nm, em espectrofotômetro (BRADFORD, 1976). Os resultados foram expressos em mg de proteínas totais por g de massa fresca.

Os dados coletados foram submetidos estatisticamente a análise de variância (teste F). Nos casos de interações significativas entre os fatores foi utilizada a análise de regressão com emprego de polinômios ortogonais (RICHARDS, 1970). Os dados apresentaram distribuição normal do erro e variação homogênea, não necessitando de transformação dos dados. Para análise estatística, foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT (SILVA, 2008) e os cálculos realizados no Microsoft Office Excel 2007.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

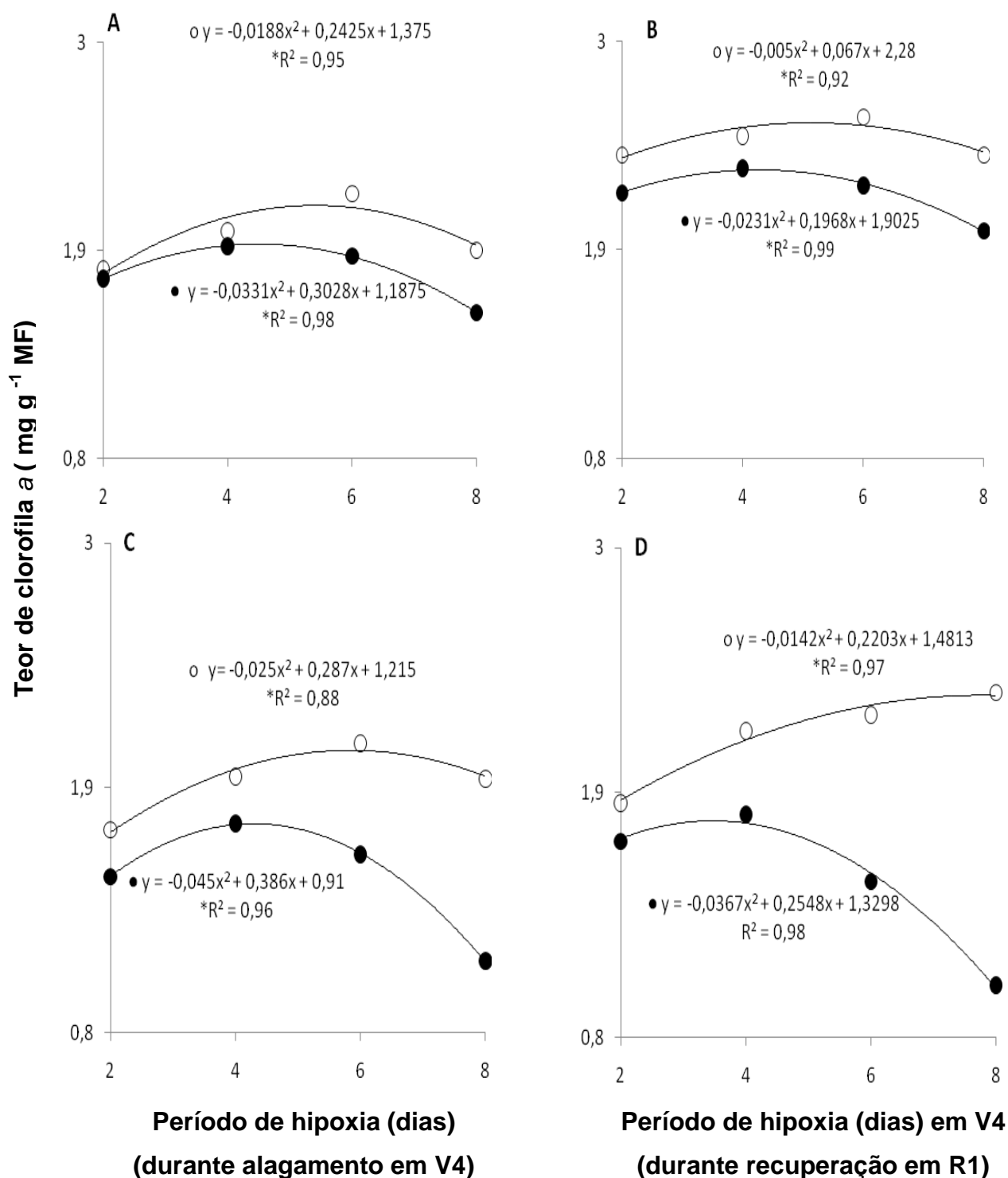
A análise de regressão dos teores de clorofilas para as cultivares FT-Abyara e CD 202 apresentou tendência quadrática com coeficientes de determinação ( $R^2 \geq 0,9$ ) significativos em nível de 5% de probabilidade quando comparada ao período de alagamento ou de recuperação (Figura 2). Os teores de clorofilas *a* foram influenciados pela interação entre o período de alagamento ou de recuperação e pelo genótipo.

Os teores de clorofilas *a* foram reduzidos com o incremento do período de hipoxia para ambas cultivares (Figura 2A e 2C), ocorrido durante o estágio V4 (Figura 1A e 1C), exceto aos quatro dias após a lâmina de inundação. Os valores encontrados foram sempre inferiores aos obtidos pelo tratamento controle ao longo dos dias, mostrando que ambas as cultivares apresentaram redução nos teores de clorofila *a*, mostrando susceptibilidade ao alagamento. A diminuição na produção de energia fotoquímica, em consequência da baixa aeração, seja por encharcamento ou inundação do solo, pode afetar a eficiência fotossintética, em virtude de distúrbios causados na raiz ou diretamente na parte aérea, e dos danos que ocorrem nas estruturas responsáveis pela fase fotoquímica da fotossíntese (ISHIDA, 2002).

É interessante ressaltar que aos quatro dias de alagamento, ambas as cultivares apresentaram teores de clorofila *a*, superiores ao tratamento de dois dias de alagamento.

Os teores de clorofilas *a*, determinados no período de recuperação, ou seja, a partir do estágio R1 das plantas sob hipoxia foram menores do que o das plantas-controle (Figura 2B e 2D) levando a diagnosticar que a recuperação não foi completa em ambas cultivares, porém a cv. FT-Abyara foi menos afetada, apresentando teores de clorofila *a* superiores aos da cv. CD 202 (Figura 2D), levando a destacar

que hipoxia foi mais deletéria para cv. CD 202, no que tange a recuperação da concentração clorofila *a*.



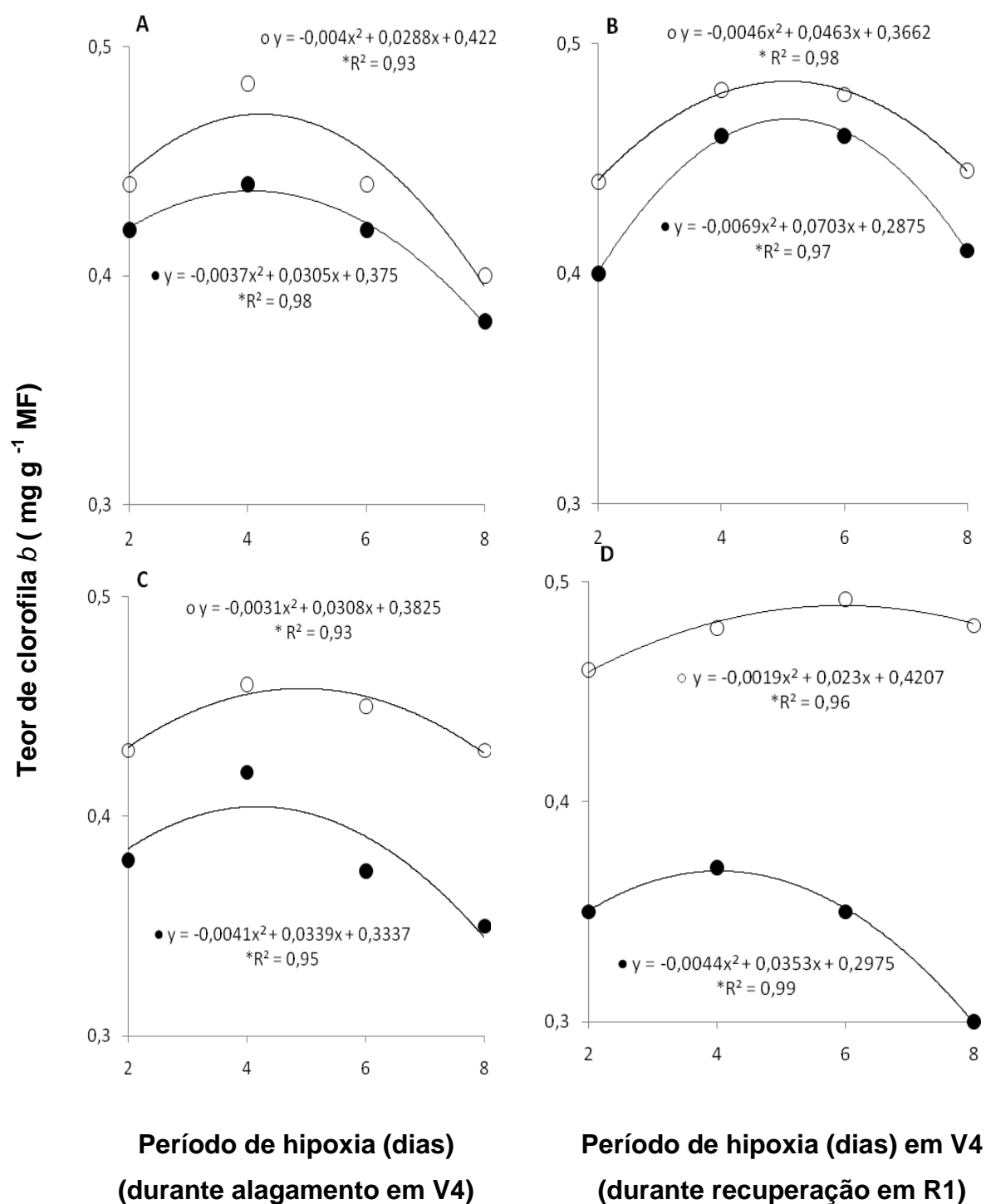
**Figura 2** – Teores de clorofila *a* de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \*significativo a 5% probabilidade.

A clorofila *b* após absorver luz, transfere para a clorofila *a* energia captada do fóton para que faça a conversão. Os teores de clorofila *b* foram influenciados pelo período de alagamento em ambos os genótipos. Também houve redução nos teores de clorofila *b* com o incremento do período de hipoxia para ambas cultivares (Figura 3A e 3C), ocorrido durante o estágio V4, exceto aos quatro dias após inundação, sendo que os valores encontrados de clorofila *b* foram superiores na cultivar FT- Abyara nos respectivos tratamentos, demonstrando um efeito deletério mais significativo na cultivar CD 202. Normalmente estresse que ocorre nas raízes, afeta mais a parte aérea do que propriamente o sistema radical.

Os valores encontrados foram sempre inferiores aos obtidos pelo tratamento controle ao longo dos dias, mostrando que ambas as cultivares apresentaram redução nos teores de clorofila *b*, mostrando a sensibilidade à hipoxia. O tratamento controle também apresentou redução ao longo do estágio de desenvolvimento o que leva a concluir que possa ter ocorrido algum efeito de sombreamento. Isso demonstra que a clorofila *b* tem diminuição na captação de energia de outros comprimentos de onda e possivelmente ineficiência na transferência de energia para a clorofila *a* (Figura 3), visto que a mesma também foi reduzida (SCALON et al., 2003).

No período de recuperação, a cultivar FT-Abyara teve uma adaptabilidade significativamente melhor quando comparada a cultivar CD 202. Os teores de clorofila *b* na cultivar CD 202 foram severamente reduzidos no período de recuperação, semelhantemente ao ocorrido com os teores de clorofila *a* (Figura 2D), confirmando então que a parte aérea responsável pela captação de luz foi reduzida pelo efeito do alagamento. Isso pode ter sido em função da hipoxia, que provocou aumento na disponibilidade de  $Fe^{+2}$  e  $Mn^{+2}$  provocando alterações nas moléculas da clorofila, uma vez que esses nutrientes estão ligados à constituição dos grupamentos heme, que são essenciais em sua constituição. Porém, tais sintomas manifestam-se tardiamente, quando as plantas já estão bastante danificadas (MALAVOLTA, 1997).

A diminuição nos teores de clorofila *a* (Figura 2) e clorofila *b* (Figura 3) em relação ao incremento do período de alagamento foi semelhante em trabalhos conduzidos por CORREA et al. (2008).



**Figura 3** – Teores de clorofila *b* de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alongamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \*significativo a 5% probabilidade.



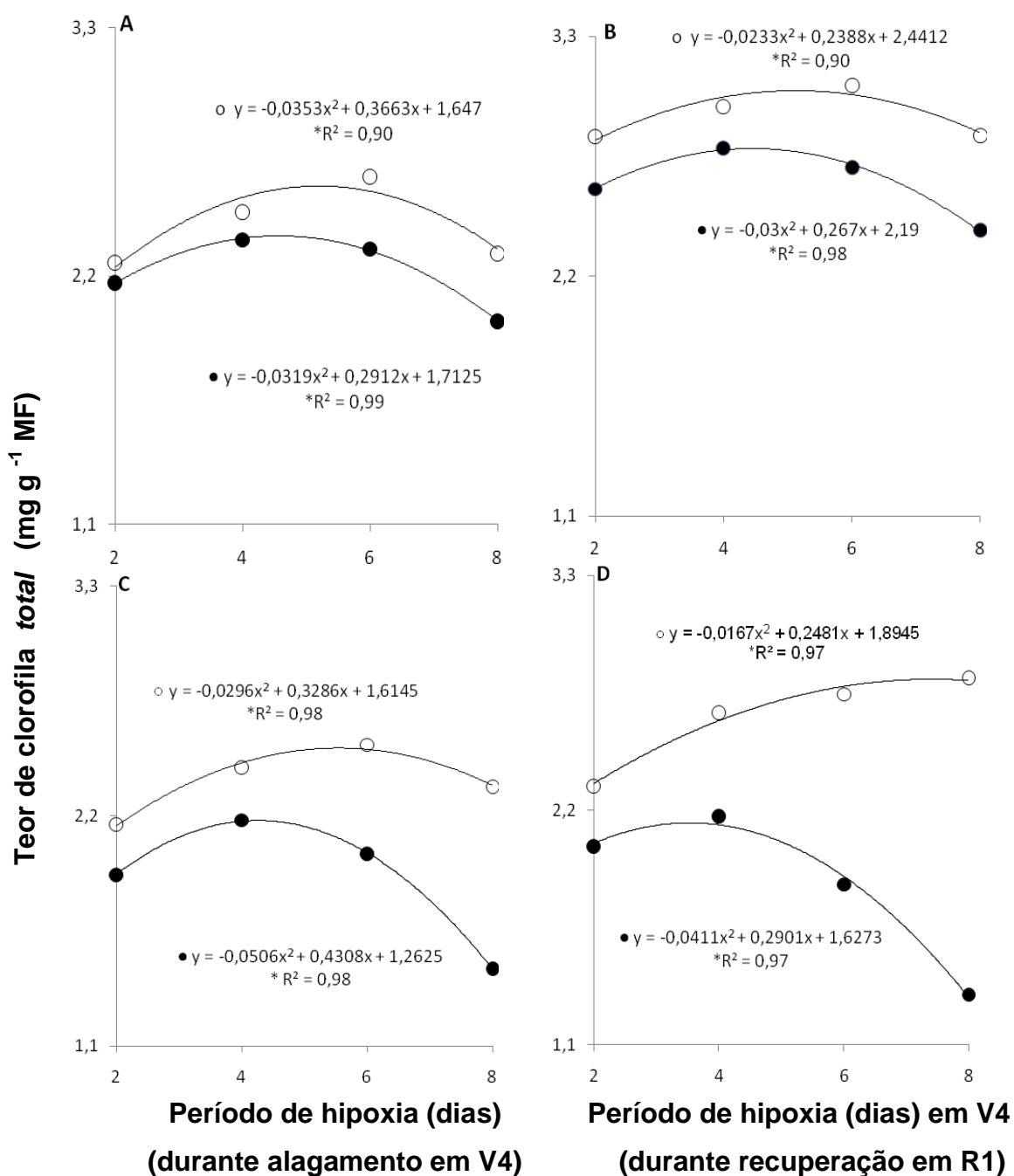
De maneira similar, os teores de clorofila *total* (Figura 4) foram reduzidos significativamente com o período de alagamento, o que era de se esperar, visto a redução nos teores de clorofilas *a* e *b*, sendo o efeito deletério, mais significativo, na cultivar CD 202 (Figura 4C) do que na FT-Abyara (Figura 4A) e ainda inferior ao das plantas-testemunha, em ambas as cultivares (Figuras 4A e 4C). A cultivar FT-Abyara (Figura 4B) teve melhor recuperação quando comparada a cultivar CD 202 (FIGURA 4D), que apresentou queda mais acentuada, nos teores de clorofila total, o que leva a prever certa tolerância ao alagamento da cv. FT-Abyara.

A deficiência de oxigênio no sistema radical da planta de soja, além de inibir a fixação simbiótica, também prejudica a absorção de nitrogênio e outros minerais, afetando negativamente o crescimento das raízes e a nodulação. Conseqüentemente, o transporte de N e de outros íons para a parte aérea pode ser inadequado, resultando em baixa nos teores de clorofila *total* originando plantas raquíticas e cloróticas, devido a baixa eficiência na conversão da radiação luminosa em energia, sob a forma de ATP e NADPH (THOMAS, 2004).

Os teores de clorofila *total* diminuíram com a hipoxia e a clorose observável, mesmo aos 21 dias de alagamento, em pupunheiras (CARVALHO e ISHIDA, 2002). Um solo hipóxico, deficiente em oxigênio, pode se transformar em anóxico, pela respiração dos órgãos submersos das plantas ou pelos microrganismos ali existentes.

Os decréscimos nos teores de clorofilas neste ensaio, estão de acordo com a tendência de redução dos teores de clorofilas *a*, *b* e *total*, obtidos em outras cultivares de soja, onde a diminuição chegou a níveis de aproximadamente 70% com o incremento do alagamento (ROSA et al., 2007).

Os carotenóides são componentes essenciais na antena fotossintética, contribuem na absorção da radiação incidente e na dissipação do excesso de energia absorvida, estando relacionados à proteção celular contra danos fotoxidativos (MITLER, 2002) dentre outras funções.



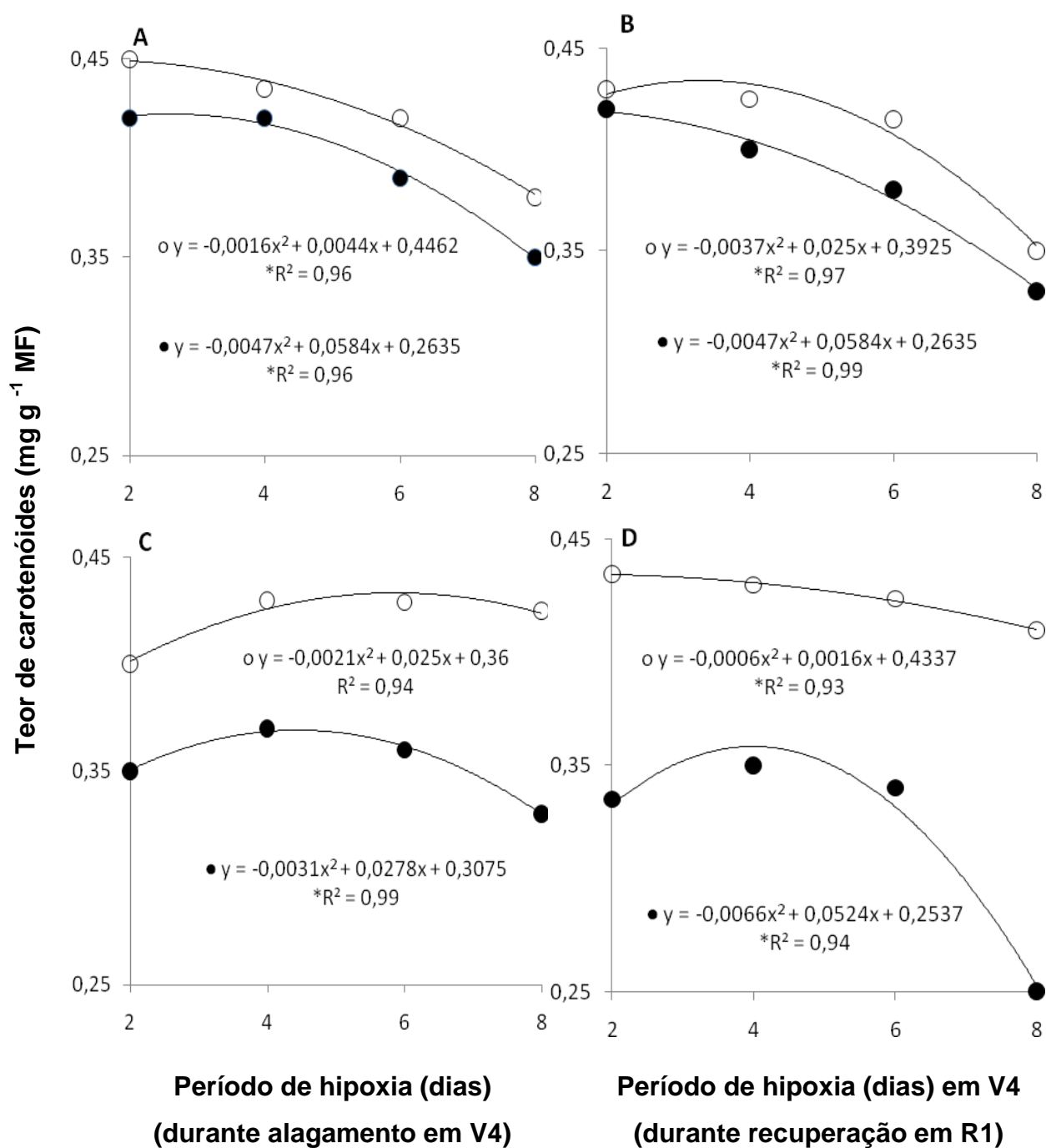
**Figura 4** – Teores de clorofila total de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

Os teores de carotenóides diferiram entre os genótipos estudados havendo decréscimo em relação ao incremento do período de alagamento (Figura 5). As cultivares FT-Abyara (Figura 5A) e CD 202 (Figura 5C) quando submetidas ao período de alagamento, apresentaram diferentes respostas a recuperação, ocasionando redução significativamente maior nos teores de carotenóides na cv. CD 202 (Figura 5D) do que na FT-Abyara (Figura 5B). Comportamento semelhante foi observado também nos teores de clorofilas *a*, *b* e *total* (Figuras 2B, Figura 3B e Figura 4B).

Em genótipos de soja, ocorre redução nos teores de pigmentos dos cloroplastídeos (clorofilas e carotenóides) e redução do acúmulo de matéria seca e produtividade e em períodos mais prolongados de alagamentos, sobrevém a senescência e morte (BARROS, 2004).

A redução nos teores de pigmentos dos cloroplastídeos (Figuras 2, 3, 4 e 5) tanto na duração do alagamento quanto no período de recuperação, estão de acordo com as detectadas em plantas de soja (cvs. BRS 153 e BRS 154), quando submetidas de 3 a 12 dias de inundação com posterior recuperação (BARROS, 2004; CORREA, 2008).

As plantas de soja apresentaram folhas amareladas (cloróticas) nos tratamentos hipóxicos, em ambas as cultivares, no período de recuperação, em virtude da redução no teor de pigmentos fotossintéticos. Consequentemente ocorre diminuição na produção de energia fotoquímica, em razão da baixa aeração, devido a lâmina de água acima do solo, podendo afetar a eficiência fotossintética, em virtude de distúrbios causados na raiz ou diretamente na parte aérea, e dos danos que ocorrem nas estruturas responsáveis pela fase fotoquímica da fotossíntese (ALLEN et al., 1996).



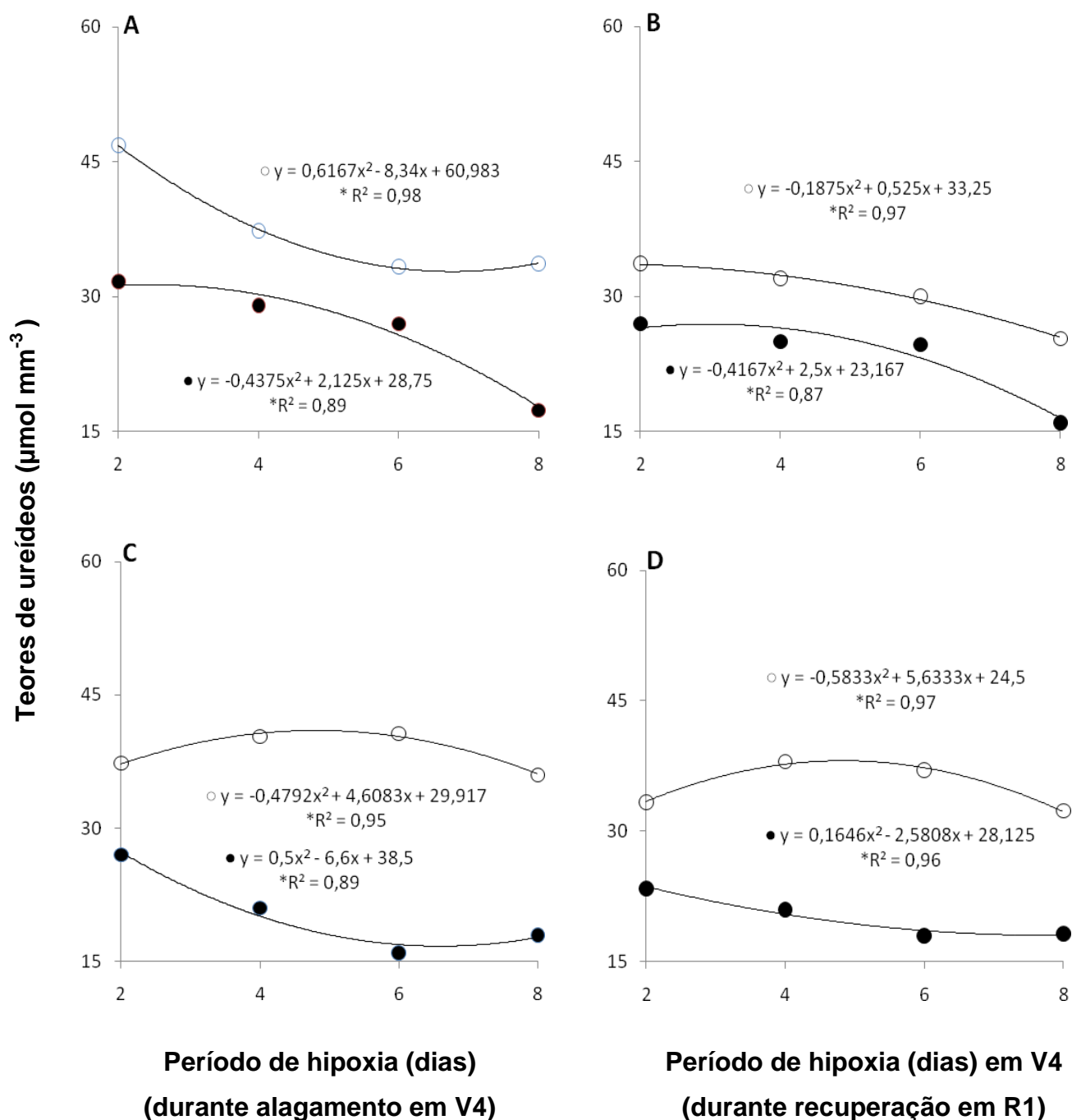
**Figura 5** – Teores de clorofila *total* de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* P ≤ 0,05; n = 3

Em condição de inundação, a eficiência fotossintética diminui em virtude da degradação (HUANG et al., 1994) ou redução na síntese de clorofilas (SENA GOMES e KOZLOWSKI, 1988) devido ao acúmulo de etileno ou redução na síntese de citocininas (ISHIDA et al., 2002).

As condições de baixa disponibilidade de oxigênio, a que as plantas de soja foram submetidas, acarretaram reduções drásticas na produção de pigmentos fotossintéticos, ocorrendo diferença significativa com a situação normal (tratamentos-controle) sendo que a diminuição nos teores de pigmentos fotossintéticos na cultivar CD 202 foi mais acentuada quando comparados aos da FT-Abyara.

Os teores de ureídeos decresceram, em função do incremento da duração da hipoxia, de forma diferenciada, para ambas as cultivares na fase V4 (Figura 6) no exsudato xilemático. A cv. FT-Abyara (Figura 6A) teve reduções de 32,4; 22,5; 19,0 e 48,5%, enquanto a cv. CD 202 (Figura 6C) sofreu diminuições de 27,6; 47,9; 60,6 e 50%, reciprocamente, aos 2; 4; 6 e 8 dias de alagamento do substrato, em relação aos tratamentos-controle. Assim a concentração de ureídeos da cultivar CD 202 foi mais alterada que a da cultivar FT-Abyara no período de alagamento, principalmente aos seis e oito dias de inundação, permitindo inferir que a falta de oxigênio nos nódulos potencializa a restrição quanto a difusão do O<sub>2</sub>.

A avaliação da recuperação, ocorrida durante 30-38 dias após estágio V4, possibilitou melhor adaptação para cv. FT-Abyara (Figura 6B), do que na cultivar CD 202 (Figura 6D), no entanto, sem atingir os níveis de tratamentos-controle. A cv. FT-Abyara recuperou 80,2; 78,12; 82,22 e 63,15%, ao passo que CD 202, as recuperações foram de 70,29; 55,26; 48,65 e 56,28%, respectivamente aos tratamentos no estágio V4, aos 2; 4; 6 e 8 dias de encharcamento do solo.



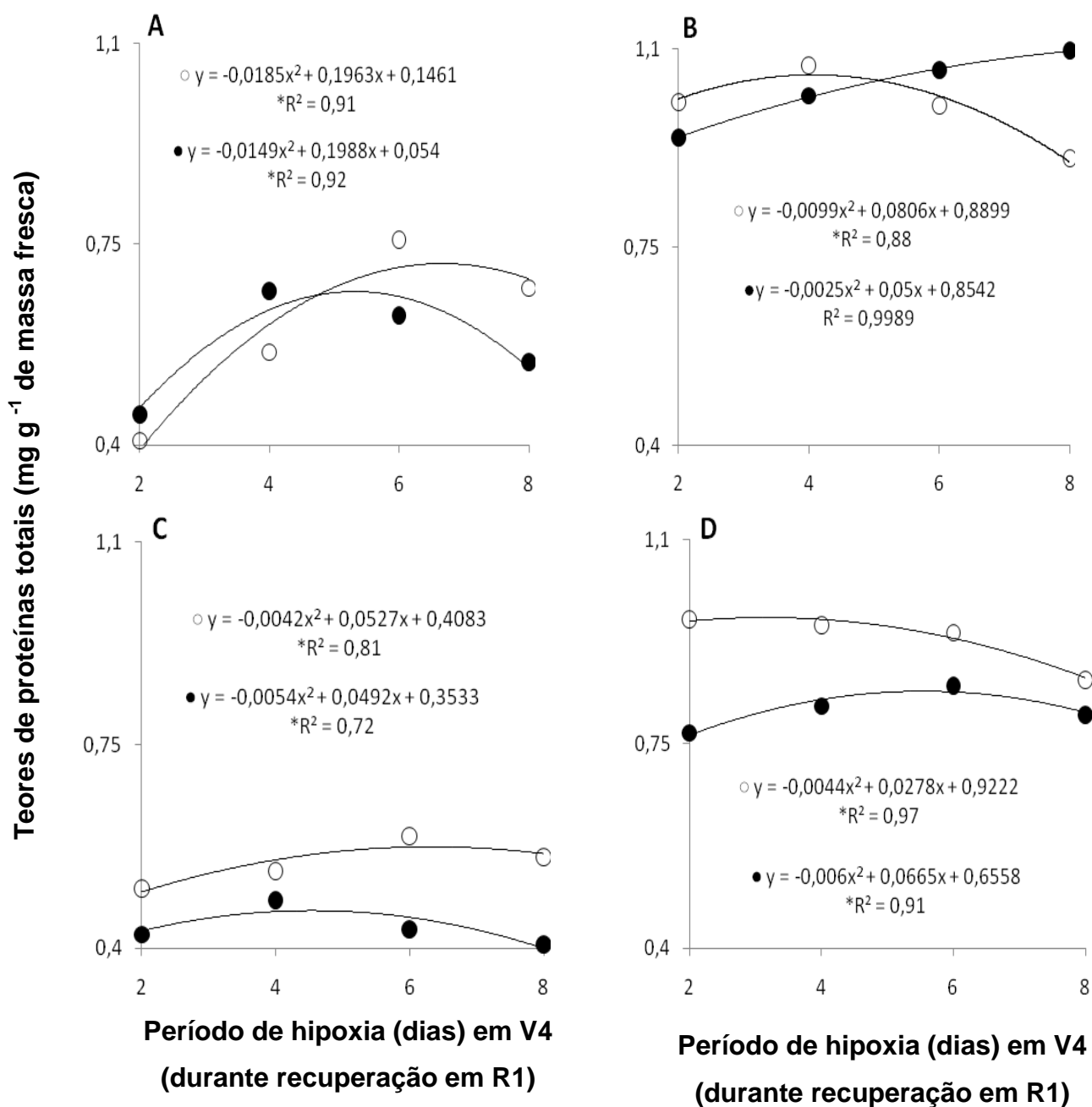
**Figura 6** – Teores de ureídeos totais em exsudato xilemático de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

Os resultados apresentados neste trabalho estão de acordo com os de BARROS (2004) que trabalhando com genótipos de soja, BRS 153, BRS 154 e BRS 205, concluiu que há diminuição nos teores de ureídeos na seiva do xilema, conforme o incremento dos dias de alagamento, ou seja, 1; 3; 5 e 7 dias de encharcamento do solo, na fase hipóxica e quando do período de recuperação, as concentrações de ureídeos, não retornam a níveis de plantas-controle.

Em plantas inoculadas de soja, os ureídeos são as principais fontes de nitrogênio (McLURE e ISRAEL, 1979), porém necessitam, inicialmente, serem metabolizados para posterior utilização pela planta. Apesar dos ureídeos não exercerem um papel direto na nutrição nitrogenada do grão da soja (RAINBIRD et al. 1984), foi demonstrado que o nitrogênio, oriundo da fixação biológica é direcionado preferencialmente para o crescimento de órgãos reprodutivos da soja, após a floração (OHYAMA, 1983; YONEYAMA e ISHIZUKA, 1982).

As concentrações de proteínas tiveram maior acúmulo nas raízes das plantas da cultivar FT-Abyara (Figura 7A) até os quatro dias de inundação. Aos seis dias de ambiente hipóxico, os teores de proteínas decaíram a valores abaixo do controle, o que pode ser devido a algum mecanismo adaptativo, ao contrário da cultivar CD 202 (Figura 7C) que os valores de proteínas foram menores que os encontrados pelos tratamentos-controle, apresentando leve incremento aos quatro dias de inundação, mas depois diminuíram para valores aquém dos encontrados nas plantas-controle. Os valores foram incrementados em 11,27 e 18,86%, respectivamente, aos dois e quatro dias de inundação (Figura 7A). Já aos seis e oito dias de inundação houve, respectivamente, decréscimos de 17,37 e 19,09% nos teores de proteínas totais. A cultivar CD 202 apresentou reduções de 15,89; 9,38; 26,97 e 26,95% nos teores protéicos, respectivamente, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, demonstrando a ação danosa do alagamento.

No que concerne ao período de recuperação, as duas cultivares apresentaram tendência semelhante na redução dos teores de proteínas totais. A partir dos seis dias houve incremento nos teores de proteínas para a cultivar FT-Abyara (Figura 7B) com valores acima do controle. Houve recuperações de 93,9 e 95,0 e acréscimos de 120,1 e 147,8% respectivamente aos 2, 4, 6 e 8 dias (inundados em V4 e determinados em R1).



**Figura 7** – Teores de proteínas totais em raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).



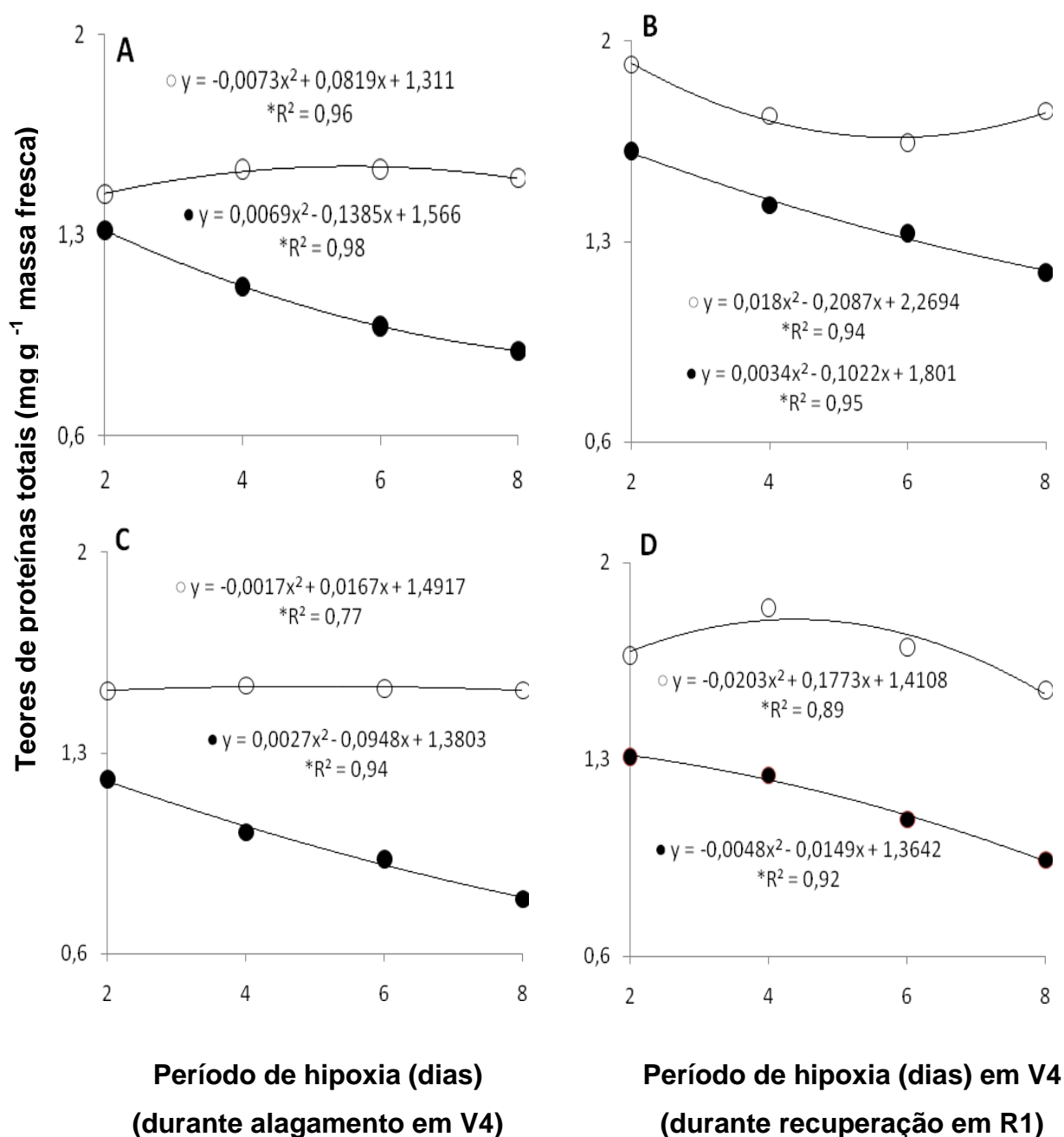
Também em condições alagadiças, ocorre aumento expressivo nas concentrações de proteínas e na recuperação, a concentração de proteínas se acréscimo de 4,8 e 20,9% (aos 6 e 8 dias inundados em V4 e medidos em R1). Enquanto, a cultivar CD 202 (Figura 7D) apresentou recuperações de 79,8; 85,5; 90,5 e 93,1% nos teores protéicos, reciprocamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação em V4 e avaliados em R1.

As tendências encontradas nos teores de proteínas totais, neste ensaio, estão de acordo com os de BARRETO et al. (2008), em que a cultivar de sorgo AG2005E alagada apresenta maiores acúmulos de proteínas livres durante todo o período de alagamento das plantas, portanto os aminoácidos degradados são utilizados em maior grau para síntese de proteínas. Também MARQUES e JOLY (2000) avaliando a adaptação de quatro espécies forrageiras em resposta ao estresse anóxico, confirma que o crescimento durante o déficit de oxigênio e a sobrevivência após o estresse estão associados aos incrementos durante a hipoxia, utilizando-os para a recuperação, quando da remoção do estresse hipóxico.

Em nódulos, os teores de proteínas totais foram reduzidos com o aumento no período de alagamento, para ambos os genótipos (Figura 8). A cultivar FT-Abyara (Figura 8A) apresentou reduções de 8,7; 26,7; 35,7 e 40,2%, ao passo que, CD 202 (Figura 8C) teve reduções de 15,1; 18,0; 19,2 e 32,0% em relação aos tratamentos-controle, respectivamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação.

Após período de drenagem, durante estágio R1, houve também decréscimo nos teores de proteínas totais, não atingindo os níveis dos tratamentos-controle, recuperando apenas 79,7; 66,7; 61 e 52% para cultivar FT-Abyara (Figura 8B) e 78,4; 67,5; 63,9 e 60,9% para cv. CD 202 (Figura 8D), reciprocamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, realizados em V4 e verificados em R1.

A tendência de diminuição nos teores de proteína totais conforme o incremento na duração do período de hipoxia também foi observado por BADINELLI (2008) nas cultivares BRS 153 e BRS 154, sendo que na recuperação, os teores protéicos atingiram os níveis dos controles, em amostras de nódulos.



**Figura 8** – Teores de proteínas totais em nódulos de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

## CONCLUSÕES

As concentrações dos pigmentos dos cloroplastídeos das plantas de soja sob hipoxia são inferiores aos das plantas controle, tanto no período de alagamento quanto no de recuperação, sendo reduzidos conforme o incremento dos dias de alagamentos. Não houve recuperação completa nos teores de clorofilas *a*, *b* e *total* e carotenóides com a remoção da hipoxia em ambas cultivares. A fixação do dinitrogênio é reduzida na seiva xilemática e os teores de proteínas totais aumentam pelo efeito da hipoxia, nas raízes e diminuem em nódulos. A cultivar FT-Abyara tem menor susceptibilidade a hipoxia do que a cv. CD 202.

## **CAPÍTULO 2**

# **RESISTÊNCIA ESTOMÁTICA E TRANSPIRAÇÃO EM CULTIVARES DE SOJA [*Glycine max* (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA**

## **INTRODUÇÃO**

Em regiões de solos hidromórficos, também conhecidos como solos de várzea, onde a drenagem é deficiente, a baixa disponibilidade de oxigênio é freqüente, sendo muito utilizados para cultura de arroz. A diversificação ou incorporação de novas culturas às áreas de várzea (solos hidromórficos), geralmente destinadas à produção de arroz irrigado, é uma forma de aumentar a eficiência do sistema produtivo.

Condições temporárias de encharcamento são de ampla distribuição nas mais variadas partes do mundo, devido a irregularidades na distribuição da precipitação pluvial, mau controle da água, drenagem ineficiente, preparo inadequado do solo, que podem gerar uma condição de anaerobiose que, mesmo por curtos períodos de tempo, podem acarretar conseqüências danosas às plantas (SCOTT e NORMAN, 2000).

Um dos primeiros sintomas do alagamento em plantas não-tolerantes ao ambiente anóxico nas raízes é o fechamento estomático (KOZLOWSKI e

PALLARDY, 2002). Ainda, o alagamento induz significativa redução na condutância estomática, tendendo a acentuar-se com o tempo de tratamento, não levando, porém, a um fechamento completo dos estômatos, mesmo no período da tarde, o qual ocorre normalmente maior demanda evapotranspiratória (MATSUI e TSUCHIYA, 2006).

Em geral, sob efeito do alagamento, ocorre a diminuição da absorção de água, tanto pela redução do comprimento e superfície total das raízes, como em consequência da sua morte, ou ainda, pelo aumento da resistência ao fluxo de água (PRYOR, 2006). Estes fenômenos produzem o emurchamento das folhas, caso não possuam bom controle estomático e baixa transpiração cuticular.

Além de adaptações morfo-anatômicas (ALAOUI-SOSSÉ et al., 2005), podem ocorrer algumas alterações nas taxas de transpiração, de fotossíntese e na condutância estomática, decorrentes de ajustes bioquímicos e metabólicos, provocados pela inundação.

O objetivo deste trabalho foi o de determinar a resistência estomática e a transpiração de dois genótipos de soja, FT-Abyara e CD 202, durante diferentes períodos de inundação e de recuperação com a intenção de avaliar o grau de tolerância a hipoxia e buscar alternativas para as áreas de várzeas subutilizadas com a cultura do arroz no estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento e as análises foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (EMBRAPA) de Pelotas/RS no período de setembro de 2007 a março de 2008.

O substrato utilizado foi um solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (EMBRAPA, 2006). No referido substrato, foi efetuada a correção e fertilização, após análise físico-química (Tabela 1, Cap.1). Posteriormente o substrato foi seco ao ar em casa-de-vegetação, irrigado, de modo a colocá-lo na capacidade de campo, conforme curva de retenção de água no solo (Figura 1, Cap.1).

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial (2 x 5 x 2), constituído de duas cultivares, cinco tratamentos (0; 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia), duas épocas de avaliação (estádios V4 e R1), baseado na escala diferencial de desenvolvimento da soja (FEHR e CAVINESS, 1977), com três repetições.

As cultivares escolhidas foram FT-Abyara e CD 202 (Tabela 2, Cap.1). Foi determinada a qualidade fisiológica das sementes das cultivares FT-Abyara e CD 202 (Tabela 3, cap.1) e posteriormente realizada a semeadura manualmente, colocando em cada vaso sete sementes previamente inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* contendo estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, na fase líquida, de marca comercial RhizomaxR. Após emergência das plântulas, foi realizado um desbaste, reduzindo o número de plântulas para três, evitando assim, maior competição entre as plantas durante o ciclo de desenvolvimento.

A partir da abscisão dos cotilédones e até o final do experimento, as plantas foram nutridas com solução meia força de HOAGLAND e ARNON (1938) sem

nitrogênio mineral, duas vezes por semana. O solo foi mantido com potencial hídrico próximo da capacidade de campo ( $\Psi_w = -0,03$  MPa), sendo irrigado quando o substrato possuía 18% de água, determinados por gravimetria.

No estágio V4, 40 dias após emergência (DAE), os vasos foram irrigados com solução nutritiva, de forma a manter uma lâmina de 30 mm, acima do solo, permanecendo durante o período determinado de hipoxia (2; 4; 6; 8 dias de inundação), para tal os orifícios do fundo do vaso foram vedados, evitando a drenagem do substrato, onde para cada dia de alagamento havia um tratamento controle.

Avaliações da resistência estomática e de transpiração foram efetuadas nas folhas de soja nos tratamentos 0; 2; 4; 6 e 8 dias após inundação (DAI). A drenagem dos vasos ocorreu concomitantemente e a avaliação da recuperação do efeito do tratamento foi realizada durante estágio R1 (a partir dos 70 DAE), nos mesmos tratamentos e intervalos de dias.

A resistência estomática e transpiração foram medidas utilizando um porômetro de equilíbrio dinâmico marca LICOR, modelo LI-1600, determinando a resistência estomática foliar de forma direta. Foram realizadas duas determinações diariamente na face abaxial das folhas. Com a finalidade de representar adequadamente as avaliações, três folhas (3ª, 4ª, e 5ª do centro) na época de cada medição, completamente expandidas, na face abaxial no período da manhã (10h às 13h) e da tarde (15h às 18h) em cada tratamento de inundação e no controle diário, na altura mediana das plantas. Foram efetuadas seis medições, sendo desconsiderados os pontos extremos e calculada a média das leituras por repetição. Os resultados de resistência estomática foram expressos em  $s\ cm^{-1}$  e os de transpiração em  $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ .

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (teste F). Os efeitos estatisticamente significativos pelo teste F foram submetidos à análise de regressão com emprego de polinômios ortogonais (RICHARDS, 1970). Os dados apresentaram distribuição normal do erro e variação homogênea, não necessitando de transformação dos dados. Para análise estatística, foi usado o programa estatístico ASSISTAT (SILVA, 2008) e os cálculos realizados no Microsoft Office Excel 2007.

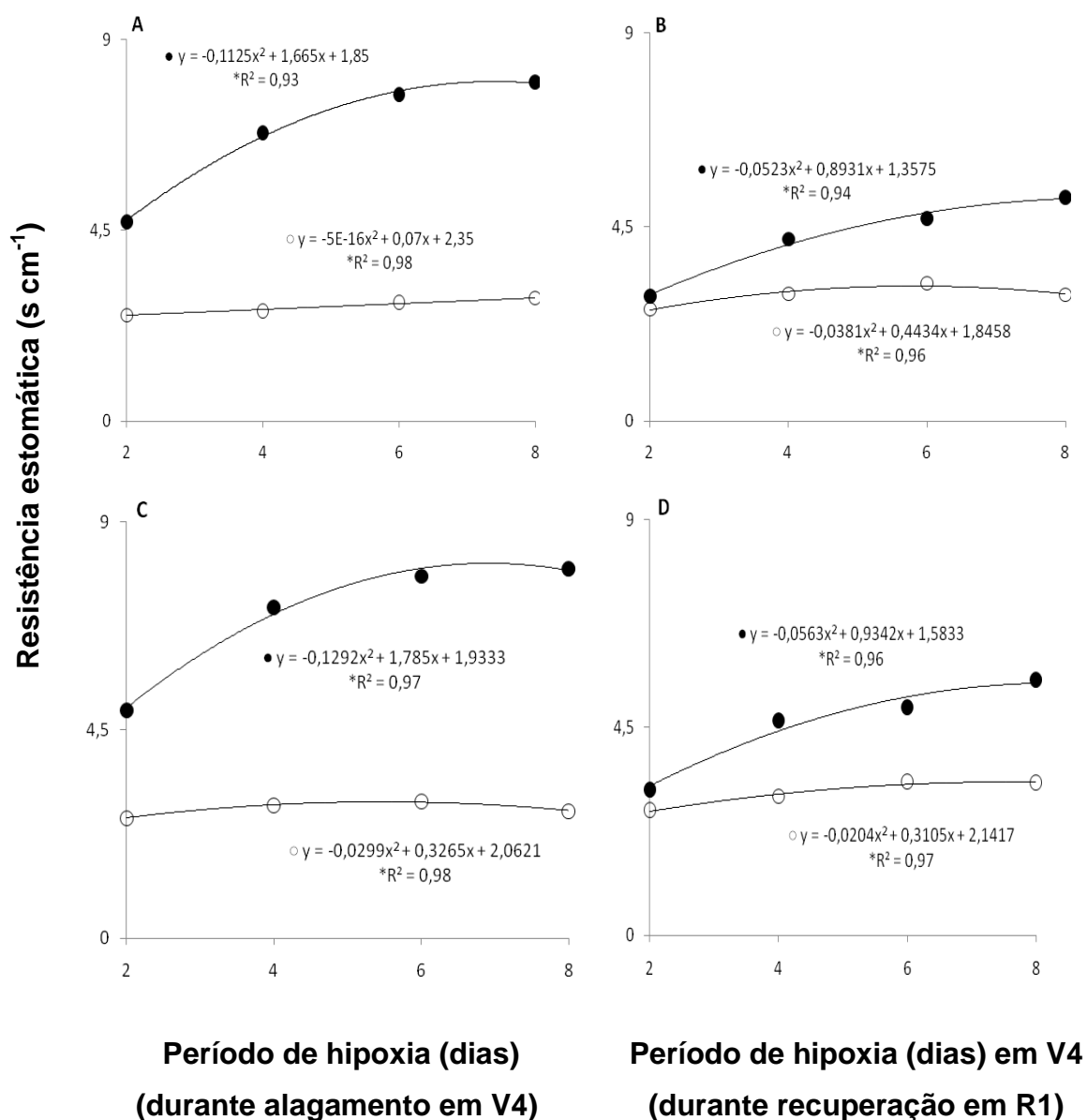




## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resistência estomática manteve-se praticamente uniforme com o passar dos dias, aferindo a um metabolismo normal, nas plantas controle com ausência de estresse. Entretanto a resistência estomática aumentou com o período de alagamento para as cultivares FT-Abyara (Figura 1A e 1C) e CD 202 (Figura 2A e 2C) no turno matutino, com coeficientes de determinações significativos em nível de 5% de probabilidade. Os valores de resistência estomática variaram de 4,7 a 8,0 s cm<sup>-1</sup> nos tratamentos alagados, ao passo que a média do controle variou de 2,5 a 2,7 s cm<sup>-1</sup>, no turno da manhã para a cultivar FT-Abyara. Os acréscimos chegaram a 88,0; 161,5; 175 e 175,8% em relação a seus respectivos tratamentos-controle (2; 4; 6 e 8 dias de inundação), para a cultivar FT-Abyara. No período vespertino os acréscimos chegaram a 89,7; 149,13; 164,8 e 190,2%, respectivamente, conforme aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, em relação aos tratamentos-controle.

Houve recuperação ao estresse submetido, para a cultivar FT-Abyara, no estágio R1, tanto na medição feita à tarde, quanto na manhã, de forma que, comparado a um controle de resistência estomática com oscilação de 2,6 a 3,3 s cm<sup>-1</sup>. No período diurno, os valores de acréscimos na resistência estomática na manhã foram de 11,2; 43,3; 47,2 e 77,3% conforme, respectivamente, ao incremento dos dias de alagamento (2; 4; 6 e 8 dias), inferiores ao período de alagamento. Ao passo que na leitura realizada à tarde, os valores oscilaram para 16,6; 55,0; 48,30 e 67,7% conforme o respectivo dia de incremento no alagamento.



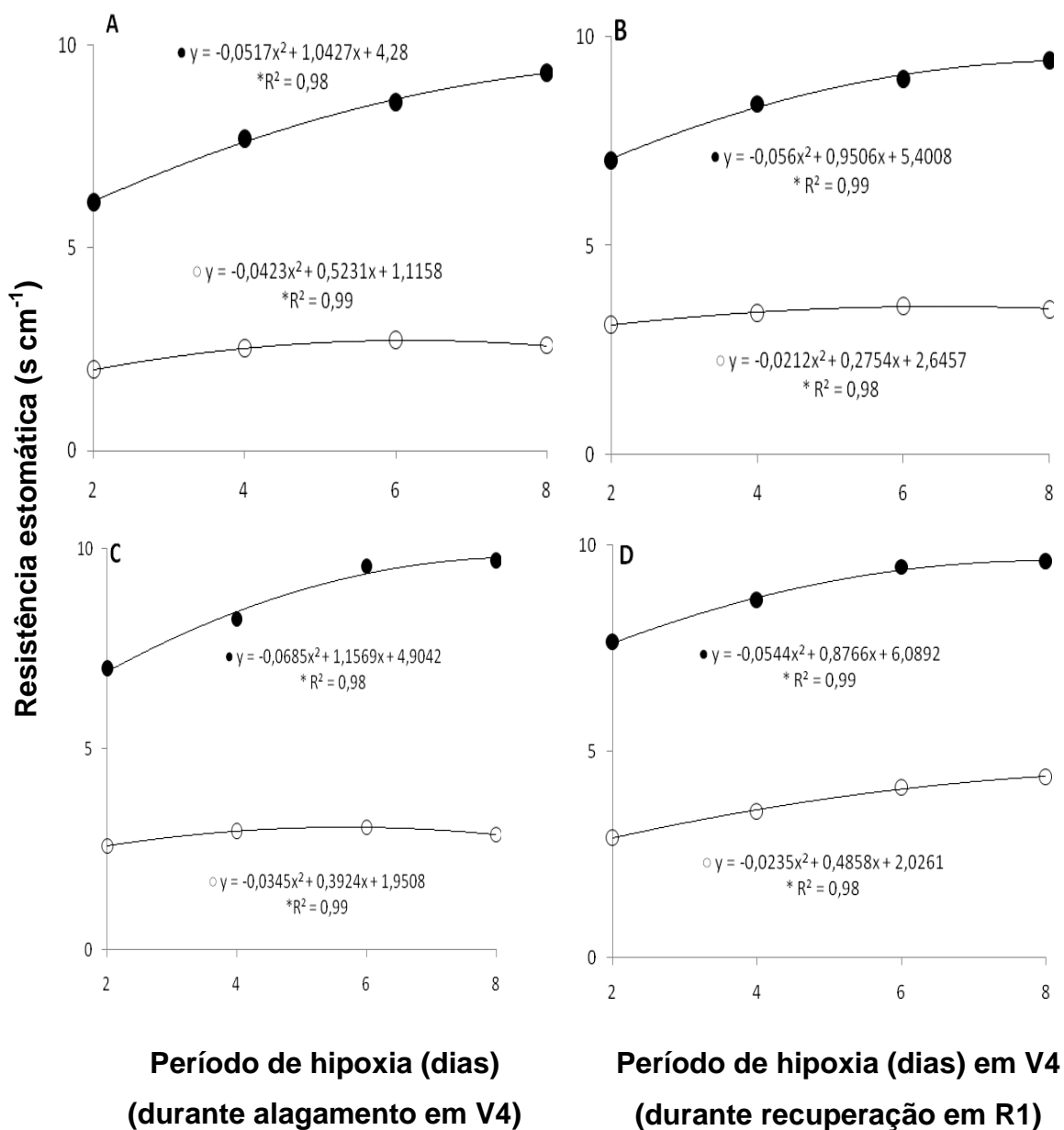
**Figura 1** – Resistência estomática de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar FT-Abyara em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo os tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

A tendência de resultados aqui apresentados estão de acordo com os encontrados por *Triticum aestivum* (HUAGAND et al., 1994a,b), em que os estômatos se mostram sensíveis à hipoxia na primeira semana. Respostas distintas da resistência estomática ao alagamento também foram verificadas entre gramíneas tropicais (BARUCH, 1994b).

Variações na resistência estomáticas, observadas ao longo do período diurno, podem ser explicadas por uma série de fatores, entre eles, à sensibilidade à densidade do fluxo radiante, que segundo TURNER (1974), a condição de estresse, influencia a ação estomática, em função do déficit de pressão de vapor d'água, que atua como indicador do equilíbrio térmico entre a planta e o meio, além de ritmos endógenos em função da diminuição da água no solo. Como resultados, as medições de resistência estomática, em geral, apresentam variabilidade acentuada.

A cultivar CD 202 (Figuras 2A e 2C) apresentou valores de resistência estomática superiores aos apresentados pela cultivar FT-Abyara (Figura 1A e 1C), nos dois horários avaliados, em relação aos períodos de alagamento. Os acréscimos obtidos foram de 207,7; 204,3; 214,6 e 260,1% em relação aos tratamentos-controle das plantas em ausência de estresse por alagamento. No período vespertino os acréscimos chegaram a 169,8; 177,67; 212,7 e 237,1%, respectivamente, conforme, 2; 4; 6 e 8 dias de alagamento. A variabilidade na resistência estomática para esta cultivar submetida ao alagamento foi de 6,1 a 9,7 s mm<sup>-1</sup> em detrimento aos tratamentos-controle que foram de 2,6 a 2,9 s cm<sup>-1</sup>. Estes resultados levam a inferir que os danos causados pelo suprimento de oxigênio nas raízes foi mais deletério para a cultivar CD 202 (Figura 2A e 2C), no período vegetativo V4.

No que tange ao início do período de florescimento, época em que foi avaliada a recuperação, a resistência estomática da cultivar CD 202 (Figuras 2B e 2D) variou durante o dia, para os tratamentos-controle, de 3,1 a 4,4 s cm<sup>-1</sup>. No horário da manhã os valores encontrados apresentaram aumentos de 125,8; 148,3; 152,6 e 171,2%, conforme o respectivo incremento dos dias de alagamento (2; 4; 6 e 8 dias) em V4, em relação aos tratamentos-controle, mantido, somente, na capacidade de campo. No horário da tarde os valores ocorridos foram semelhantes, alguns menores, na ordem de 162,2; 143,7; 128,8 e 118,5%, conforme incremento dos dias de alagamento (2; 4; 6 e 8).



**Figura 2** – Resistência estomática de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar CD 202, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

Ressaltam-se também maiores valores de resistência estomática obtido nos tratamentos-controle neste horário. Portanto, houve aumento da resistência estomática, principalmente no período de manhã à tarde, sendo estabelecidas relações entre o mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos com diversos fatores exógenos (radiação solar, umidade relativa e temperatura do ar) e endógenos que atuam na própria planta, estando de acordo como descrito por SIEBENEICHLER et al. (1998).

O aumento da resistência estomática determina uma redução da taxa de perda de vapor d'água e representa uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido foliar, em períodos do dia onde a demanda atmosférica é maior que o fluxo de água na folha, entretanto, em períodos prolongados, pode afetar o balanço de calor sensível do vegetal e ainda a absorção do CO<sub>2</sub>, repercutindo na diminuição da fotossíntese (RIBAS et al., 2000).

Possivelmente os efeitos do emurchamento verificados nas folhas da cultivar CD 202 de soja entre os estádios V4 e R1, comprovaram o efeito negativo do alagamento, alterando a resistência estomática, esse efeito, nas folhas do topo do dossel, não foi tão acentuados quanto nas folhas inferiores.

O estresse anóxico a que foi submetido às cultivares de soja possibilitou o fechamento dos estômatos, aumentando a resistência estomática, afetando diretamente a etapa difusiva do processo fotossintético, além de outras alterações implicadas no processo de redução do CO<sub>2</sub>, o que concorda com trabalhos de ROMERO et al. (2003).

Os resultados também estão de acordo com BATISTA et al. (2008), onde o alagamento provocou aumento na resistência estomática aos 2; 5 e 15 dias de inundação em *Cecropia pachystachya* Trec. Também, em plantas de milho BRS-4154, submetidas ao alagamento do solo, apresentam efeito negativo nas características biofísicas de resistência estomática e transpiração (ROMERO et al., 2003).

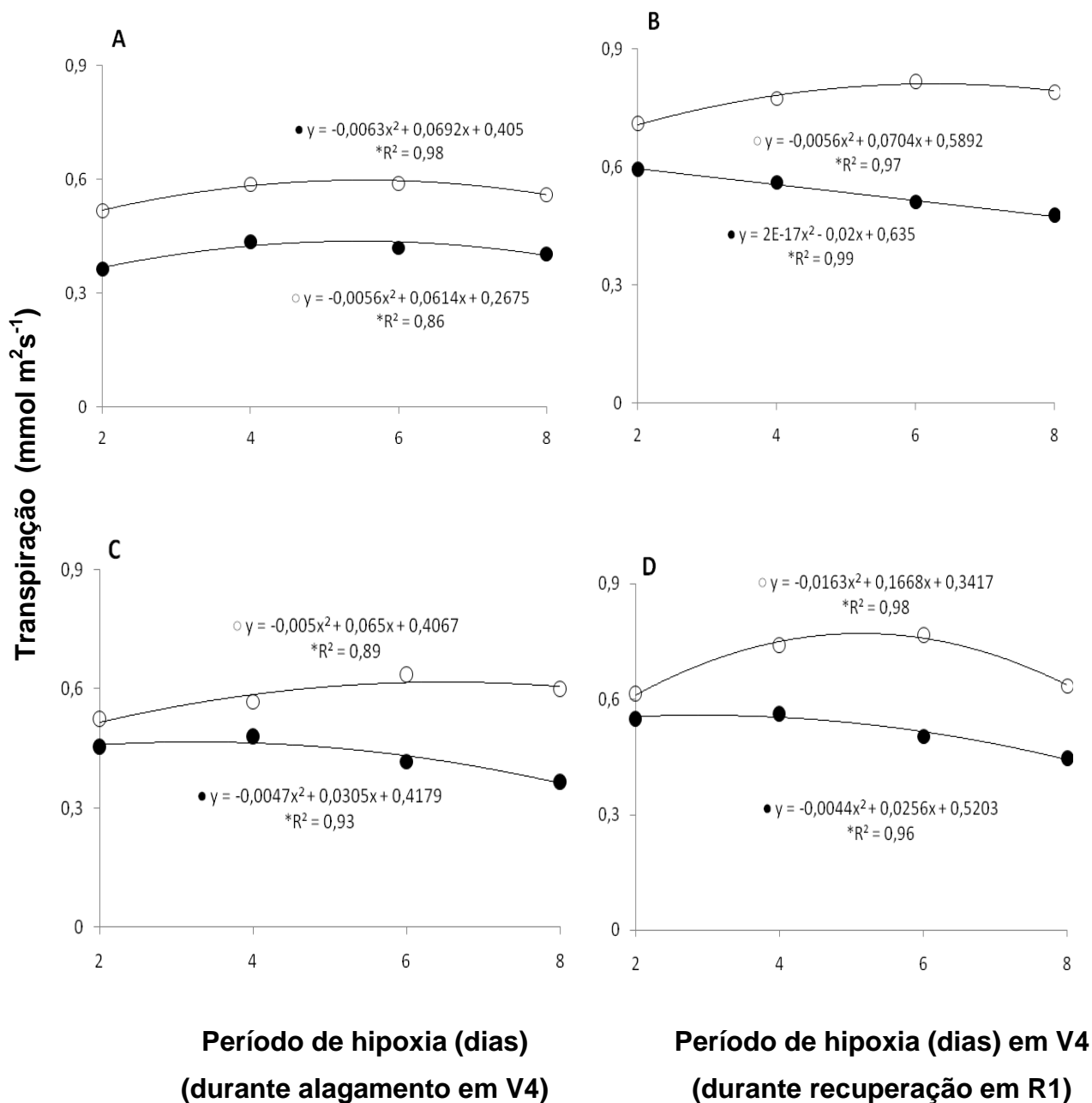
Apesar da interação de diversos fatores que atuam sobre os estômatos e, conseqüentemente, sobre a resistência estomática, fica evidente o efeito do estresse por alagamento sobre esse parâmetro, observando que o mesmo pode ser utilizado como indicador na avaliação de estresses.

É importante relatar que, assim como, na resistência estomática (Figuras 1 e 2), os teores de clorofilas *a*, *b*, *total* e carotenóides (Figuras 2; 3; 4 e 5; cap. 1) também foram afetados, tanto na cultivar FT-Abyara quanto na cultivar CD 202, mostrando a sensibilidade ao alagamento das duas cultivares. Ressalta-se que os efeitos danosos nos teores comentados, até então apresentados, foram mais significantes na cultivar CD 202 do que na FT-Abyara, o que demonstra uma relativa tolerância ao alagamento da cv. FT-Abyara.

Medidas fisiológicas como resistência estomática (Figuras 1 e 2), transpiração (Figuras 3 e 4) podem ser utilizadas para caracterizar o estado de estresse da planta, conforme relatos nos trabalhos de BERGONCI et al., 2000; RIBAS et al., 2000.

Houve decréscimo da transpiração com o período de alagamento para ambas as cultivares (Figuras 3 e 4), no horário da manhã e da tarde.

As taxas transpiratórias para cultivar FT-Abyara (Figura 3) sob hipoxia foram menores que os obtidos pelas plantas testemunhas, sendo esta diferença acentuada com o período de alagamento. No horário da manhã (Figura 3A), os valores de transpiração diminuíram para 29,7; 25,5; 28,81 e 28,0%, conforme o respectivo incremento da hipoxia, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, em relação aos tratamentos-controle, com médias de transpiração de 0,51 a 0,56 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. No horário da tarde (Figura 3C), a transpiração média para os tratamentos-controle foram de 0,52 a 0,60 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> com reduções de 13,1; 15,3; 34,6 e 38,9%, em relação aos mesmos respectivos incrementos de dias de alagamento, quando comparados aos tratamentos-controle.



**Figura 3** – Transpiração de folhas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] da cultivar FT-Abyara, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

No período de florescimento, época em que os vasos já estavam sob drenagem, momento em que foi avaliada a recuperação, a cultivar FT-Abyara (Figura 3B) apresentou, no horário da manhã, transpiração média  $0,71$  a  $0,79$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com reduções para valores de 16,4; 27,6; 37,6 e 39,7% conforme o respectivo incremento da hipoxia, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, em relação aos tratamentos-controle. Ao passo que no horário da tarde (Figura 3D) os valores se alteram para 10,3; 23,9; 34,4 e 29,6% em relação os mesmos respectivos incrementos de dias de alagamento cuja transpiração média dos tratamentos-controle foram de  $0,61$  a  $0,63$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

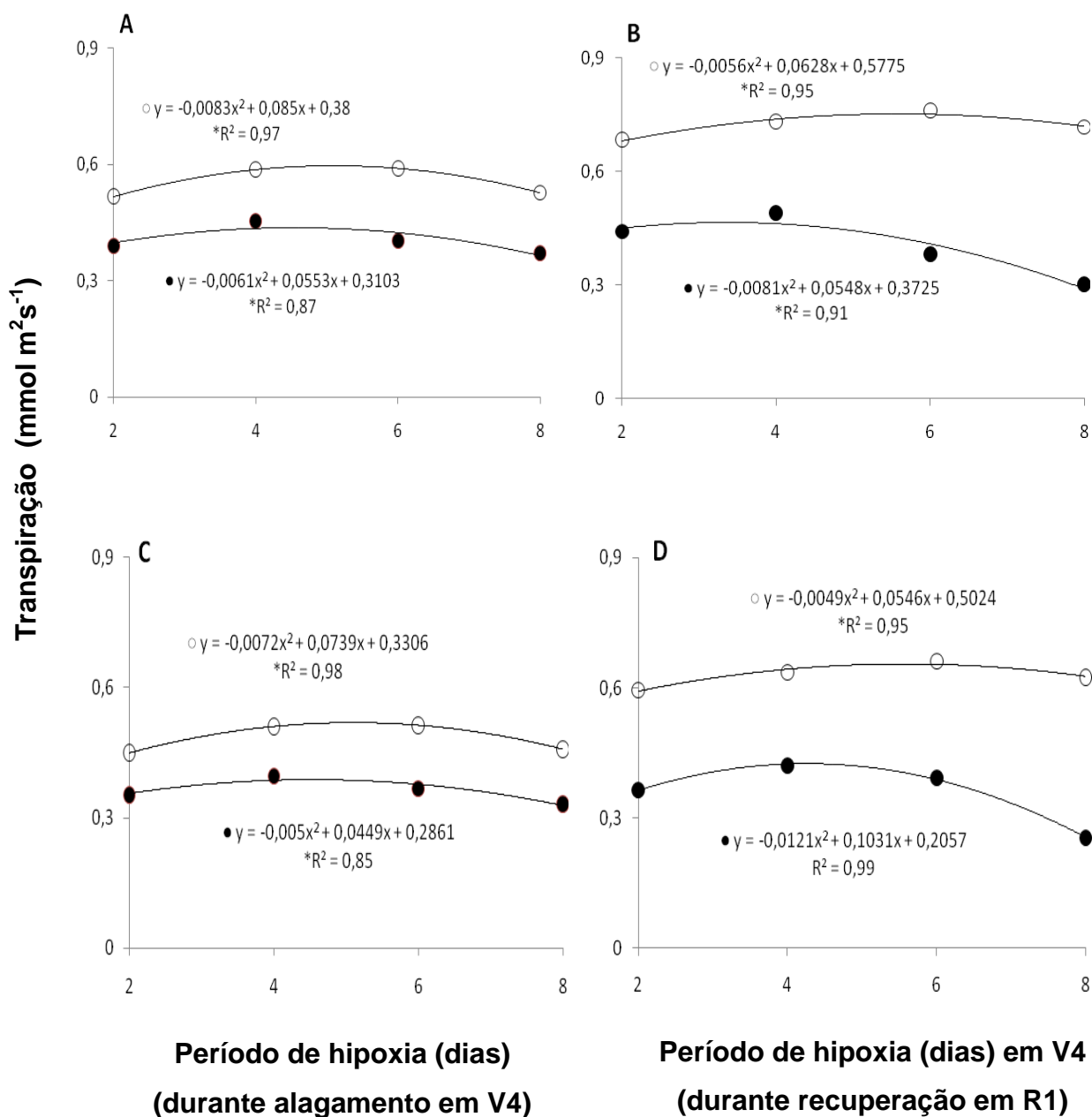
No entanto, o aumento na resistência estomática pode, muitas vezes, não estar diretamente relacionada com a diminuição da transpiração. Outros processos podem ser relacionados induzindo ao fechamento dos estômatos, tais como o efluxo de potássio nas folhas de plantas em estresse, causando perda de turgor, as altas concentrações de etileno e o aumento na produção de ABA nas folhas (REIS et al., 2007).

Os valores da transpiração para a cultivar CD 202 sob hipoxia (Figura 4A e 4C) foram menores que os obtidos pelas plantas testemunhas, senda esta diferença acentuada com a duração do alagamento e ainda menores quando comparado com a cultivar FT-Abyara (Figura 3A e Figura 3C). No horário da manhã, os valores de transpiração diminuíram para 24,5; 22,6; 31,6 e 29,7%, conforme o respectivo incremento da hipoxia, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, em relação aos tratamentos-controle, que apresentou transpiração média de  $0,51$  a  $0,52$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . No horário da tarde (Figura 3C), a média das transpirações média para os tratamentos-controle foram de  $0,44$  a  $0,46$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com reduções de 21,4; 22,3; 28,3 e 27,6%, em relação aos mesmos respectivos incrementos de dias de alagamento.

A cultivar CD 202 (Figura 4B) apresentou, no horário da manhã, transpiração média  $0,68$  a  $0,72$   $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  com reduções para valores de 35,6; 32,8; 50,0 e 58,1% conforme o respectivo incremento da hipoxia, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação, em relação aos tratamentos-controle, ao passo que no horário da tarde (Figura 4D) os valores se alteram para 38,6; 33,8; 40,7 e 2% em relação os mesmos respectivos incrementos de dias de alagamento, com média de



transpiração dos controles oscilando entre 0,60 a 0,72  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , no tratamento de recuperação.



**Figura 4** – Transpiração de folhas de soja nodulada [*Glicine max* (L.) MERRILL] da cultivar CD 202, em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), período de recuperação (B e D), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●), no turno da manhã (A e B) e no turno da tarde (C e D). \* significativo a 5% probabilidade.

O decréscimo na transpiração com o período de alagamento também foram observados em plantas Jovens de Curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith), no qual a transpiração medida foi menor nas plantas alagadas do que nas plantas controle.

Em *Zea mays* L., a transpiração decresceu significativamente entre o quinto e sétimo dia sob alagamento, mas recuperou-se a partir de então, no decorrer do período de estresse (WENKERT et al., 1981).

Podemos observar que as plantas apresentaram diferenças de respostas quanto ao estresse submetido no período de alagamento. A cultivar FT-Abyara embora tenha sofrido efeito do estresse, apresentou reduções na transpiração e na condutância. Experimentos têm mostrado que a deficiência das raízes de trigo ou cevada em absorver íons de nutrientes e transportá-los para o xilema e deste para a parte aérea rapidamente estomático, assim como, a cultivar CD 202, onde a ação danificadora foi maior. Ambas as cultivares não apresentaram respostas em nível de controle, o que confirma a ação do alagamento nas raízes das mesmas. Em raízes anóxicas ou hipóxicas falta energia suficiente para sustentar processos fisiológicos dos quais dependem as partes aéreas, levando à escassez de íons nos tecidos em desenvolvimento e expansão. As folhas velhas senescem prematuramente por causa da realocação de elementos móveis no floema (N, P, K) para as folhas jovens. A permeabilidade mais baixa das raízes à água, freqüentemente leva a um decréscimo do potencial hídrico da folha e à murcha, embora este decréscimo seja temporário se os estômatos fecharem, evitando mais perda de água por transpiração (PETERNELLI, 2003).

A tendência de redução da transpiração com o período de alagamento ou de recuperação pode, possivelmente ser explicada, em virtude do aumento da resistência estomática (Figuras 4 e 5) em resposta ao fechamento dos estômatos durante o excesso de água ou as consequências deste excesso, podendo ter também ocasionado sinais químicos originário das raízes, em virtude da relação de dependência entre a resistência estomática e o grau de hidratação das raízes (TAIZ e ZEIGER, 2004).

## **CONCLUSÕES**

A hipoxia provoca aumento na resistência estomática e diminuição na transpiração, incrementados com o período de alagamento, para ambas cultivares de soja. No entanto, as cultivares tem diferenças de respostas tanto no período de alagamento quanto no de recuperação, sem chegar aos níveis de controle, sendo a cv. CD 202 mais susceptível do que a FT-Abyara.

## **CAPÍTULO 3**

### **CRESCIMENTO DE CULTIVARES DE SOJA [*Glycine max* (L.) MERRILL] SOB CONDIÇÕES DE HIPOXIA E PÓS-HIPOXIA**

#### **INTRODUÇÃO**

Os ecossistemas inundáveis, como áreas de solos orgânicos e sedimentos fluviais, nos quais o lençol freático se mantém sempre elevado, ao contrário do que se imagina, ocorrem com frequência em várias regiões do país, representando grande entrave ao estabelecimento de culturas tolerantes nestas regiões. Rio Grande do Sul possui cerca de 5,5 milhões de hectares de solos propícios ao cultivo de arroz irrigado. Deste total, aproximadamente um milhão de hectares é cultivado anualmente com a cultura. O restante da área é utilizado para a pecuária extensiva, de baixo retorno financeiro (EMBRAPA, 2006). Poucas pesquisas foram conduzidas no Brasil, objetivando avaliar espécies que resistam ao alagamento. O cultivo de soja, em parte desta área, é uma alternativa atraente de intensificação do uso da terra e de diversificação da renda da propriedade agrícola, com a vantagem de aproveitar praticamente a mesma infra-estrutura da lavoura de arroz (LANGE, 2007).

O excesso de água no solo promove deficiência de oxigênio, tornando o ambiente das raízes hipóxico, conseqüentemente a respiração dos órgãos submersos da planta e/ou de microorganismos é comprometida, o oxigênio é esgotado nesse ambiente, ficando anóxico, sendo a glicólise e o metabolismo

fermentativo o principal meio de obtenção de ATP pelas células vegetais (ALVES et al, 2000).

Plantas tolerantes ou que apresentam certo grau de tolerância desenvolvem estruturas ou mecanismos que lhe permitam sobreviver por períodos mais prolongados nessas condições (BRAY et al., 2000).

A saturação hídrica do solo limita os sistemas de raízes em suprir nutrientes minerais para os diversos órgãos da planta com diminuições no comprimento da raiz principal, na altura da planta e no crescimento, em geral, assim como, induz a abscisão foliar, reduz a expansão da folha e inibe a formação dos primórdios foliares. No entanto, a recuperação da planta após estresse hipóxico, pode ser comprometida, devido, principalmente a formação do acetaldeído e radicais livres, sendo dependente da espécie, do estágio da planta, da duração e intensidade do estresse e do tempo de recuperação (BARROS, 2004; FRIES et al., 2007; BAILEY-SERRES e VOESENEK, 2008).

As massas totais (fresca ou seca), a relação massa raiz/parte aérea, o volume de raiz, a fotossíntese da planta, além de complicações no metabolismo do processo respiratório-oxidativo são as principais alterações em plantas sob condições de excesso de água. Contudo, as plantas podem desenvolver mecanismos adaptativos, contornando essas situações (BELTRÃO, 2001).

O presente trabalho teve como objetivo analisar o crescimento de dois genótipos de soja [*Glycine max* (L.) MERRILL], FT-Abyara e CD 202, quanto à tolerância a hipoxia e pós-hipoxia como proposta de inserção da soja em áreas com a cultura do arroz no Estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (EMBRAPA) de Pelotas/RS no período de setembro de 2007 a março de 2008. Posteriormente as análises foram realizadas no Laboratório de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel e no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas.

O substrato utilizado foi um solo do tipo Planossolo Háplico Eutrófico Solódico (EMBRAPA, 2006). No referido substrato, foi efetuado a correção e fertilização, após análise físico-química (Tabela 1, Cap.1). Posteriormente o substrato foi seco ao ar livre em casa-de-vegetação, irrigado, de modo a colocá-lo na capacidade de campo com posterior ajuste da equação entre o teor de água e o potencial mátrico, conforme curva de retenção de água no solo (Figura 1, Cap.1).

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial (2 x 5 x 2), constituído de duas cultivares, cinco tratamentos (0; 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia), duas épocas de avaliação (estádio V4 e estágio R1) baseado na escala diferencial de desenvolvimento da soja (FEHR e CAVINESS, 1977), com três repetições.

As cultivares escolhidas foram FT-Abyara e CD 202 (Tabela 2, Cap.1). Foi determinada a qualidade fisiológica das sementes das cultivares FT-Abyara e CD 202 (Tabela 3, cap.1) e posteriormente realizada a semeadura manualmente, colocando em cada vaso sete sementes previamente inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* contendo estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, em meio líquido, de marca RhizomaxR. Após emergência das plântulas, foi realizado um desbaste, reduzindo o número de plântulas para três, evitando assim, maior competição entre as plantas durante o ciclo de desenvolvimento.

A partir da abscisão dos cotilédones e até o final do experimento, as plantas foram nutridas com solução meia força de HOAGLAND e ARNON (1938) sem nitrogênio mineral, duas vezes por semana. O solo foi mantido com potencial hídrico próximo da capacidade de campo ( $\Psi_w = - 0,03$  MPa), sendo irrigado quando o substrato possuía 18% de água, determinados por gravimetria.

No estágio V4 (aos 40 dias após emergência), os vasos foram irrigados com solução nutritiva, de forma a manter uma lâmina de 30 mm, acima do solo, permanecendo durante o período determinado de hipoxia (2; 4; 6; 8 dias de inundação), para tal os orifícios do fundo do vaso foram vedados, evitando a drenagem do substrato, onde para cada dia de alagamento havia um tratamento controle.

As avaliações das massas frescas e secas foram efetuadas nos tratamentos 0; 2; 4; 6 e 8 dias após inundação (DAI), a partir do estágio V4. A drenagem dos vasos ocorreu sucessivamente aos 2; 4; 6 e 8 DAI e a avaliação da recuperação do efeito do tratamento foi realizada durante estágio R1 (a partir dos 70 dias após emergência), nos mesmos tratamentos e intervalos de dias.

As características de crescimento avaliadas foram área foliar, volume de raízes e as massas frescas e secas da parte aérea e das raízes medidas durante estádios de desenvolvimento V4 e R1 da soja, nos intervalos de dias anteriormente mencionados. Para estas determinações as plantas foram cortadas rente ao solo e separadas em parte aérea e raízes. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água corrente, sob peneiras, para a remoção das partículas de substrato aderidas, evitando assim a perda de amostras e enroladas em papel toalha para a retirada do excesso de umidade.

O volume de raízes foi determinado em proveta graduada pelo deslocamento da coluna de água devido à submersão.

As folhas foram separadas das plantas e depositadas imediatamente em sacos plásticos com algodão embebido em água, conduzidas para determinação da área foliar, por meio de medidor de área LICOR, modelo 3100. Logo a seguir, as fitomassas frescas foram determinadas gravimetricamente.

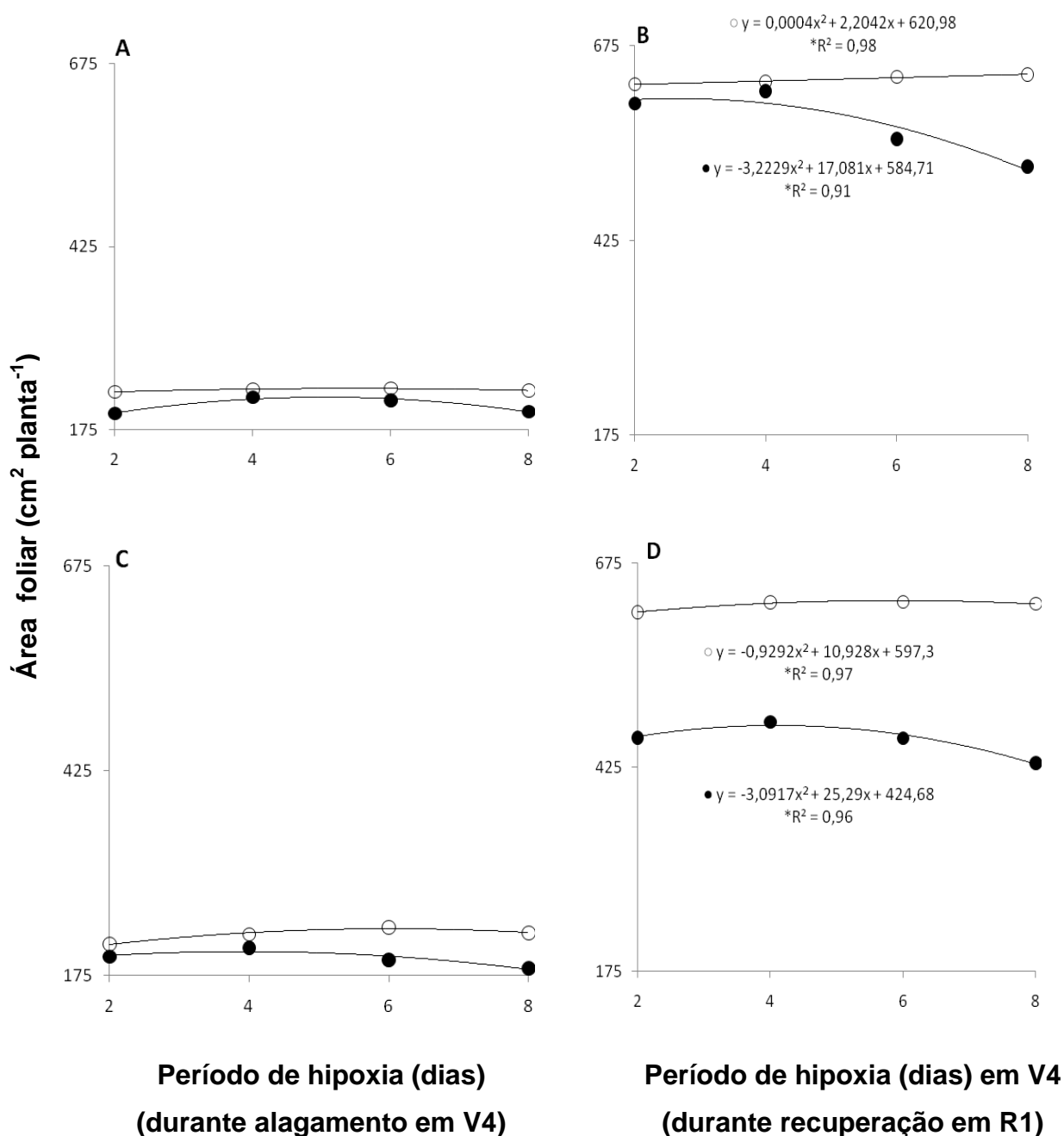
Em seguida, a parte aérea e as raízes foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa de ventilação forçada à temperatura de  $65 \pm 3$  °C por 72 horas, quando atingiram massa constante.

Os dados coletados foram submetidos estatisticamente à análise de variância (teste F). Os efeitos estatisticamente significativos pelo teste F foram submetidos à análise de regressão com emprego de polinômios ortogonais (RICHARDS, 1970). Os dados apresentaram distribuição normal do erro e variação homogênea, não necessitando de transformação dos dados. Para análise estatística, foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT (SILVA, 2008) e os cálculos realizados no Microsoft Office Excel 2007.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A área foliar (Af) dos tratamentos-controle (Figura 1) mantiveram-se praticamente constante com o passar dos dias, em ambos os períodos de alagamento ou recuperação. A área foliar não foi reduzida significativamente com o incremento da duração do alagamento para ambas as cultivares no estágio V4. No período de recuperação, estágio R1, a cultivar FT-Abyara (Figura 1B) diminui Af, em relação aos tratamentos-controle crescido na capacidade de campo, recuperando 95,1; 98,0; 87,5 e 81,5%, ao passo que, a cultivar CD 202 (Figura 1D) teve recuperações menores e de 75,1; 76,6; 73,4 e 68,8%, respectivamente, aos tratamentos que foram alagados no estágio V4 (2; 4; 6 e 8 dias). Por conseguinte, o excesso de água no solo, devido à lâmina de 30 milímetros, influenciou negativamente a superfície de captação de luz solar pelas plantas, sendo mais drástico na cultivar CD 202 que na FT-Abyara. Essa recuperação na área foliar, provavelmente, pode ser devida a modificação em alguma função fisiológica (taxas de crescimento relativo, fotossintética, transpiratória, renovação foliar e condutância estomática, etc.) para manter suas atividades vitais, assim como prevê (CHAPIN III et al., 1993). Também, modificações anatômicas nas folhas, colmo e raízes são importantes para garantir a sobrevivência da planta em condições de solos mal drenados, onde a concentração de  $O_2$  é baixa (hipoxia) ou inexistente (anoxia).



**Figura 1** – Área foliar de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

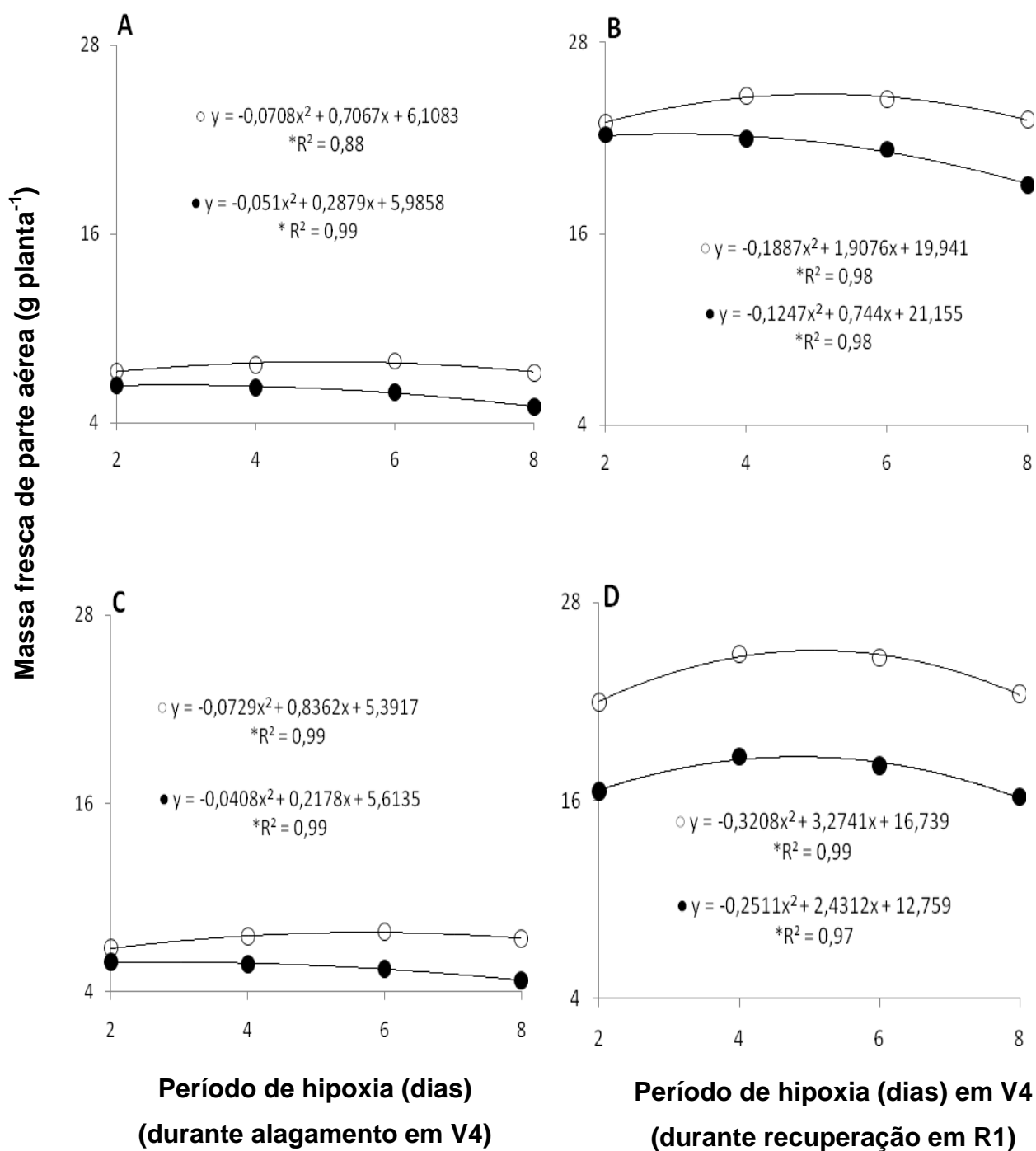
A área foliar avaliada neste trabalho está de acordo com BARROS al. (2004), em que plantas de soja submetidas ao excesso hídrico reduzem a área foliar conforme a duração do tempo de alagamento.

A interação entre o excesso hídrico, tempo e cultivar alterou a massa fresca de parte aérea (Figura 2), sendo reduzido com aumento na duração da hipoxia para ambas as cultivares (Figuras 2A e 2C). A cv. FT-Abyara (Figura 2A) apresentou reduções de 12,4; 18,4; 25,0 e 30,0% e a cv. CD 202 (Figuras 2B) de 13,0; 23,1; 29,8 e 36,1% de massa fresca de parte aérea, em relação ao incremento da duração do alagamento, reciprocamente, aos 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia, quando comparado com as plantas crescidas em condições regulares. Portanto, a massa fresca da parte aérea da cv. CD 202 foi mais reduzida pelo estresse do alagamento do que a cv. FT-Abyara, principalmente aos seis e oito dias de encharcamento do solo. Entretanto, durante o período de recuperação (70-78 DAE) houve recuperações de 96,7; 88,9; 87,1 e 82,3% na cultivar FT-Abyara e menores na faixa de 75,4; 75,1; 73,5 e 72,2% para cv. CD 202, reciprocamente, aos tratamentos hipóxicos submetidos no estágio V4 (2; 4; 6 e 8 dias), em relação aos tratamentos-controle.

Destaca-se que a recuperação da massa fresca da cultivar FT-Abyara foi significativamente melhor, no estágio R1, que a do genótipo CD 202, sem mesmo assim, chegar aos níveis de controle.

A tendência de redução da massa fresca da parte aérea em relação à duração do alagamento, está de acordo com BARROS (2004), que obteve queda com o incremento do ambiente hipóxico em genótipos de *Glycine max* (L.) MERRIL sob condições de deficiência de oxigênio. Da mesma forma, em função da deficiência de oxigênio nas raízes podem ocorrer alterações na massa seca aérea devido a mudanças no fluxo de substâncias entre os dois sistemas, principalmente do sinal hormonal e de nutrientes (JACKSON, 1990).

O crescimento e desenvolvimento das diferentes partes da planta são afetados em ambiente alagado, causando variações na respiração aeróbica, no nível nutricional e na fotossíntese (ALAOUI-SOSSÈ et al. 2005).



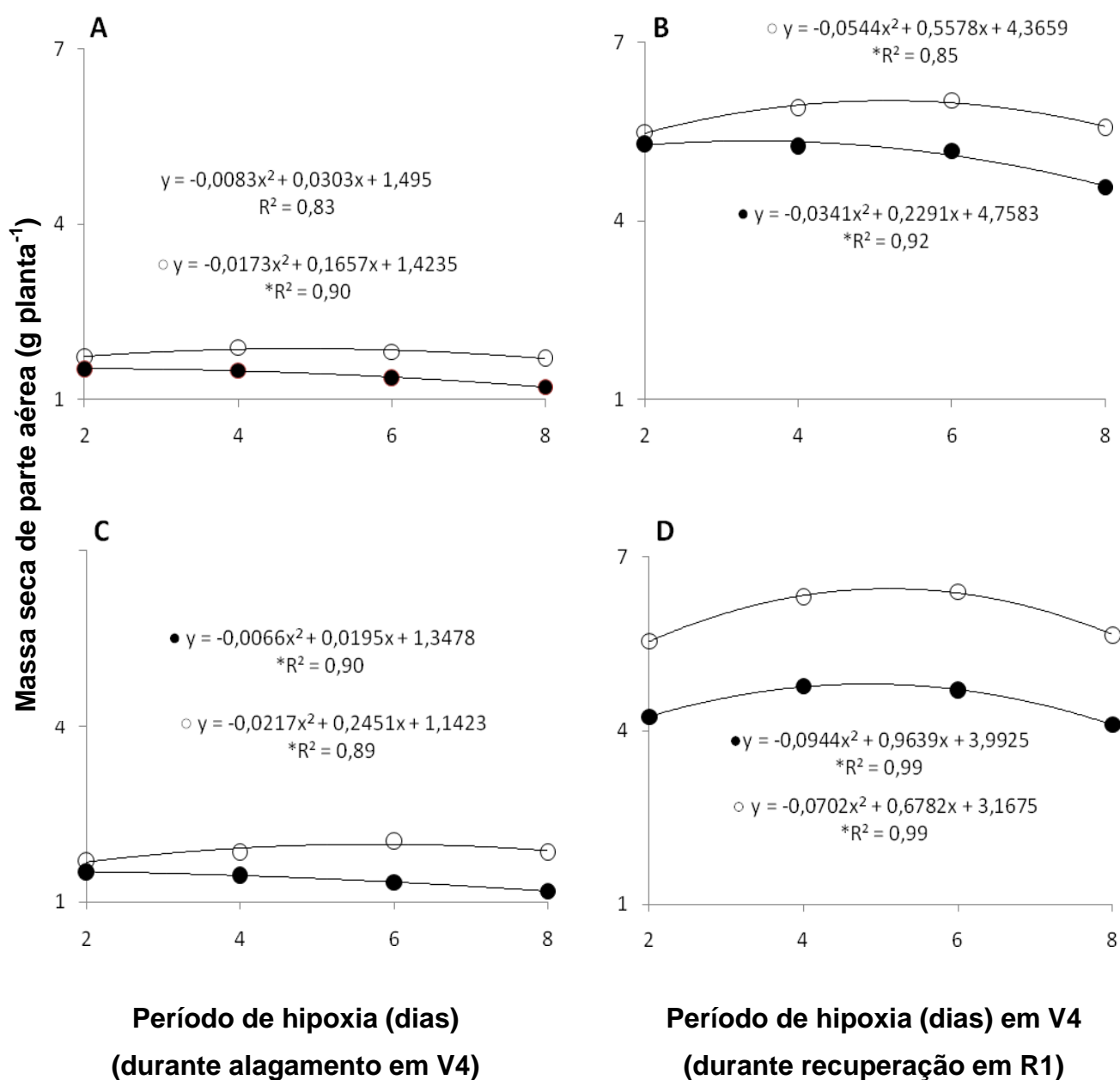
**Figura 2** – Massa fresca de parte aérea de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

No que concerne à massa seca de parte aérea, a cultivar FT-Abyara (Figura 3A) revelou diminuições de 11,6; 21,0; 24,2 e 29,2%, ao passo que, a cultivar CD 202 (Figura 3C) sofreu reduções de 10,9; 21,3; 34,9 e 36,0% de massa seca de parte aérea, em relação ao incremento de alagamento, respectivamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia, durante estágio V4, quando comparado com as plantas crescidas em condições normais ao longo dos dias.

É interessante reforçar que aos dois dias de inundação, a cv. CD 202 teve diminuição menor que a cv. FT-Abyara, o que não ocorreu com a massa fresca, o que permite inferir que possivelmente, as folhas nesse momento estavam com excesso de água, revelando uma baixa em sua massa seca, perdida por evaporação em estufa de ventilação forçada. Salienta-se ainda, que a cv. FT-Abyara alcançou significativa e baixa redução de massa seca de parte aérea, aos oito dias de inundação, quando comparada com o outro genótipo, sem, no entanto, assemelhar-se aos da plantas dos tratamentos-controle. No estágio R1, a cultivar FT-Abyara apresentou recuperações de 96,6; 89,0; 86,0 e 81,8% na massa seca de parte aérea, em relação aos tratamentos-controle crescido próximo à capacidade de campo (Figura 3B), ao passo que, na cultivar CD 202 (Figura 3D), as recuperações foram de 76,4; 75,5; 73,5 e 72,6, respectivamente, aos tratamentos alagados no estágio V4 (2; 4; 6 e 8 DAI), conforme o período de encharcamento.

Conforme exposto, o genótipo CD 202 foi menos tolerante ao estresse do alagamento, no que tange a área foliar e massas fresca e seca (Figuras 1C, 2C e 3C) quando comparado ao genótipo FT-Abyara (Figura 1A, 2A e 3A).

Esse trabalho também está de acordo com o de BARROS (2004), em que há rendimento menor de massa seca de parte aérea, sem, no entanto, alcançar os níveis de controle, de plantas de soja sob alagamento. Houve algumas tentativas de adaptação, principalmente da cultivar FT-Abyara tolerar o estresse hídrico. Isso mostra que nos mecanismos de tolerância das plantas ao alagamento do solo existe uma série de características e estratégias adaptativas que melhoram a troca de gases e mantêm a produção de energia pela planta (ARMSTRONG et al., 1994). A planta tolerante deve ser capaz de crescer e modificar o padrão de alocação de



**Figura 3** – Massa seca de parte aérea de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alongamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

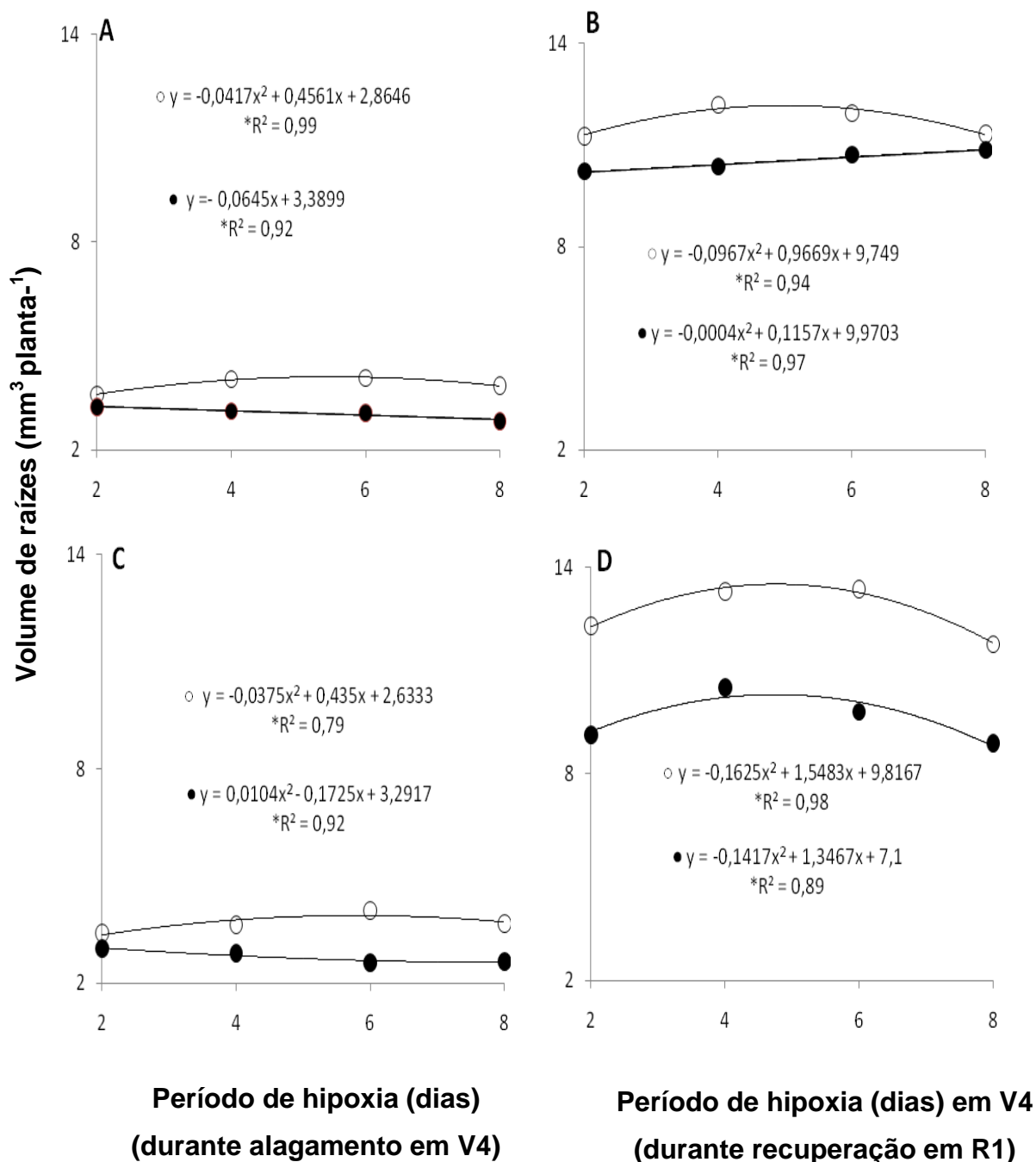
carbono para investimento em área fotossintética e distribuição de oxigênio às raízes. A tendência de plantas bem adaptadas e tolerantes ao alagamento é reverter à biomassa às folhas e raízes (BARUCH, 1994a; DIAS-FILHO, 2002).

No volume das raízes (Figura 4) houve diferença de resposta entre as cultivares, no que concerne a interação entre o regime hídrico e tempo de tratamento. Assim, ambas as cultivares (Figura 4A e 4C) apresentaram tendência a diminuir o volume de raízes, conforme o período de encharcamento, sem chegar aos níveis de tratamentos-controle. As reduções para FT-Abyara foram de 10,1; 22,7, 24,6 e 26,7%, reciprocamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de excesso hídrico. Em contraste, a cv. CD 202 apresentou diminuições maiores e na ordem de 12,8; 22,0; 36,4 e 29,1% em relação aos mesmos dias de inundação.

No estádio R1, a cv. FT-Abyara (Figura 4B) mostrou tendência de aumento do volume de raízes, conforme incremento dos dias de alagamento, aproximando-se aos tratamentos-controle, aos oito DAI. Em contrapartida a cv. CD 202 (Figura 4D) aumentou o volume de raízes, apenas aos quatro dias. A recuperação do volume de raízes, comparado aos tratamentos-controle, foi na ordem de 90,8; 85,1; 89,7 e 95,8% para cultivar FT-Abyara. Ao passo que, na CD 202 foram de 74,3; 79,0; 73,3 e 75,7% conforme os respectivos dias de hipoxia (2; 4; 6 e 8 dias alagados no estádio V4 e avaliados no estádio R1).

É possível então um retorno das condições hipóxicas anaeróbicas para situações com maior disponibilidade de oxigênio, possibilitando assim, condições para que haja retorno na assimilação de compostos nitrogenados (SÁ, 2005).

O aumento do volume de raízes diminuiu na época de alagamento, ocorrendo substancial incremento no volume de raízes em R1 a diferentes períodos de hipoxia e retorno à normoxia, sem atingir os níveis dos tratamentos controle. Estes resultados estão de acordo aos obtidos nos genótipos de soja BRS 153 e BRS 154 por BADINELLI (2008).



**Figura 4** – Volume de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).



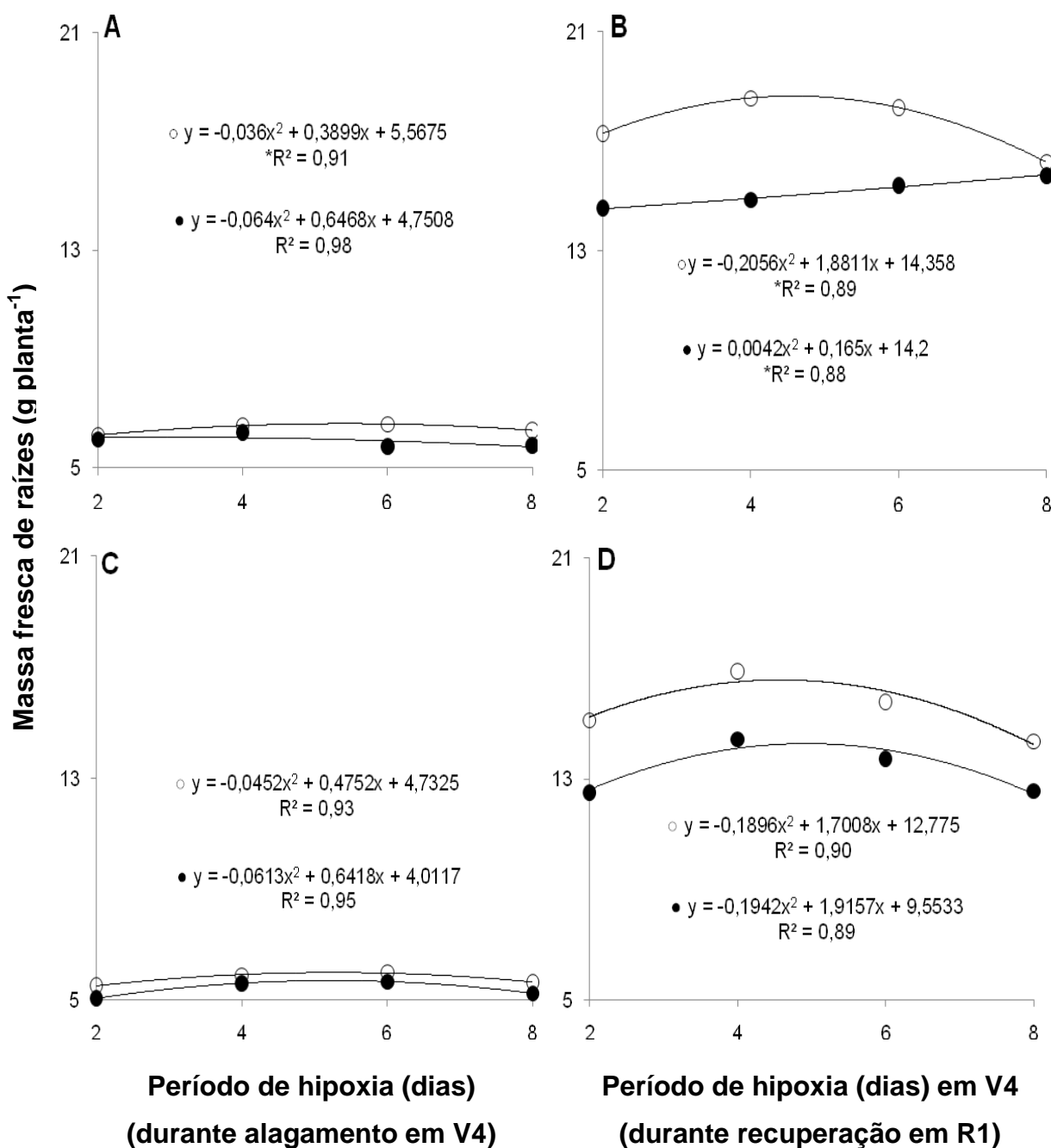
Enquanto a cultivar CD 202 (Figura 5C) sofreu diminuições de 8,4; 4,7; 5,5 e 7,2%, respectivamente aos 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia quando comparado com as plantas crescidas em condições normais ao longo dos dias. A cultivar CD 202 teve maior redução (superior a cv. FT-Abyara) em sua massa fresca de raízes apenas aos dois e quatro dias de inundação e após houve uma tendência na diminuição de redução dessa massa seca para valores menores e inferiores aos da cv. FT-Abyara. Mesmo assim, a cv. FT-Abyara apresentou mesma tendência de redução de massa fresca de sistema radical em função da duração por alagamento.

Quanto ao período de recuperação, dos 70-78 DAE, para cultivar FT-Abyara, os valores recuperados foram de 84,2; 80,0; 84,38 e 97,06% ao passo que a cultivar CD 202 apresentou valores menores de 82,68; 85,40; 86,73 e 87,40%, respectivamente, aos tratamentos-controle. Isso mostra que o alagamento influenciou negativamente a fitomassa fresca de raízes, não oferecendo condições para que as plantas de soja retornassem as condições ideais, verificadas junto às plantas controles.

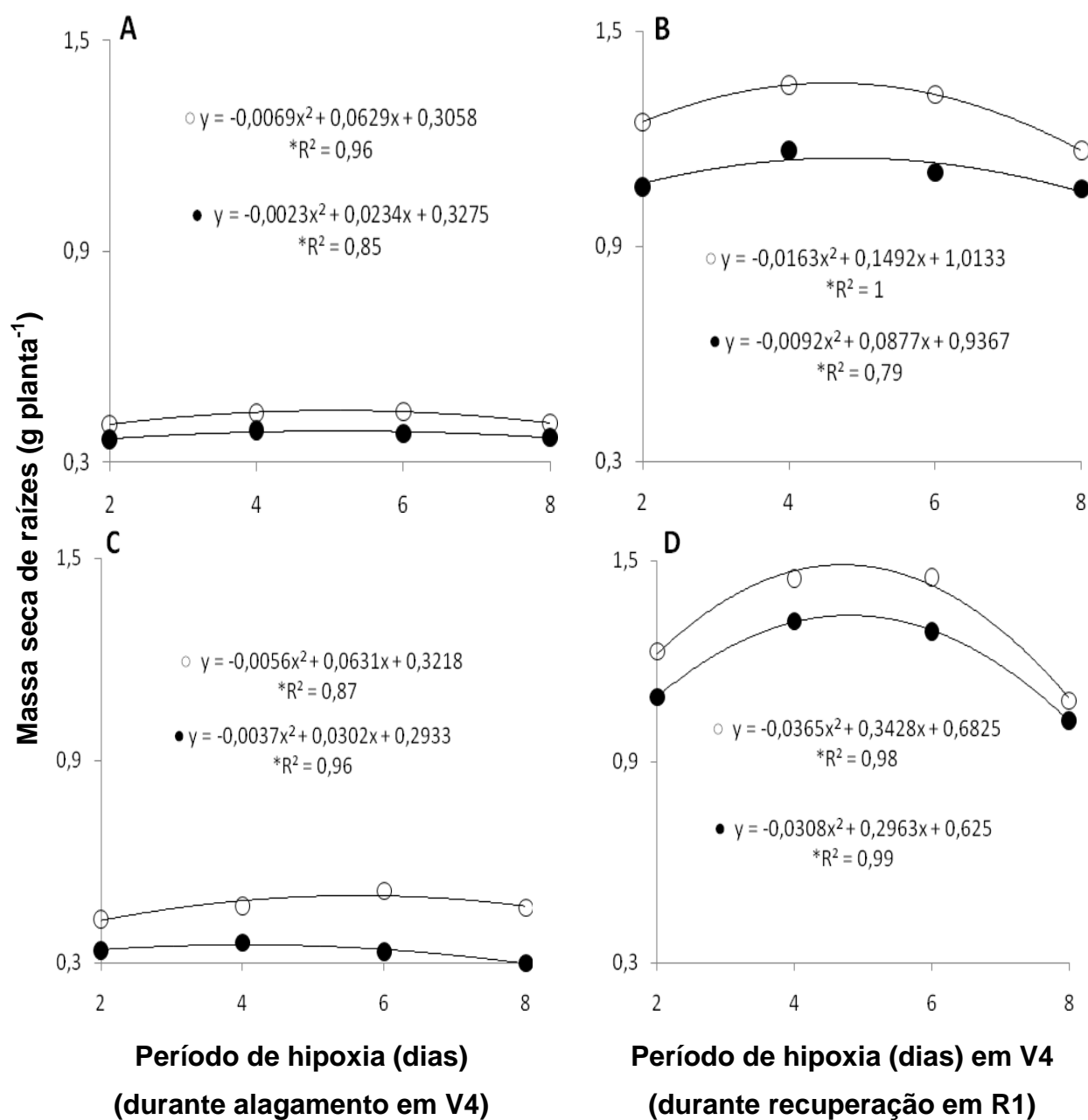
Os resultados encontrados neste trabalho, estão de acordo com os de SANTIAGO e PALOTI (2007) que observaram também diminuição na fitomassa seca de raízes em *Guibourtia hymenifolia* (Morici.) J. Leonard (Fabaceae) e *Genipa americana* L. (Rubiaceae), submetidas ao estresse por alagamento do substrato.

A massa seca de raízes (Figura 6) apresentou a mesma tendência de redução conforme o incremento dos dias de alagamento, apresentando altos coeficientes de determinação e significativos a 5% de probabilidade, em ambas as cultivares.

Na cultivar FT-Abyara (Figura 6A) ocorreram decréscimos de 10,6; 11,4; 14,2 e 9,8%, ao passo que, a cultivar CD 202 (Figura 6C) sofreu reduções de 21,8; 23,4; 35,1 e 35,3% de massa seca das raízes, em relação ao incremento do período de alagamento, respectivamente, 2; 4; 6 e 8 dias de hipoxia, quando comparado com os controles, crescidos na capacidade de campo. Observa-se a superioridade da cultivar FT-Abyara em detrimento da CD 202, que foi severamente afetada pelo regime hídrico imposto.



**Figura 5** – Massa fresca de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).



**Figura 6** – Massa seca de raízes de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C), aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

No período de normoxia, intervalo regular de 30 dias entre cada tratamento, a cultivar FT-Abyara (Figura 6B) apresentou recuperações, em relação aos tratamentos-controle crescidos na capacidade de campo, de 85,6; 86,5; 83,7 e 90,9%, enquanto, na cultivar CD 202 (Figura 6D) foram de 88,9; 91,2; 89,0 e 94,5% respectivamente, aos 2; 4; 6 e 8 dias de inundação no estádio V4, sugerindo respostas muito semelhantes ao alagamento.

Isso revela que o incremento do alagamento influenciou a fitomassa seca de raízes, de forma similar, oferecendo condições para que as plantas de soja retornassem a uma recuperação, ainda que incompleta.

O presente trabalho também está de acordo com o de JUNIOR et al. (2008) que descreve a redução de massa seca de raízes em condições de alagamento, em vários genótipos de soja, observado no estádio V6.

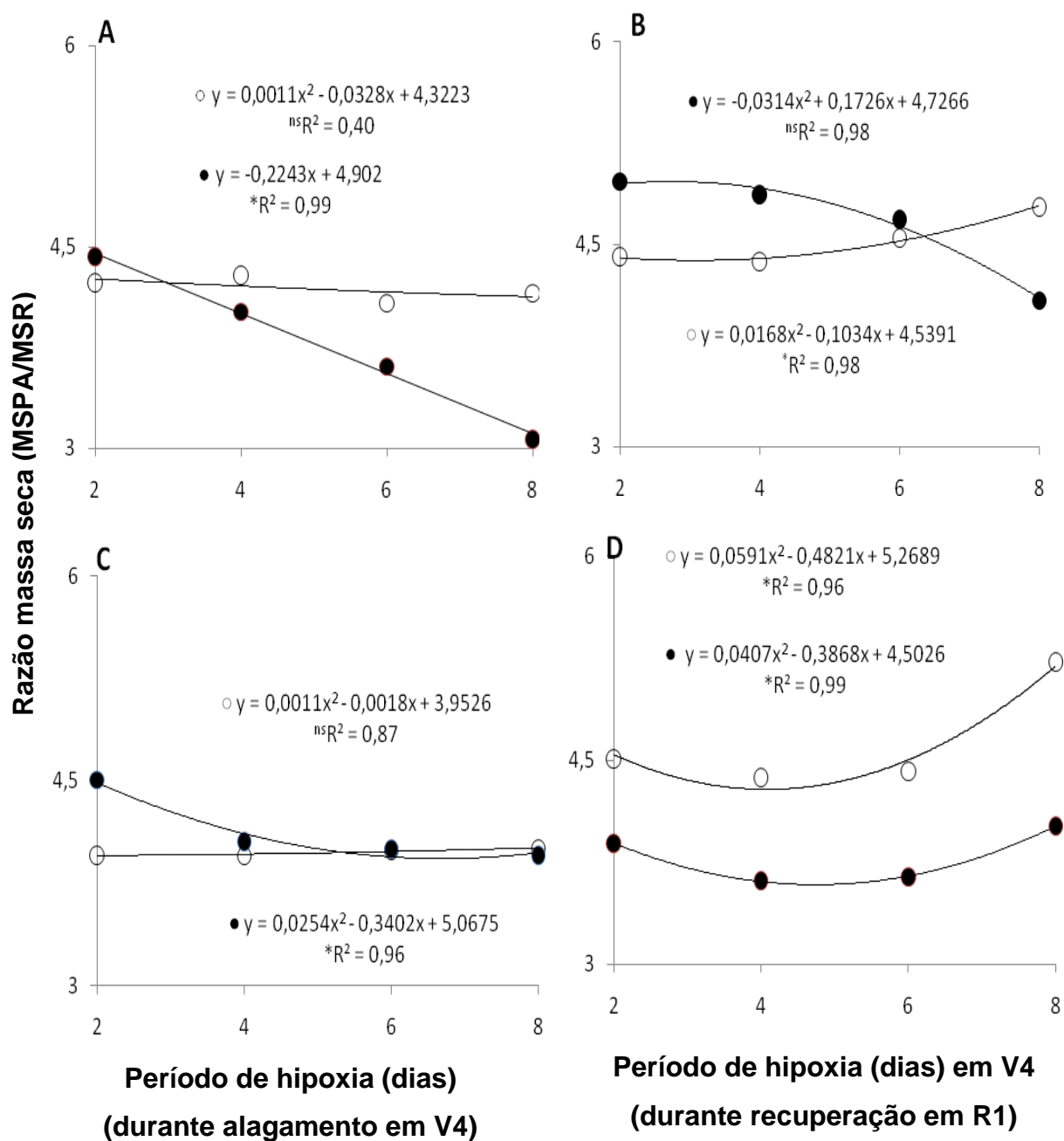
A deficiência de oxigênio também influenciou a razão entre a massa seca da parte aérea e a massa seca de raízes (MSPA/MSR) no período de inundação, ocorrendo resposta diferenciada no período de inundação. A cultivar FT-Abyara apresentou acréscimo de 4,5% aos dois dias de inundação e redução de 6,3; 11,5 e 26,1% respectivamente aos 4; 6 e 8 dias de inundação (Figura 7A). Ao passo que, a cultivar CD 202 apresentou acréscimos de 13,9; 2,6; 0,16 aos 2; 4 e 6 dias de inundação e decréscimo de 1,28% aos 8 DAI (Figura 7C).

No que tange ao momento da recuperação existiram acréscimos de 12,6; 11,35; 2,98 aos 2; 4 e 6 DAI e redução de 14,5% aos 8 DAI para cultivar FT-Abyara (Figura 7B). Enquanto que para cultivar CD 202 (Figura 7D) houve apenas reduções de 13,7; 17,4; 17,5 e 23,0% respectivamente, aos 2; 4; 6 e 8 dias alagados em V4 e verificados em R1, em relação aos respectivos tratamentos-controle. No período de inundação a razão MSPA/MSR decresceu drasticamente com o incremento na duração da hipoxia nas raízes da cultivar FT-Abyara (Figura 7A), fato não ocorrido na mesma intensidade na cultivar CD 202 (Figura 7C). É regra geral, que um fator que atua numa parte afeta mais a outra parte, porém neste caso houve redução mais acentuada na massa seca das raízes em virtude, provavelmente, da drástica alteração no metabolismo que passou de aeróbico para anaeróbico. Relata-se, então, que a recuperação foi mais afetada na relação MSPA/MSR da cultivar CD 202 na época de recuperação.

A deficiência de oxigênio reduz a razão entre a massa seca da parte aérea e a massa seca do sistema de raízes no período de inundação, não ocorrendo diferença de resposta entre as cultivares de soja BRS 153 e BRS 154 (BADINELLI, 2008), estando de acordo com os resultados desse trabalho. Também, o aumento da razão MSPA/MSR ocorre após o terceiro dia de inundação, intensificando-se com o avanço do período de tratamento hipóxico, o que demonstra maior efeito inibitório do crescimento do sistema das raízes em relação à parte aérea

Embora a formação de raízes adventícias seja apontada como indicador da presença de mecanismo adaptativo em plantas tolerantes ao alagamento do solo (ARMSTRONG et al., 1994; LIAU e LIN, 2001), tal mecanismo pode não necessariamente garantir a tolerância plena da planta a esse estresse.

Realmente, a inundação desencadeia uma série de processos que influenciam as características físico-químicas e biológicas do solo como meio para o desenvolvimento das plantas e nestas condições, as plantas podem apresentar adaptações morfológicas, anatômicas e metabólicas, de forma a minimizar os efeitos da falta de oxigênio, o que pode ter ocorrido posteriormente na recuperação. É interessante frisar, que sob o estresse hipóxico, nenhuma das cultivares atingiu os níveis de controle.



**Figura 7** – Razão massa seca da parte aérea / massa seca de raízes (MSPA/MSR) de plantas de soja nodulada [*Glycine max* (L.) MERRILL] das cultivares FT-Abyara (A e B) e CD 202 (C e D), em função de períodos de alagamento (A e C) aplicado no estágio vegetativo V4 (hipoxia), e avaliados nos estádios V4 e R1 (florescimento), sendo tratamentos-controle (○—○) e hipoxia e pós-hipoxia (●—●). \* significativo a 5% probabilidade (n=3).

## **CONCLUSÕES**

O estresse hipóxico provoca reduções em todas as características de crescimento avaliadas, acentuando-se com o incremento do período de alagamento, exceto na razão parte aérea / raízes. A cultivar FT-Abyara é mais eficiente na recuperação do estresse, quando comparada com a cultivar CD 202, sem recuperar a níveis de controle.





## **CONCLUSÕES GERAIS**

A hipoxia provoca redução na fixação do gás nitrogênio, bem como, na alocação de compostos protéicos, havendo também, diminuição nas concentrações de pigmentos fotossintéticos, aumento de resistência estomática e diminuição da transpiração, provocando assim, alterações negativas nas características de crescimento avaliadas, fazendo com que as plantas não retornassem a níveis de tratamentos-controle. A cultivar FT-Abyara é superior a cultivar CD 202, tanto no período de hipoxia quanto no de recuperação, para a maioria dos parâmetros determinados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAOUI-SOSSÉ, B.; GÉRARD, B.; TOUSSAINT, M. & BADOT, P. Influence of flooding on growth, nitrogen availability in soil, and nitrate reduction of young oak seedlings (*Quercus robur* L.). **Annals of Forest Science**, Les Ulis, França, v. 62, n.6, p. 593-600, 2005.

ALVES, J.D.; MAGALHÃES, M.M.; OLIVEIRA, L.E.M.; VITORINO, P.G. Mecanismo de tolerância de plantas ao alagamento. **Universa**, Brasília, v.8, n.1., p.221-242, 2000.

ALLEN, J.A.; PEZENSKY, S.R.; CHAMBERS, J.L. Interaction of flooding and salinity stress on baldcypress (*Taxodium disticum*). **Tree Physiology**, Victoria, v. 16, n.1-2, p. 307–313, 1996.

APASSUL. Descrição de genótipos de soja safra 2003. Disponível em <<http://www.apassul.com.br>>. Acesso em: 25 de agosto. 2008, 16:30:30.

ARMSTRONG, W.; BRANDLE, R.; JACKSON M. B. Mechanisms of food tolerance in plants. **Acta Botany Neetherland**, Oxford, v.43, n.4, p. 307-358, 1994.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n.1, p.1-15, 1949.

BADINELLI, P.G. **Respostas Bioquímicas e Fisiológicas de Plantas Noduladas de Soja submetidas à Hipoxia**. 2008. 100f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão.

BAILEY-SERRES, J.; VOESENEK, L.A.C.J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto,v. 59, p.313-319, 2008.

BARNI, N.A.; LOPES, M.S.; HILGERT, E.R.; SARTORI, G.; GONÇALVES, J.C.; GOMES, J.E. da S. Avaliação agronômica de cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em solos hidromórficos. **Agronomia Sul-riograndense**, Porto Alegre, v. 21, n. 2, p. 189-207, 1985.

BARUCH, Z. Responses to drought and flooding in tropical forages grasses. I. Biomass allocation, leaf growth and mineral nutrients. **Plant and Soil**, The Hague,v.164, n.1, p.87-96, 1994a.

BARUCH, Z. Responses to drought and flooding in tropical forages grasses. II. Leaf water potencial, photosynthesis rate and alcohol dehydrogenase activity. **Plant and Soil**, The Hague, v.164, n.1, p.87-96, 1994b.

BARRETO, A.G.T.; COSTA, R.C.L; CRUZ, F. J.R; CAMARGO, P.M. P; LUZ, L. M.; **Respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas de sorgo [*Bicolor Sorghum* (L.) Moench] submetidas ao alagamento**. Anais.....Seminario de Iniciacao Cientifica da UFRA e XII Seminario de Iniciacao Cientifica da EMBRAPA Amazônia Oriental2008. p.112, 2008.

BARROS, E.C. **Características Fisiológicas de plantas de soja [*Glycine max* (L.) MERRIL] sob condições de deficiência de oxigênio**. 2004. 33f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão.

BERGONCI, J. I. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.35, n.8, p.1531-1540, ago. 2000.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Washington, v.17, n.2, p. 278- 293, 1966.

BRAY, E.A.; BAILEY SERES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. IN BBUCHANAN B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biometrics and molecular biology of plants**. Rocwille: American Society of plant physiologist, 2000. Cap. 22, p.1158-1249.

BRADFORD, K.J.; YANG, S.F. Physiological responses of plants to waterlogging. **Hortscience**, Alexandria, v.16, n.1, p.25-30, 1976.

BRASIL. Ministério de agricultura e reforma agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDV/CLAV. 1992. 365p.

CARVALHO, J.R.; ISHIDA, F.Y. Respostas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth) jovens ao alagamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.9, p. 1231-1237, 2002.

CHAPIN III, F.S.; AUTUMN, K.; PUGNAIRE, F. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. **The American Naturalist**, Chicago, v.14, n.1, p.78-92, 1993. Supplement.

CRAWFORD, R. M.M.; BRAENDLE, R. Oxygen deprivation stress in a changing environment. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 295, p. 145-159, 1998.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO (CFS RS/SC). **Recomendações de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** 3<sup>a</sup>ed. Passo Fundo, SBCS- EMBRAPA –CMPT, 1995. 224 p.

COODECT. **Características de cultivares de soja.** Disponível em <<http://www.coodect.com.br>>. Acesso em: 20 de junho de 2009, 15:18:20

CONAB. **Produção Agropecuária: safra de grãos 2008/2009.** Disponível em <<http://www.conab.gov.br/conabweb>>. Acesso em: 13 de junho de 2009, 21:30:30

CORREA, M.F; BADINELLI, P.G.; VERNETTI JÚNIOR, F.J.; AMARANTE, L. Transporte de ureídeos e teor de pigmentos fotossintéticos em soja nodulada sob condições de alagamento e drenagem. In: **XVII congresso de iniciação científica e X encontro de Pós-Graduação**, 2008. Pelotas/RS. Disponível em CD ROM.

COSTA, J.A. **Cultura da soja.** Porto Alegre: I. Manica & J.A. Costa (eds.), 1996. 233p.

DIAS-FILHO, M.B. Tolerance to flooding in five *Brachiaria brizantha* accessions **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p.439-447, 2002.

DREW, M.C.; HERNEM, C.; MORGAN, P.W. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Plants Science**, Limerick,v.5, n.1, p123-127, 2000.

EMBRAPA.Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2ed. Rio de Janeiro. Embrapa solos, 2006. 306p.

EMBRAPA. **Sistema de produção 11: tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2007.** Londrina: EMBRAPA SOJA, 2005, 225p.

EMBRAPA. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil.** EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas- RS, 350p, 2005.

EMBRAPA. Sistema de Produção 13: **Tecnologias de Produção de soja – Região Central do Brasil 2009 e 2010**. Londrina: EMBRAPACNPSO: 262p, Boletim Técnico n.13, 2009.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service Soil Survey Staff. **Soil Taxonomy: a basic of soil classification for making and interpreting soil surveys**. Washington, 2006.169p. (USDA. Agricultural Handbook,436).

EVANS, L.T. **Crop evolution, adaptation and yield**. Cambridge, University Press,1996, 500p.

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

FERNANDEZ, M.D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. **Photosynthetica, Prague**, v.44, n.1, p.32-38, 2006

FRIES, D.D.; ALVES, J.D.; FILHO, N.D.; MAGALHÃES, P.C.; GOULART, P.F.P.; MAGALHÃES, M.M. Crescimento de plântulas do milho saracura e atividade da alfa-amilase e invertases associadas ao aumento da tolerância ao alagamento exercido pelo cálcio exógeno. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.1, p. 1-9, 2007.

GASTAL, M.F. da C.; BRANCÃO, N.; VERNETTI, F. de J. Indicação de cultivares de soja para terras baixas. **Agropecuária de Clima Temperado**, Pelotas, v.1, n.1, p.95-99, 1998.

GOMES, F.P. **Curso de Estatística Experimental**. 13ª ed., Livraria Nobel, Piracicaba, 467p, 1990.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method of growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**, Berclley, n.347, p. 1- 39, 1998.

HUANG, B. ; JOHNSON, J.W. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. **Annals Botany**, Oxford, v.75, n.4, p. 427-432, 1995.

HUANG, B; JOHNSON, J.W; NESMITH, S.; BRIDGE, D.C. Root and shoot growth of wheat genotypes in response to hypoxia and subsequent resumption of aeration. **Crop Science**, Madison, v.34, ed.5, p.1538-1544, 1994a.

HUANG, B; JOHNSON, J.W; NESMITH, S.; BRIDGE, D.C. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 45, n.1, p. 193-202. 1994b.

ISHIDA, F.Y; OLIVEIRA, L. E.M.; CARVALHO, J.R.; ALVES, J.D. Efeitos da Inundação parcial e total sobre o crescimento, teor de clorofila e fluorescência de *Setaria anceps* e *Paspalum repens*. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.6, p.1152-1159, 2002.

IBGE. **Levantamento sistemático de produção agrícola**. Disponível em <<http://www.ibge.com.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria>>. Acesso em 31 de julho de 2009, 19:30

IRGA. 2001. **Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. IRGA, Porto Alegre-RS, 2001. 128p.

ISHIDA, F.Y.; OLIVEIRA, L.E.M.; CARVALHO, C.J.R.; ALVES, J.D. efeitos da inundação parcial e total sobre o crescimento, teor de clorofila e fluorescência de *Setaria anceps* e *Paspalum repens*. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras. v.26, n.6, p.1152-1159, 2002.

JACKSON, M. B. DREW, M. C. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: KOZLOWSKI, T.T. (ed). Flooding and plant growth. **Academic Press**, Orlando, n. 3, p. 47-113, 1984.

JACSON, M.B.; FENNING, T.M.; Drew, M.C.; Saker, L. R. Stimulation of ethylene production and gas-space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. by small partial pressures of oxygen. **Planta**, Berlin, v. 165, n.5, p. 486-492, 1985.

JACKSON, M.B. Hormones and developmental change in plants subjected to submergence or soil waterlogging. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 38, n.1, p.49-72, 1990.

JUNIOR, A.A.A.B.; ZENZEN, I.L.; CANDATEN, J.T.; AMARANTE, L.; COLARES, D.; BADINELLI, P.G. In: **Influência do alagamento no acúmulo de massa seca em diferentes genótipos de soja nodulada**. In: XV Congresso de Iniciação e XI encontro de pós-graduação. Pelotas, 2008. CD Rom.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI, T.T. (ed.). Flooding and plant growth. **Academic Press**, London, n.1, Victoria, p.129-163, 1984.

KOZLOWSKI, T.T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph**, n. 1, p. 1-29, 1988.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S. G. Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Flooding and plant growth**. Orlando: Academic, 1984, n.1, p. 165-193.

McCLURE, P. R.; ISRAEL, D. W. Transport of nitrogen in the xylem of soybeans plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 64, n. 3, p. 411-416, 1979.

LANGE, C.E. **Reação de genótipos fixos de soja ao excesso hídrico: estimativa dos componentes de variância [on line]**. Disponível em <http://www.irga.rs.gov.br>. Acessado em 10/10/2008 às 15h.



LIAU, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. **Proceedings of the National Science Council**, Taipei, v.25, p.148-157, 2001.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: **Methods in enzymology**, v. 148, p.350-382, 1987.

LIZASO, J. I.;MELENDEZ, L. M.;RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I. Shoot and root growth. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.24,n.10, p.979-995, 2001.

MAHLER, R.L. et. al. Soils. Nitrogen source, timing of application, and placement: effects on winter wheat production. **Agronomy Journal**, Madison, v.86, p.637-642, 1994.

McCLURE, P.R.; ISRAEL, D.W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean plants. **Plant Physiology**, Rocwille, v.64, n.5, p. 411-416, 1979.

McCLURE, P.R.; ISRAEL, D.W.; VOLK, R.J. Evaluation of the relative ureide content of xylem sap as an indicator of N<sub>2</sub> fixation in soybeans. **Plant Physiology**, Rocwille, v. 66, n.8, p.720-725, 1980.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S. A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: POTAFÓS, 2. ed., 319p, 1997.

MARCHEZAN, E.; VZZOTTO, V.R.; ROCHA, M.G.; MOOJEN, E.L.; SILVA, J.H.S.; Produção animal em várzea sistematizada cultivada com forrageiras de estação fria submetidas a diferentes níveis de adubação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 303-308, 2002.

MARQUES, M.C.M.; JOLY, C.A. Aspectos da germinação e do crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de locais inundados. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.14, n.1, p.113-120, 2000.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 1995. 889p.

MATSUI, T.; TSUCHIYA, T. Root aerobic respiration and growth characteristics of three *Typha* species in response to hypoxia. **Ecological Research**, Tsukuba, n.5, v. 21, p.470-475, 2006.

MERCOSOJA. Congresso Brasileiro de Soja. Produtividade de soja para 2009. <http://www.cbsoja.com.br>. Consultado em 25 de junho de 2009.

MITLER, R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.7, n.9, p.405-410, 2002.

MUSGRAVE, M.E.; VANHOY, M.A. A growth analysis of waterlogging damage in mung bean. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 76, n. 8, p. 2391-2395, 1989.

OHYAMA, T. & XAWAI, S. Nitrogen assimilation and transport in soybeans leaves: investigation by petiole girdling treatment. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokio, v.29, n.1, p.227-231, 1983.

PETERNELLI, M. **Características morfológicas e estruturais do capim-Braquiarião (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) sob intensidades de pastejo**. Pirassununga, SP: USP, 2003. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Piracicaba.

PEZESHKI, S. R.; PARDUE, J. H.; DELAUNE, R. D. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. **Tree Physiology**, Oxford, v. 16, n.1, p. 453-458, 1996.

PIMENTEL, C.; ROSSIELLO, R.O.P. Entendimentos sobre relações hídricas na cultura do milho. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL**

**STRESS**, 1992, Belo Horizonte. Maize in perspective: proceedings. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. Ciudad del México: CIMMYT/UNDP, 1995. p.131-146.

PIRES, J.L.; SOPRANO, E.; CASSOL, B. Adaptações morfo-fisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.1, p.41-50, 2002.

PRYOR, R.J.; DAVISON, N.J. & Close, D.C. 2006. Waterlogging duration; Interspecific comparison of *Leptospermum scoparium* (Forst et Forst.f.), *Acacia melanoxylon* (R. Br.), *Nothofagus cunninghamii* (Hook.) and *Eucalyptus abliqua* (L'Herit). **Austral Ecology**, Carlton, v.31, n.4, p. 408-416, 2006.

REIS, G.G.; REIS, M.G.F.; FONTAN, I.C.I.; MONTE, M.A.; GOMES, N.A.; OLIVEIRA, C.H.R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n.6, p.921-931, 2007.

RIBAS F., et al. Respuesta fisiológica de un cultivo de melón (*Cucumis melo* L.) a distintas dosis de riego. **Investigation Agronomy: Produccion Y Proteccion Vegetal**, Córdoba, v.15, n.3, p.196-212, 2000.

RICHARDS, F. J. The quantitative analysis of growth. In: STEWARD, F. C. (ed.) **Plant Physiology A treatise**. New York: Academic press, 1969, n.1, p.3-76, 1970.

ROMERO, J.L.; MAGAHÃES, P.C.; ALVES, J.D.; DURÃES, F.O.M; VASCONCELLOS, C.A. Efeito do cálcio sobre algumas características biofísicas e morfológicas de plantas de milho BRS -4154 submetidas ao alagamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, n.3, p.21-33, 2003.

ROSA, G.F.; BADINELLI, P.G.; SEVERO, T.M.; PERUSSO, L.P.; BERNARDI, E.; AMARANTE, L. Teores de Clorofila em Genótipos de soja nodulada sob alagamento. IN: XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (XVII) E

ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO (X), 2007. **Anais...** Pelotas/RS. p.388 (cd ROM).

SÁ, J.S. **Influência do manejo do lençol freático e doses de nitrogênio em culturas sob hipoxia do solo.** Piracicaba. Universidade de São Paulo, 2005. 167f (Tese de Doutorado).

SANTIAGO, E.T.; PALOTI, A.A.S. Respostas morfológicas em *Guibourtia hymenifolia* (Moric.) J. Leonard (Fabaceae) e *Genipa americana* L. (Rubiaceae), submetidas ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, v.30, n.1, São Paulo, p.131-140, 2007.

SACHS, M.M.; FREELING, M.; OKIMOTO, R. The anaerobic proteins of maize. **Cell**, Cambridge, v.20, n.4, p. 761-767, 1980.

SCOTT, H.D.; NORMAN, R.J. Rice cropping systems of the southern Mississippi Delta Region of the United States. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23, 1999, Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000, p. 149-154.

SIEBENEICHLER, S. C. et al. Alterações na fotossíntese, condutância estomática e eficiência fotoquímica induzida por baixa temperatura em feijoeiros. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.10 n.1, p.37 - 44, 1998.

SILVA, A. R. Tolerância ao encharcamento. **I Simpósio sobre alternativas ao sistema tradicional de utilização das várzeas do estado do Rio Grande do Sul.** EMBRAPA PELOTAS, 22p. 1984.

SILVA, J.J.C. da; SOUZA, R.M. de; RAUPP, A.A; COELHO, R. W.; RODRIGUES, R. C.; **Introdução e desenvolvimento da agricultura sustentável na restinga da Lagoa Mirim.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 31 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa, 16).

SILVA, F. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 2008. **Anais...** Cancun: American Society of Agricultural Engineers, 2008. p.294-298.

SCALON, S.P.Q; MUSSURY, R.M.; ALMEIDA, K.A; RIGONI, M.R. Efeito do álcool e substrato na germinação de sementes de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth.) colhidas no chão e retiradas da vagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.389-392, 2003.

SCHOLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 2004, v. 28, n.6, p. 973-979.

SENA-GOMES, A.R. & KOZLOWSKI, T.T. 1988. Physiological and growth responses to flooding of seedling of *Hevea brasiliensis*. *Biotropica*, Washington, v.20, p.286-293, 1988.

SMITH, H., CASAL, J J., JACKSON, G.M. Reflection signals and the perception by phytochrome of the proximity of neighbouring vegetation. **Plant, Cell and Environment**, Oxford.v. 13, n.1, p. 73-78, 1990.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology**. Rocwille, California: Plant Science, 2004. 559p.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4<sup>o</sup>ed. Editora Artmed. Porto Alegre, 2008. 820p.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal** –3<sup>a</sup> ed.. ed. Artmed. 2006. Porto Alegre, 719 pp.

THOMAS, A.L.; PIRES, J.L.F.; MENEZES, V.G. Rendimento de grãos de cultivares de soja na várzea. **Pesquisa Agropecuária gaúcha**, Porto Alegre, v.6, n.6, p. 1294-1301, 2000.

THOMAS, A.L. 2004. Modificações morfológicas e assimilação de nitrogênio em plantas de soja (*Glycine max*) com sistemas radiculares sob deficiência de O<sub>2</sub>. **Tese de Doutorado**, Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, UNICAMP, Campinas.

THOMAS, A. L.; GUERREIRO, S.M.C.; SODEK, L.; Aerenchyma formation and recovery from hypoxia of the flooded root system of nodulated soybean. **Annals of Botany**, Oxford, v.96, n.4, p.1191–1198, 2005.

THOMAS, A.L. **Modificações morfológicas e assimilação de nitrogênio em plantas de soja (*Glycine max*) com sistemas radiculares sob deficiência de O<sub>2</sub>**. São Paulo: Universidade de Campinas (UNICAMP), 115f, 2004 (Tese de Doutorado).

TURNER, N.C. Stomatal behavior and water status of maize, sorghum and tobacco under field conditions. II. At low soil water potential. **Plant Physiology**, Rockville, v.53, n.3, p.360-5, 1974.

Van TOAI, T.T.; BEUERLEIN, J.E.; SCHMITTHERNNER, A.F.; MARTIN, S.K.ST. Genetic variability for flooding tolerance in soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. n.10, 1112-1115, 1994.

Van TOAI, T.T.; BOLLES, C.S. Postanoxic injury in soybean (*Glycine max*) seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 97, n. 2, p. 588-592, 1991.

VARTAPETIAN, B.B.; ANDREEVA, I.N.; GENEROZOVA, I.P.; POLYAKOVA, L.I.; MASLOVA, I.P.; DOLGIKH, Y.I.; STEPANOVA, A.Y. Review: functional electron microscopy in studies of plant response and adaptation to anaerobic stress. **Annals Botany**. v.91, n.1, p.155–172, 2003.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, v.7, p.103-132, 1994.

VOGELS, G.D.; VAN DER DRIFT, C. Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, New York, v.33, n.1, p. 143-157, 1970.

YEM, E.W.; COCKING, E.C. 1955. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, London, v.80, p. 209-213.

YODER, B.J. & PETTIGREW-CROSBY, B.E. Predicting nitrogen and chlorophyll content and concentrations from reflectance spectra (400-2500 nm) at leaf and canopy scales. **Remote Sensing of Environment**, New York, v.53, n.1, p.199-211, 1995.

YONEYAMA, T. & ISHIZUKA, J. 15N study on the partitioning of the nitrogen taken by soybeans from atmospheric dinitrogen, medium nitrate or ammonium **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokio, n.3, v.28, p. 451-61, 1982.

WENKERT, W.; FAUSEY, N.R.; WATTERS, H.D. Flooding responses in *Zea mays* L. **Plant and Soil**, The Hague, v.62, n.3, p.351-366, 1981.

ZENZEN, I.L; AMARANTE, L.; COLARES, D.S; OLIVEIRA, M.L; BERNARDI, E. GUIMARÃES, E.L; NASCIEMNTO, J.S. Área Foliar e Volume do Sistema Radicular em Plantas de Soja Inoculadas com Estirpes de *Bradyrhizobium* e Submetidas ao Alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1092-1094, 2007.