

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**LUCAS GUILHERME BULEGON**

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E REGULADORES VEGETAIS NA MITIGAÇÃO  
DOS EFEITOS DA INTOXICAÇÃO POR MESOTRIONA NO MILHO E DO DÉFICIT  
HÍDRICO NA SOJA**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2019**

**LUCAS GUILHERME BULEGON**

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E REGULADORES VEGETAIS NA MITIGAÇÃO  
DOS EFEITOS DA INTOXICAÇÃO POR MESOTRIONA NO MILHO E DO DÉFICIT  
HÍDRICO NA SOJA**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco  
Guimarães

Co-orientador: Prof. Dr. Neumárcio  
Vilanova da Costa

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ**

**2019**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Bulegon, Lucas Guilherme

Azospirillum brasilense e reguladores vegetais na mitigação dos efeitos da intoxicação por mesotriona no milho e do déficit hídrico na soja / Lucas Guilherme Bulegon; orientador(a), Vandeir Francisco Guimarães; coorientador(a), Neumárcio Vilanova da Costa, 2019. 192 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.

1. Inibidores da biossíntese de carotenoides. 2. Trocas gasosas. 3. Atividades enzimática. 4. Estresse oxidativo. I. Guimarães, Vandeir Francisco. II. Costa, Neumárcio Vilanova da. III. Título.



**Universidade Estadual do Oeste do Paraná**  
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



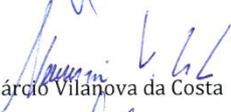
## LUCAS GUILHERME BULEGON

*Azospirillum brasilense* e reguladores vegetais na mitigação dos efeitos da intoxicação por mesotriona no milho e do déficit hídrico na soja

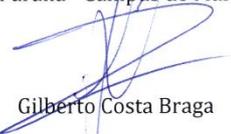
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Manejo de Culturas, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

  
Orientador(a) - Vandeir Francisco Guimarães

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

  
Neumário Vilanova da Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

  
Gilberto Costa Braga

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

  
Samuel Luiz Fioreze

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

  
Valdir Zucareli

Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Marechal Cândido Rondon, 21 de fevereiro de 2019

***A meus pais, Vilma Batistus Bulegon e João Bejamim Bulegon. Ao meu irmão Mateus Eduardo Bulegon. Assim como aos demais familiares, servindo-me como exemplo de educação, sabedoria, sucesso, incentivo e apoio durante mais essa etapa.***

***DEDICO***

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná pela oportunidade de realização do Doutorado em Agronomia. E aos professores pelos conhecimentos transmitidos.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães e ao co-orientador Prof. Dr. Neumárcio Vilanova da Costa pelas orientações, confiança, credibilidade e conhecimento transmitidos durante essa jornada.

Ao Professor Dr. Gilberto Costa Braga pela disponibilização de instalações laboratoriais e dos auxílios na realização das análises.

A Camila Molon Delazeri pelo companheirismo, amizade e compreensão durante o período de realização do doutorado

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Deise Dalazen Castagnara pelos conhecimentos de pesquisa e experimentação transmitidos, os auxílios constantes e a amizade construída.

Aos integrantes do Grupo de Estudos Fisiologia de Plantas Cultivadas no Oeste do Paraná, em especial a André Gustavo Battistus, Roberto Cecatto Júnior, Adriano Mitio Inagaki, Aline Kelly Pomini de Souza, Luiz Claudio Offemann, e Anderson Daniel Suss.

A Capes, CNPq e INCT-Fixação Biológica de Nitrogênio pela bolsa de estudos e recursos para realização do experimento.

A Silvio Douglas Ferreira, Jéssica Cristina Urbanski Laureth e Marcelo Augusto Pastório, pela amizade, auxílio e disposição na condução e análise dos experimentos.

Aos demais amigos e colegas pela convivência, amizade e toda ajuda que recebi durante o decorrer deste doutorado.

E a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desse trabalho

## RESUMO

BULEGON, Lucas Guilherme, Engenheiro Agrônomo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná. ***Azospirillum brasilense* and plant regulators to mitigate the effects of mesotrione intoxication in maize and water deficit in soybean.** Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães. Co-orientador: Prof. Dr. Neumárcio Vilanova da Costa

O uso de herbicidas no controle de plantas daninhas é fundamental na produtividade agrícola, todavia, alguns herbicidas mesmo seletivos resultam em intoxicação das culturas. Outra condição de suma importância é a limitação hídrica que reduz a produtividade das culturas. Assim, a presente tese teve como objetivo avaliar a inoculação da bactéria promotora de crescimento vegetal *Azospirillum brasilense* via semente ou foliar bem como a aplicação de reguladores vegetais via foliar, na redução dos estresses oxidativos causado por herbicida inibidores da síntese de carotenoides no milho e da deficiência hídrica na soja. Para isso, foram desenvolvidos três experimentos com a cultura do milho, sendo um em casa de vegetação para avaliação das variáveis biométricas, fisiológicas e bioquímicas e dois em condições de campo para avaliação da produtividade. Em ambos os locais os experimentos foram desenvolvidos em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 4x2 e quatro repetições. O primeiro fator foi composto dos tratamentos: controle; inoculação das sementes com *A. brasilense*; aplicação foliar de *A. brasilense*; e aplicação foliar de regulador vegetal com auxina, giberelina e citocinina. Os tratamentos foliares foram aplicados em mistura de tanque com o herbicida mesotriona ( $192 \text{ g ha}^{-1}$ ) no estágio V<sub>3</sub> da cultura. O segundo fator foi formado pela presença ou ausência de mesotriona. Os resultados obtidos demonstram que a aplicação de mesotriona reduz as trocas gasosas da cultura do milho e que os tratamentos aplicados não protegem o milho da intoxicação provida pelo herbicida, bem como não incrementam a produtividade da cultura. Para a cultura da soja adotou-se um delineamento de blocos casualizados com cinco tratamentos e cinco repetições: controle irrigado; controle seco; inoculação das sementes com *A. brasilense* em déficit hídrico; aplicação foliar de *A. brasilense* em déficit hídrico; aplicação foliar de auxina, giberelina e citocina em déficit hídrico. A imposição do déficit hídrico ocorreu no florescimento pleno, com avaliações diárias. As avaliações constituíram-se de umidade gravimétrica do solo, teor relativo de água, curvas de respostas fotossintéticas em função de diferentes densidades de fluxo de fótons,

trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, atividade das enzimas do sistema antioxidante, teores de pigmentos fotossintéticos, e componentes de produção por planta ao final do ciclo da cultura. De forma geral os resultados evidenciam que a aplicação foliar de *A. brasilense* ou de regulador vegetal mitigam os efeitos do déficit hídrico na curva fotossintética, nas trocas gasosas, na fluorescência da clorofila *a*, nos pigmentos fotossintéticos e elevam a atividade do sistema enzimático reduzindo a peroxidação de lipídeos. Quando se considera a produção por plantas todos os tratamentos empregados minimizaram as perdas em relação ao tratamento controle seco. Portanto, o uso de *A. brasilense* via semente ou foliar, bem como reguladores vegetais não atenua a intoxicação de mesotriona no milho. No entanto, ao considerar o déficit hídrico na cultura da soja, os tratamentos reduzem as perdas em produção por planta, por mitigarem os danos no sistema fisiológico e bioquímico das plantas.

**Palavras Chaves:** Inibidores da biossíntese de carotenoides. Trocas gasosas. Atividades enzimática. Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

BULEGON, Lucas Guilherme, Agronomist, State University of Western Paraná. **Plant growth promoting bacteria and plant growth regulator in mitigation the effects of mesotrione intoxication in maize and drought in soybean.** Advisor: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães. Coadvisor: Prof. Dr. Neumárcio Vilanova da Costa

The use of herbicides in the control of weeds is fundamental in agricultural productivity, however, some even selective herbicides result in crop intoxication. Another condition of very important condition is the water limitation that reduces the productivity of crops. Thus, this thesis was to evaluate the inoculation of plant growth promoting bacteria *Azospirillum brasilense* in seeds or foliar spray as well plant growth regulator in foliar spray, in reduction of oxidative stress caused by herbicide inhibitors of carotenoid synthesis in maize and drought in soybean. For this, three experiments were developed in corn, one in greenhouse for evaluation of the biometric, physiological and biochemical variables and two under field conditions for evaluation of the production components. In both the local experiments were carried out in randomized blocks in a 4x2, and four replications. The first factor was composed of treatments: control; seed inoculation with *A. brasilense*; foliar spray application with *A. brasilense*; and foliar spray application of plant growth regulation with auxin, gibberellin and cytokinin. Foliar spray treatments were applications in tank mix with herbicide mesotrione ( $192 \text{ g ha}^{-1}$ ) in V<sub>3</sub> stage. The second factor was formed for presence or absence of mesotrione. The results obtained demonstrate that the application of mesotrione reduces the gas exchanges of maize and the treatments applied not protect the maize from the intoxication provided by the herbicide, and do not increase the productivity of the crop. A randomized block design was used for soybean with five treatments and five replications: irrigated control; drought control; seed inoculation with *A. brasilense* in drought; foliar spray application *A. brasilense* in drought; foliar spray application auxin, gibberellin and cytokinin in drought. The imposition of drought occurred in full bloom, with daily evaluations. The evaluation consisted of soil gravimetric moisture, relative water content, photosynthetic response curves in function of different photon flux densities, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzyme activity, photosynthetic pigment content, and production components per plant at the end of the crop. In general, the results show that the foliar spray application of *A. brasilense* or plant growth regulator alleviates the effects of the drought in photosynthetic curves, in gas exchange, in chlorophyll a fluorescence, in

photosynthetic pigment content and increase the activity of the enzyme system by reducing lipid peroxidation. When considering the production by plants all the treatments employed mitigate the losses in relation to the drought control. Therefore, the use of *A. brasilense* via seed or foliar spray application and plant regulators via foliar spray do not bring beneficial effects on the intoxication of corn with mesotrione. However, when considering the drought in the soybean, the treatments soften the losses in yield per plant due to mitigate the effects on plant biochemical and physiological system.

**Key Words:** Inhibitors of carotenoid biosynthesis. Gas exchange. Enzymatic activities. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema resumido da biossíntese de carotenoides e locais de ação dos herbicidas inibidores desta síntese. \* indica o início da rota em questão; \*\* indica que o grupo F3 não possui local de ação específica, sendo esses locais de ação potencial.....33
- Figura 2:** Resumo da rota de ativação do clomazone nos vegetais e o modo de ação do safener diethyl-0-fenyl-fosforotiato na P-450 monooxigenase para maximizar a seletividade do herbicida.....36
- Figura 3:** Resumo da rota de ativação dos herbicidas do grupo F2 na biossíntese de carotenoides nos vegetais e modo de ação do safener Anidro naftálico na P-450 monooxigenase e na Glutathione S-transferase para maximizar a seletividade dos herbicida.....38
- Figura 4:** Diagrama explicativo dos principais efeitos relatados pela intoxicação dos inibidores da HPPD em plantas e como as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) podem atuar mitigando os efeitos negativos, demonstrando um potencial efeito “safener” das BPCV. ....42
- Figura 5:** Curva de resposta fotossintéticas (A) de plantas de milho aos 7 DAA (a) e 14 DAA (b) de mesotriona em funções de diferentes níveis de luminosidade (Q) em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....68
- Figura 6:** Efeitos da incidência da deficiência hídrica sobre a soja; (a) murcha da planta durante o dia devido a perda de turgescência; (b) paraheliotropismo das folhas para reduzir a área foliar da incidência direta de radiação solar e reduzir perdas com transpiração; (c) morte de folhas do terço inferior devido à maior intensidade e duração da deficiência hídrica. ....82
- Figura 7:** Efeitos da incidência da deficiência hídrica sobre raquiária (*Urochloa ruziziensis*); (a) murcha da planta durante o dia devido a perda de turgescência; (b) redução da área foliar exposta a radiação solar para reduzir perdas com transpiração; (c) morte e abortamento de estruturas devido à maior intensidade e duração da deficiência hídrica. ....83
- Figura 8:** Comparação visual da mitigação dos efeitos de perda de turgescência em plantas de soja (a) e da redução da área foliar em *Urochloa ruziziensis* (b) em plantas controle sem inoculação e plantas inoculadas com bactérias

<i>Azospirillum brasilense</i> , submetidas ao déficit hídrico. Nota: Fotos Bulegon (2015; 2016). .....	98
<b>Figura 9:</b> Umidade gravimétrica do solo (Ug) após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura da soja submetida a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal. ....	122
<b>Figura 10:</b> Teor relativo de água (TRA) no tecido foliar após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura da soja submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal. ....	123
<b>Figura 11:</b> Curva de resposta fotossintética para os tratamentos: controle irrigado (A); controle seco (B); inoculação das sementes com <i>A. brasilense</i> (C); aplicação foliar de <i>A. brasilense</i> (D); aplicação foliar de AX+GA+CK (E) aplicados na cultura da soja submetidas ao déficit hídrico no estágio de florescimento em função de diferentes níveis de luminosidade. ....	127
<b>Figura 12:</b> Produção de grãos por plantas de soja após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura submetida a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal. ....	128
<b>Figura 13:</b> Umidade gravimétrica do solo (a) e teor relativo de água (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	144
<b>Figura 14:</b> Assimilação líquida de CO <sub>2</sub> (a) e taxa de transpiração foliar (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	146
<b>Figura 15:</b> Condutância estomática (a) e concentração interna de CO <sub>2</sub> (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	147
<b>Figura 16:</b> Eficiência no uso da água (a) e eficiência instantânea de carboxilação (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes	

tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	149
<b>Figura 17:</b> Acúmulo de malondialdeído - MDA (a) e conteúdo de peróxido de hidrogênio – H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	169
<b>Figura 18:</b> Conteúdo de proteínas solúveis (a) e atividade da Superóxido Dismutase – SOD (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	171
<b>Figura 19:</b> Atividade da Peroxidase -POD (a) e atividade da Catalase – CAT (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	174
<b>Figura 20:</b> Conteúdo clorofila total (a) e de carotenoides total (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	177

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Intoxicação de plantas pertencentes a família Poaceae quando submetidas a aplicação de herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides.....34
- Tabela 2:** Intoxicação (Into - %) e índice SPAD em plantas de milho após a aplicação de mesotriona, bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....62
- Tabela 3:** Teores de pigmentos foliares em folhas de milho 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....63
- Tabela 4:** Atividade da catalase (CAT) e peroxidase (POD) em folhas de milho aos 1 e 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....64
- Tabela 5:** Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em folhas de milho 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....66
- Tabela 6:** Intoxicação aos 10 DAA, índice SPAD e teor de carotenoides em plantas de milho em condições de campo após a aplicação de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016/2017. ....70
- Tabela 7:** Intoxicação aos 10 DAA, índice SPAD e teor de carotenoides em plantas de milho em condições de campo após a aplicação de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Entre Rios do Oeste, 2016/2017.....71
- Tabela 8:** Componentes de produção e produtividade de plantas de milho após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, 2016/2017. ....72

<b>Tabela 9:</b> Resultados quanto a produção de auxina, giberelina, citocinina e ácido abscísico por parte das bactérias promotoras de crescimento vegetal. ....	88
<b>Tabela 10:</b> Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto a produção de hormônios vegetais em condições de déficit hídrico.....	89
<b>Tabela 11:</b> Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto ao desenvolvimento radicular em condições de déficit hídrico. ....	91
<b>Tabela 12:</b> Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto ao sistema antioxidante em condições de déficit hídrico.....	92
<b>Tabela 13:</b> Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto a ação via ACC deaminase em condições de deficiência hídrica. ....	94
<b>Tabela 14:</b> Produção de compostos promotores de crescimento vegetal em meio de cultura por parte das principais espécies de bactérias promotoras de crescimento vegetal. ....	99
<b>Tabela 15:</b> Resumo dos efeitos observados em plantas sobre condição de deficiência hídrica e com a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) atuam na mitigação da deficiência hídrica via os mecanismos exemplificados. ....	100
<b>Tabela 16:</b> Correlação de Person entre as variáveis fotossintéticas, teor de água e produção por planta (g planta <sup>-1</sup> ) de soja submetida a inoculação com <i>A. brasilense</i> ou com aplicação de reguladores vegetais, na presença de déficit hídrico no período de florescimento da cultura. ....	124
<b>Tabela 17:</b> Caracterização de plantas de soja antes da imposição do déficit hídrico em plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	142
<b>Tabela 18:</b> Fluorescência da clorofila em folhas de soja em condições de déficit hídrico severo submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. ....	151
<b>Tabela 19:</b> Componentes de produção e produtividade de soja em condições de déficit hídrico severo submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras	

de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.  
..... 152

**Tabela 20:** Correlação entre trocas gasosas, fluorescência da clorofila a no momento do déficit hídrico severo e componentes de produção com a produção de plantas de soja sob diferentes tratamentos com diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016. .... 154

## LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1:** Temperatura e umidade do ar internas a casa de vegetação durante a condução do experimento em Marechal Cândido Rondon - PR (a) e Temperatura, precipitação e umidade do ar em condições de campo (b) em Marechal Cândido Rondon e Entre Rios do Oeste, 2016/2017. ....189
- Anexo 2:** Temperatura, ponto de orvalho e umidade relativa do ar interno na casa de vegetação na fase de imposição do déficit hídrico e avaliações. ....190
- Anexo 3:** Trocas gasosas diárias avaliadas em plantas de soja após a imposição do déficit hídrico.....191
- Anexo 4:** Curva de calibração elaborada e utilizada para determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em folhas de soja submetidas a deficiência hídrica.....192
- Anexo 5:** Curva de calibração elaborada e utilizada para determinação do teor de proteínas solúveis em folhas de soja submetidas a deficiência hídrica. ....192
- Anexo 6:** Visão geral das plantas após a imposição da deficiência hídrica no florescimento pleno da soja. ....193
- Anexo 7:** Comparação entre as plantas ausentes de deficiência hídrica e com presença de deficiência hídrica no florescimento pleno da soja.....193

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	21
-----------------	----

### CAPÍTULO I

#### MODO DE AÇÃO E MÉTODOS DE PREVENÇÃO DAS INJÚRIAS CAUSADAS PELOS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES

1. INTRODUÇÃO .....	25
2. SELETIVIDADE DE HERBICIDAS.....	27
3. FATORES QUE INFLUENCIAM A SELETIVIDADE EM PLANTAS .....	28
4. SELETIVIDADE DE HERBICIDAS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES.....	31
5. MÉTODOS PARA AUMENTAR A SELETIVIDADE DOS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES .....	35
6. MÉTODOS POTENCIAIS PARA ELEVAR A SELETIVIDADE DOS HERBICIDAS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES ....	39
7. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL PODEM SEREM “SAFENERS”?.....	40
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	43
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	43

### CAPÍTULO II

#### INTOXICAÇÃO DE MESOTRIONA EM MILHO INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* E COM APLICAÇÃO DE REGULADOR VEGETAL

1. INTRODUÇÃO .....	54
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
2.1 CONDUÇÃO E AVALIAÇÕES EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	57
2.2 CONDUÇÃO E AVALIAÇÕES EM CAMPO .....	59
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4. CONCLUSÃO .....	72
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73

### CAPÍTULO III

#### BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL COMO MITIGADORAS DOS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS

1. INTRODUÇÃO .....	80
2. DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS CULTIVADAS .....	81

3.	<b>FORMAS DE UTILIZAÇÃO DAS BPCV's</b> .....	85
4.	<b>UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO</b> .....	87
4.1	PRODUÇÃO DE HORMÔNIOS VEGETAIS.....	87
4.2	PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO RADICULAR .....	90
4.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	91
4.4	ATIVIDADE DA ACC DEAMINASE .....	93
4.5	PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E FOTOPROTETORES.....	94
4.6	FECHAMENTO ESTOMÁTICO E COMPOSTOS OSMOTICAMENTE ATIVOS .....	96
5.	<b>NOVOS ESTUDOS E POTENCIALIDADES PARA A UTILIZAÇÃO DAS BPCV's</b> .....	99
6.	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	100
7.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	101

#### **CAPÍTULO IV**

##### **RESPOSTA FOTOSSINTÉTICA E PRODUTIVAS DA SOJA A *Azospirillum brasilense* OU REGULADOR VEGETAL EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	117
2.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	119
3.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	121
4.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	129
5.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	129

#### **CAPÍTULO V**

##### **TROCAS GASOSAS E PRODUÇÃO DE SOJA COM *Azospirillum brasilense* OU REGULADORES VEGETAIS SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	136
2.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	138
3.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	142
4.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	155
5.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	155

#### **CAPÍTULO VI**

##### ***Azospirillum brasilense* OU REGULADORES VEGETAIS NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE SOJA SUBMETIDA A UM CURTO E SEVERO DÉFICIT HÍDRICO NO FLORESCIMENTO**

1.	INTRODUÇÃO .....	163
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	164
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	168
4.	CONCLUSÃO .....	179
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	179
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	185
	ANEXOS.....	189

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de grãos, com destaque para as culturas do milho e da soja. Ao se considerar a cadeia produtiva do milho a produção estimada do grão considerando as duas épocas de cultivo no Brasil correspondem a 93,6 milhões de toneladas, sendo a segunda cultura em expressão de produção. Por sua vez, a cultura da soja representa a primeira cultura em expressão de produção, sendo que na presente safra a produção estimada da cultura será de 2018,25 milhões de toneladas. Todavia, a produção agrícola está pré-disposta a ocorrência de estresses abióticos, ocasionado por diversos fatores, como a intoxicação por herbicidas e a ocorrência de deficiência hídrica.

A intoxicação de herbicidas incide sobre diversas culturas, no caso do milho destaca-se a fitotoxidez de mesotriona. Este herbicida, é seletivo para a cultura, contudo, dependendo do estágio de desenvolvimento vegetal ocorre a intoxicação das plantas, que apresenta o sintoma clássico de albinismo nas folhas novas das plantas. Esse sintoma, ocorre devido a rota de ação do herbicida que atua na enzima 4-hidroxifenil-piruvato dioxigenase (HPPD), precursora da enzima Fitoeno desaturase, que sintetiza compostos precursores dos carotenoides e quando ocorre a intoxicação das plantas de milho a biossíntese de carotenoides é prejudicada, resultando na fotooxidação das moléculas de clorofilas, devido a dissipação de energia provida pelas carotenoides estar prejudicada.

Ao se considerar a ocorrência do déficit hídrico, as maiores perdas ocorrem quando o déficit hídrico coincide com fase reprodutiva da soja, ou seja, o período de maior demanda hídrica da cultura, o que é agravado, pois na fase também tem-se o aumento da temperatura, elevando assim a demanda hídrica da cultura pela elevação da demanda evapotranspiratória.

Quando considera-se a tolerância a deficiência hídrica o método mais eficiente para obter plantas tolerantes é por meio do melhoramento genético, entretanto a longo prazo com elevado custo. Todavia, a demanda por plantas que tolerem a deficiência hídrica é imediata, pois como exemplificado a ocorrência da falta de água as culturas é um dos principais limitantes de produção atualmente. A ocorrência da intoxicação de mesotriona no milho e do déficit hídrico na cultura da soja culmina em estresse oxidativo, pela formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's), resultando dentre

outros efeitos em redução das trocas gasosas, degradação lipídica e um desenvolvimento inicial mais lento da cultura.

A redução dos efeitos destes estresses ocorre por uma série de respostas vegetais, que envolvem as trocas gasosas, aumento da síntese de enzimas relacionada ao estresse oxidativo, contribuindo para a manutenção da integridade dos tecidos.

Assim, estratégias que visam incrementar os mecanismos de defesa, auxiliam as plantas a superar os estresses de forma mais eficiente. Deste modo, o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), como o *Azospirillum brasilense* torna-se uma opção. Ao se considerar as bactérias promotoras essas atuam em pontos distintos do sistema vegetal através do fornecimento de hormônios vegetais, promoção do crescimento vegetal, estímulos no sistema antioxidante vegetal que leva a proteção para espécies reativas de oxigênio, atividade da enzima ACC deaminase que compete pelo substrato precursor do etileno, estímulos na produção e proteção de pigmentos fotossintéticos, e produção de compostos voláteis e osmólitos que levam a sinalização vegetal para a incidência de estresse oxidativo.

Outra opção são os reguladores vegetais, que são substâncias sintéticas que aplicadas nos vegetais, absorvidos e assimilados incrementam os níveis endógenos de hormônios e auxiliam em processos chaves do desenvolvimento vegetal, como desenvolvimento radicular e de órgãos vegetais e trocas gasosas, podendo maximizar os mecanismos envolvidos de defesa vegetal contra estresse oxidativo.

Além desses efeitos, a BPCV *A. brasilense* e o uso de reguladores vegetais auxiliam no desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva do milho e da soja, pois apresentam baixo impacto ambiental além de incrementarem a produção das culturas.

Neste sentido, o estudo baseia-se que o uso de *A. brasilense* e reguladores vegetais, aplicados via semente ou foliar podem maximizar a ação dos mecanismos de defesa vegetal, reduzindo os efeitos negativos da ocorrência do estresse oxidativo.

Diante do contexto apresentado a presente tese teve como objetivo avaliar a aplicação da bactéria promotora de crescimento vegetal *Azospirillum brasilense* e reguladores vegetais, na redução dos estresses oxidativos causados pela intoxicação de mesotriona na cultura do milho e da incidência da deficiência hídrica na cultura da soja.

## **CAPÍTULO I**

**MODO DE AÇÃO E MÉTODOS DE PREVENÇÃO DAS INJÚRIAS CAUSADAS  
PELOS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES**

**MODE OF ACTION AND METHODS OF PREVENTION OF INJURIES CAUSED BY  
INHIBITORS OF CAROTENOID BIOSYNTHESIS**

**Resumo:** Os herbicidas representam o método mais utilizado no controle de plantas daninhas, todavia, podem causar fitotoxidez na cultura de interesse. Objetivou-se realizar uma revisão sobre os métodos de prevenção das injúrias causadas pelos herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides sobre as culturas. Os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides atuam bloqueando a síntese de novos pigmentos, o que resulta no sintoma de albinismo. As culturas seletivas a esses herbicidas os inativam e os compartimentalizam no vacúolo vegetal, como moléculas sem ação herbicida, contudo, a intoxicação pode ocorrer em plantas no início do desenvolvimento ou em plantas que estão sofrendo algum estresse vegetal. A redução desses efeitos é uma condição desejada, sendo possível pelo uso de “safeners” ou protetores que possuem ações em enzimas chaves como a P-450 monooxigenase e da glutathione S-transferases e reduzem a fitotoxidez dos inibidores dos carotenoides, pois inativam ou não ativam as moléculas herbicidas, que são armazenadas no vacúolo. Outras opções para a redução da intoxicação está no uso de fertilizantes foliares e/ou complexo de nutrientes via tratamento de sementes, além do uso das bactérias promotoras de crescimento vegetal, esses métodos consistem em estimular o crescimento e desenvolvimento vegetal, além de auxiliarem na redução dos efeitos de estresse vegetal, ou seja, reduzem os danos causados no sistema fisiológico e bioquímico vegetal, possibilitando assim menor presença de intoxicação.

**Palavras chaves:** Toxidez de herbicidas. Seletividade. Safeners. Bactérias promotoras de crescimento vegetal.

**Abstract:** Herbicides represent the most used method for controlling weeds, however, they may cause phytotoxicity in the crop of interest. Thus, it was aimed to perform a review of the methods of prevention of injuries caused by carotenoid biosynthesis inhibitors herbicides on crops. The carotenoid biosynthesis inhibitor herbicides act by blocking the synthesis of new pigment, which results in symptoms of albinism. Selective herbicides these cultures and inactivate the compartmentalize the plant vacuole like molecules without herbicidal action, however, intoxication may occur in plants in early development or in plants that are suffering some plant stress. The reduction of these effects is a wish condition, being possible by the use of safeners or protectors that have actions on key enzymes such as P-450 monooxygenase and glutathione S-transferases and reduce the phytotoxicity of carotenoid inhibitors, since

they inactivate or do not activate the herbicidal molecules, which are stored in the vacuole. Other options for the reduction of intoxication are in the use of foliar fertilizers and / or nutrient complex via seed treatment, in addition to the use of plant growth promoting bacteria, these methods consist of stimulating plant growth and development, besides helping to reduce the effects of plant stress, that is, reduce the damages caused in the physiological and biochemical plant system, thus allowing less presence of intoxication.

**Keywords:** Herbicide toxicity. Selectivity. Safeners. Plant growth promoting bacteria.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentro do sistema atual de produção agrícola vários são os fatores que interferem negativamente no desenvolvimento das culturas agrícolas, dentro os quais destaca-se a interferência das plantas daninhas. As plantas daninhas, competem com as culturas por fatores de crescimento, como água, luz e nutrientes, além de serem hospedeiros secundários para pragas e doenças. Nesse sentido são relatadas reduções nas produtividades de até 16% (KOZLOWSKI; KOEHLER; PITELLI, 2009), e de 46% na cultura do feijão-caupi (CORRÊA et al., 2015). Para a soja foram demonstradas perdas de 46% no sistema de semeadura direta e 32% na semeadura convencional (NEPOMUCENO et al., 2007).

Os herbicidas atualmente são ferramentas fundamentais para o sucesso e expansão da agricultura, trazendo inúmeras vantagens aos sistemas produtivos, dentre as quais destaca-se maior agilidade no controle de plantas daninhas, menor uso de mão de obra e maior produtividade das culturas, devido a menor competição entre cultura e plantas daninhas. Contudo, os herbicidas podem trazer efeitos indesejáveis sobre as culturas para quais são seletivos, conhecido como fitotoxidez ou injúrias. Segundo Organization (2007), a fitotoxidez origina-se pelo efeito tóxico que a molécula herbicida causa na planta, pela ineficiente capacidade de metabolização ou compartimentalização dos herbicidas. A seletividade de herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoide ocorre de forma relativa, ou seja, pelo nível diferencial de tolerância das culturas e das plantas daninhas, assim, quando maior a diferença de tolerância entre a cultura e a planta daninha, maior a segurança da aplicação.

A seletividade ocorre nas plantas influenciada pela dose, formulação, localização espacial ou temporal do herbicida, fatores relacionados as características das plantas, retenção e absorção diferencial, estágio de desenvolvimento vegetal e cultivares. Quando os mecanismos de seletividade são prejudicados, pelo uso de dose incorretas, uso de misturas na calda de aplicação e momento de aplicação incorreto, as plantas sofrem parte do efeito do herbicida, resultando em efeito fitotóxico. Portanto, são demonstrados efeitos fitotóxicos de herbicidas seletivos inibidores da biossíntese de carotenoides Mesotriona (OGLIARI et al., 2009; BULEGON et al., 2017) e Isoxaflutole (CAVALIERI et al., 2008) na cultura do milho, causando redução no desenvolvimento inicial e da taxa fotossintética, e na produtividade da cultura, respectivamente.

Visando a redução da fitotoxidez, são utilizados produtos conhecidos como “safeners” que atuam no metabolismo vegetal, maximizando a ação do herbicida, ou reduzindo por meio da menor absorção ou translocação, ou ainda aumentam a taxa de metabolização ou compartimentalização (DAVIES; CASELEY, 1999). Todavia, o uso de “safeners” ainda é pequeno, pois em alguns casos, como na cultura do arroz, resultados evidenciam a interferência negativa na germinação das sementes (MISTURA et al., 2008), somado a baixa disponibilidade de produtos comerciais com essa finalidade. Novas formas de se reduzir os efeitos fitotóxicos dos herbicidas nas culturas são constantemente estudadas, tendo destaque para os fertilizantes foliares (SANTOS et al., 2015; MORAIS et al., 2016) e as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV's) (BULEGON et al., 2017c).

Os fertilizantes foliares atuam em diferentes rotas fisiológicas e bioquímicas vegetais, estimulando o desenvolvimento vegetal. Por sua vez, as BPCV's apresentam uma série de efeitos que amenizam os efeitos de estresses, como incremento na atividade da ACC deaminase, estímulos na atividade antioxidantes e promoção de crescimento vegetal (NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016).

De acordo com o exposto, objetivou-se realizar uma revisão sobre os métodos de prevenção das injúrias causadas pelos herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides sobre as culturas.

## 2. SELETIVIDADE DE HERBICIDAS

Os herbicidas são os agrotóxicos mais utilizados no Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (IBAMA), atualizados em 2016 (IBAMA, 2016). A condição supracitada, só é possível devido a seletividade que os herbicidas exercem sobre a cultura, possibilitando tanto a aplicação em pré-emergência como em pós-emergência das culturas.

A seletividade de herbicidas em plantas ocorre através da dose, formulação, localização espacial ou temporal, fatores relacionados as características das plantas, retenção e absorção diferencial, estágio de desenvolvimento vegetal e cultivares.

A seletividade vegetal aos herbicidas, liga-se a três fatores sendo: 1 - à capacidade de decompor a molécula herbicida mais rapidamente do que as plantas sensíveis tornando a molécula atóxica (DIAS et al., 2003); 2 - a capacidade de compartimentalização, ou seja, a molécula herbicida é conjugada com metabólitos vegetais tornando-se inativa; 3 - ou é compartimentalizada em locais inativos das plantas como o vacúolo (CHRISTOFFOLETI; VICTORIA FILHO; SILVA, 1994).

Todavia, mesmo pela seletividade a aplicação de herbicidas pode resultar em injúrias as quais são denominadas fitotoxidez. Essa condição é representada pelo efeito tóxico que determinada substância ou molécula herbicida causa na planta (SHORT, 1981; ORGANIZATION, 2007), resultando em diversos sintomas que podem variar de acordo com a molécula herbicida ou a cultura de interesse.

Assim, quando um dos mecanismos de seletividade atua ineficientemente, seja, através da atividade mais lenta em consequência de um estresse abiótico, em estágios fenológicos que o desenvolvimento vegetal não possibilita ação de forma completa, ou ainda, quando um fator de seletividade não é respeitado ou influenciado por condições externa, resulta na planta em fitotoxidade (VILA-AIUB; GUNDEL; POWLES, 2013; VENSKE et al., 2015). A fitotoxidez ocorre pois o acúmulo de moléculas com ação herbicida reflete na planta os sintomas do mecanismo de ação do herbicida, porém em escala reduzida, geralmente sendo eliminado pela cultura durante o desenvolvimento, não acarretando em perdas de produtividade final da mesma (CORREIA; DURIGAN; LEITE, 2008; AGOSTINETTO et al., 2016).

Nesse sentido, estudos que busquem formas de minimizar os efeitos fitotóxicos dos herbicidas, são fundamentais pois podem possibilitar o uso de diferentes

ingredientes ativos que favorecem maior controle e diminui a possibilidade de desenvolvimento de tolerância ou resistência das plantas invasoras.

### 3. FATORES QUE INFLUENCIAM A SELETIVIDADE EM PLANTAS

A seletividade das plantas aos herbicidas, pode ser influenciada por fatores como estágio de desenvolvimento, plantas mais desenvolvidas possuem maior capacidade de metabolizar as moléculas herbicidas tendo maior tolerância (VITORINO; CAMPOS; MARTINS, 2014). A aplicação do tembotrione ( $189 \text{ g ha}^{-1}$ ) em plantas de milho com 4 folhas, por exemplo, reduziu a produção de grãos em 12,4% em comparação à aplicação em plantas com 7 folhas, ou seja, a seletividade varia de acordo com o estágio da planta (DAN et al., 2010).

Outra condição que leva a ocorrência de seletividade está ligada aos fatores ambientais, como temperatura e umidade que podem elevar ou reduzir os sintomas, uma vez que a aplicação do mesotriona em diferentes doses e temperaturas, demonstrou que a  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante o dia e  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  a noite, a intoxicação do *Amaranthus palmeri* foi de aproximadamente 95%, enquanto o controle feito em temperaturas de  $32,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$  diurno e  $22,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$  noturno, apresentou intoxicação de 65% na dose de  $26,25 \text{ g i.a.}$  (GODAR et al., 2015).

Ainda tem-se que a seletividade pode ser influenciada por fatores ligados a genética da planta, assim são demonstrados que na mesma espécie os níveis de toxicidade são variados. Em estudos como o tembotrione em três cultivares de milho a ocorrência da intoxicação foi de 17,5% na cultivar ADR-300, enquanto a cultivar ADR-7010 apresentava 23,5% de intoxicação, aos 7 DAA (DAN et al., 2010). Na cultura da cana-de-açúcar o desempenho fisiológico foi influenciado pela cultivares em estudo, sendo evidenciado que entre cinco cultivares, duas cultivares a IACSP95-5000 e RB867515 foram menos afetadas pelo clomazone ( $1200 \text{ g ha}^{-1}$ ), ametryn ( $1000 \text{ g ha}^{-1}$ ) e a mistura clomazone + ametryn ( $1000+1500 \text{ g ha}^{-1}$ ) (ARANTES et al., 2013).

A tecnologia de aplicação representa outro fator ligado a seletividade, podendo remeter a elevação da ocorrência de intoxicação da cultura, dentro dessa condição estão inseridos vários fatores como a qualidade da água, uso de adjuvantes, horário da aplicação, velocidade de aplicação, escolha das pontas e uniformidade de deposição das gotas. A qualidade física e química da água são essenciais para o sucesso da aplicação (QUEIROZ; MARTINS; CUNHA, 2008). O uso de água com 405

mg L<sup>-1</sup> de carbonato de cálcio e silicatos elevaram em 25% a fitotoxidez de paraquat no feijoeiro quando comparado com água destilada (DAMANAKIS et al., 1970).

O uso de adjuvante por aumentar o espalhamento das gotas nas superfícies foliares pode aumentar a absorção do ingrediente ativo e aumentar a intoxicação das plantas, e conseqüentemente a seletividade pode ser reduzida (QUEIROZ; MARTINS; CUNHA, 2008). Na cultura do café, a toxicidade de adjuvantes óleo mineral ou vegetal isolados causaram injúrias nas plantas (SANTOS; POZZA; SOUZA, 2017). Os mesmos autores também estudaram os efeitos da intensidade de luz, relacionados ao horário da aplicação, sobre a fitotoxidez de plantas, logo o aumento da intensidade luminosa, leva ao aumento da ocorrência de fitotoxidez por parte dos adjuvantes estudados.

Na soja o uso de adjuvantes para os herbicidas haloxifop-metil, quizalofop-etil e fluazifop-p-butil, elevou o controle de plantas daninhas na cultura sem reduzir a produtividade final, demonstrando efeito benéfico da utilização, sem causar prejuízos a cultura (PERESSIN; VICTORIA FILHO; PERECIN, 1997).

Outra condição que interfere na seletividade e eleva a ocorrência de fitotoxidez está relacionada a mistura de tanque, seja entre herbicidas, ou herbicidas e outros produtos como inseticidas. A mistura entre herbicidas quando resulta em resposta maior que a esperada resulta em ação sinérgica; quando o resultado é menor que o esperado a mistura tem ação antagônica.

Nesse sentido, na cana-de-açúcar com 45 dias de desenvolvimento a aplicação de mesotrione (120 g ha<sup>-1</sup>) e metribuzin (1920 g ha<sup>-1</sup>) resultou em 4,0% e 4,5% de intoxicação aos 15 DAA, respectivamente, enquanto a mistura de tanque mesotrione + metribuzin (120 + 1920 g ha<sup>-1</sup>), apresentou intoxicação de 13% aos 15 DAA (CARVALHO et al., 2010), evidenciando que em mistura a seletividade dos herbicidas é reduzida, tendo um efeito sinérgico para a intoxicação.

Para outros mecanismos de ação a menor seletividade é demonstrado quando em mistura, o uso de glyphosate (1200 g ha<sup>-1</sup>), lactofen (180 g ha<sup>-1</sup>) e a mistura de glyphosate+ lactofen (600 + 96 g ha<sup>-1</sup>) na soja em V<sub>3</sub> elevam a ocorrência de fitotoxidez aos 3 DAA, sendo observado valores de 2,5% para a aplicação de glyphosate, 38,8% para lactofen e 62,5% para a mistura entre ambos, tendo um efeito sinérgico para a intoxicação (CORREIA; DURIGAN; LEITE, 2008). Ainda na soja o efeito sinérgico da mistura de herbicidas foi demonstrado quando utilizou-se a mistura lactofen + chlorimuron-ethyl + haloxyfop-methyl (96 + 12,5 + 42 g ha<sup>-1</sup>) com fitotoxidez

de 51,25% aos 5 DAA, enquanto o uso de lactofen + chlorimuron-ethyl (96 + 12,5 g ha<sup>-1</sup>) resultou em 32,50% de intoxicação, demonstrando que o haloxyfop-methyl incrementa o nível de fitotoxicidade (BARROSO et al., 2008).

Quando se considera a interação entre herbicida e inseticidas em mistura de tanque na cultura do milho, a aplicação de mesotrione + atrazina (120 + 1500 g ha<sup>-1</sup>) resultou em fitotoxidez de 3,75% aos 7 DAA, por sua vez a mistura mesotrione + atrazina (120 + 1500 g ha<sup>-1</sup>) + Chlorpirifos (240 g ha<sup>-1</sup>) resultou em intoxicação de 10,50% e enquanto a mistura mesotrione + atrazina (120 + 1500 g ha<sup>-1</sup>) + lambdacyhalothrim (10 g ha<sup>-1</sup>) teve intoxicação de 4,25% (NICOLAI et al., 2006a). Na cultura do algodão, o uso do inseticida carbamato aldicarb (0,84 kg ha<sup>-1</sup>) e do organofosforado dimethoate (0,14 kg ha<sup>-1</sup>) na linha de plantio associado com doses de clomazone (0,0; 0,56; 0,84; 1,12 kg ha<sup>-1</sup>) em pré-emergência, resultaram em redução na população de plantas e aumento da intoxicação das plantas com pico de 51% na maior dose de clomazone (YORK; JORDON; FRANS, 1991).

O aumento da intoxicação de plantas quando se tem a interação herbicidas e inseticidas, ocorre também para outros mecanismos de ação de herbicidas, como evidenciado no milho para o Nicosulfuron, inibidor da ALS (30 g ha<sup>-1</sup>) promoveu fitotoxidez máxima próximo a 20% aos 7 DAA. Porém quando realizou-se a mistura em tanque de Nicosulfuron (30 g ha<sup>-1</sup>) + Chlorpirifos (240 g ha<sup>-1</sup>) a fitotoxidez foi elevada aos 7 DAA com valores superiores a 60% (SILVA et al., 2005a).

Além dos fatores supracitados, são relatadas outras condições que resultam em fitotoxidez em plantas, uma delas é ligada aos tratamentos do solo realizados em pré-plantio, como na cultura da cana-de-açúcar. Em estudos envolvendo a presença de nematicidas no sulco de plantio e herbicidas pré-emergentes foram demonstrado que os nematicidas elevam a fitotoxicidade do herbicida Clomazone na dose de 1000 g i.a (BARELA; CHISTOFFOLETI, 2006).

O uso de fertilizantes foliares técnica consolidada no Brasil, traz respostas variadas quanto a sua utilização, essas respostas associam-se a dose, formulação do fertilizante foliar, forma de absorção, sítios de ação no vegetal. Assim, essa condição demanda maiores estudos para identificar seu potencial para cada cultura e sua interação com os vários mecanismos de ação e princípio ativo dos herbicidas. Os resultados encontrados são variados de acordo com os fatores supracitados, tendo efeitos de proteção para a fitotoxidez, onde o uso fertilizante foliar composto por ácidos húmicos e fúvicos, glicina-betaina e zeatina, além de magnésio associado a mistura

de herbicidas glyphosate + lactofen aplicados no estágio V<sub>4</sub> da cultura da soja, evidenciam potencial de reduzir os efeitos fitotóxicos dos herbicidas, além de elevar em 6,75% a produtividade final da cultura (SANTOS et al., 2015).

Contudo, também são reportados ausência de respostas quanto a redução de fitotoxidez, como na soja com a mistura de lactofen + tepraloxdim (168 + 100 g ha<sup>-1</sup>), associada ao fertilizantes foliar composto por: N, P, K, Mo, B, Cu, Mn, Zn, Mg e S, que não reduziu a incidência de fitotoxidez sobre a cultura (MORAIS et al., 2016). Enquanto, Nelson et al., (2012), reportam diferentes toxidades de glifosato em soja quando utilizou diferentes doses e fontes para aplicação de potássio foliar variando de 2% a 10%.

Desta forma, a fitotoxidez ocorre principalmente pelo fator seletividade e tolerância das plantas. Todavia, vários outros fatores podem elevar a fitotoxidade contudo em menor escala que o fatores anteriores, assim uma série de novos estudos necessitam ser desenvolvidos para identificar as melhores condições de aplicação dos diferentes herbicidas existentes nas diversas culturas que os mesmo são registrados e recomendados, visando sempre a ocorrência da menor fitotoxidez, pois mesmo, as plantas tendo potencial de recuperação, danos a curto prazo ocorrem no mecanismo fisiológico e bioquímico, tendo gasto energético para recuperação da intoxicação.

#### **4. SELETIVIDADE DE HERBICIDAS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES**

Os herbicidas que apresentam como mecanismo de ação a inibição da biossíntese de carotenoides são pertencentes aos grupos F1, F2 e F3 de acordo com a “Herbicide Resistance Action Committe” (HRAC) e aos grupos 11, 12, 13 e 27 de acordo com a “Weed Science Society of America” (WSSA) (OLIVEIRA Jr, 2011). Os herbicidas pertencentes a estes grupos agem em diferentes locais na rota da biossíntese de carotenoides, bloqueando a síntese deste pigmento, o que causa sintoma característico, o albinismo.

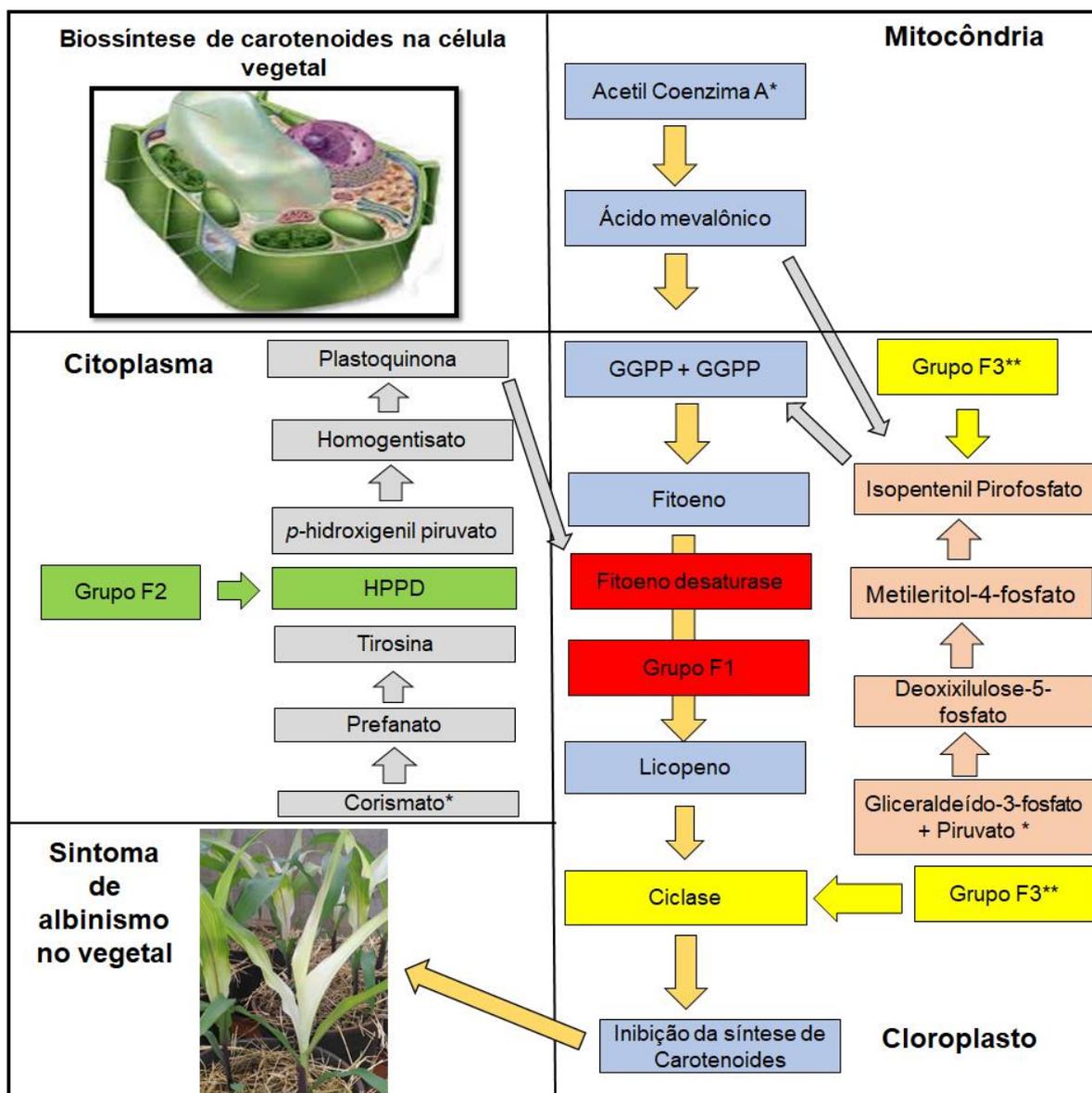
Os herbicidas pertencentes ao grupo F1 (grupo químico das piridazinonas) bloqueiam a enzima Fitoeno desaturase necessária para a produção de licopeno após duas reações de dehidrogenação do Fitoeno. O licopeno por sua vez, é precursor da produção de beta (β) e alfa (α) caroteno que por hidroxilação resulta na produção de xantofilas. Assim, com o bloqueio da síntese da enzima Fitoeno desaturase, não

ocorre a formação de licopeno não sendo possível a formação de carotenoides, e por consequência o acúmulo de fitoeno, o que leva a planta produzir tecidos albinos.

Os herbicidas do grupo F2 (grupo químico das tricetonas e isoxazoles) por sua vez atuam como inibidores da enzima 4-hidroxifenil-piruvato dioxigenase (HPPD), no citoplasma vegetal, que tem a função de converter o p-hidroxigenil piruvato para a biossíntese da plastoquinona, que por sua vez é uma cofatora na produção da enzima fitoeno desaturase no cloroplasto, desta forma não ocorre a produção do licopeno, e acúmulo de fitoeno na planta, e os sintomas de albinismo. Além do citado os herbicidas do grupo F2 tem efeito no bloqueio do transporte de elétrons para o fotossistema II, pela menor presença de plastoquinona (CARVALHO, 2013).

Os herbicidas pertencentes ao subgrupo F3 (grupo químico dos triazoles) ainda não possui o mecanismo de ação definido pela literatura, sendo apontado para duas rotas de ação possível, a primeira sugere que esses herbicidas agem no processo da ciclase, ou seja, na hidroxilação do licopeno, não tendo a produção de pigmentos carotenoides e com a degradação do licopeno pelo efeito da fotooxidação.

Outro modo de ação, mais específico para o herbicida do grupo F3 clomazone, está na que na sua forma oxidada de 5-ceto-clomazone atua na inibição da enzima Deoxixilulose-5-fosfato sintase, enzima da síntese do metileritol-4-fosfato que é precursora do Isopentil pirofosfato (IPP) que por sua vez tem ação na formação da geranylgeranyl difosfato (GGPP), na rota do ácido mevalônico, tendo ausência de GGPP não se tem substrato para ação da enzima Fitoeno desaturase consequentemente formação de tecidos albinos (FERHATOGLU; BARRETT, 2006).



**Figura 1:** Esquema resumido da biossíntese de carotenoides e locais de ação dos herbicidas inibidores desta síntese. \* indica o início da rota em questão; \*\* indica que o grupo F3 não possui local de ação específica, sendo esses locais de ação potencial. Fonte: Mallory-Smith; Retzinger, 2003; Oliveira Jr (2011). Adaptação: Bulegon (2018).

Considerando o mecanismo de ação dos inibidores dos carotenoides e seus respectivos grupos químicos e ingredientes ativos, foi realizada uma compilação dos resultados relatados na literatura para a aplicação em plantas cultivadas pertencentes a família Poaceae (Tabela 1).

**Tabela 1:** Intoxicação de plantas pertencentes a família Poaceae quando submetidas a aplicação de herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides.

Grupo químico	Ingrediente ativo	Espécie	Dose (g ha <sup>-1</sup> )	Sintomas	Principais consequências as plantas	Fonte
Tricetonas (F2)	Mesotriona	Milho	192	Branqueamento ou amarelecimento em folhas novas do milho. Intoxicação máxima de 32% aos 9 DAA.	Menor desenvolvimento inicial. Redução da taxa fotossintética em 78% ao 1 DAA, 66% aos 2 DAA e 75% no terceiro DAA, respectivamente.	Bulegon et al. (2017) Ogliari et al. (2009);
	Mesotriona	Milho pipoca	192	Clorose inicial das folhas, a qual evoluiu para o albinismo das folhas e podendo causar morte da planta. Intoxicação de 77,5% aos 2 DAA na cultivar Beija-flor, chegando a 100% na cultivar SE-013 aos 4 DAA	Menor acúmulo de massa seca e área foliar aos 39 DAA.	Freitas et al. (2009)
	Tembotrione	Milho pipoca	100,8	Clorose em folhas que podem evoluir para necrose em condições severas. Intoxicação de 50% aos 2 DAA na cultivar PA-038, porém na cultivar Angela e UFV a intoxicação foi de 7,5% aos 2 DAA. Ausência de intoxicação para todos os cultivares aos 12 DAA.	Redução na massa seca e área foliar apenas na cultivar PA-038.	Freitas et al. (2009)
	Tembotrione	Sorgo	88,2	Branqueamento nas folhas, extravasamento de conteúdo celular e necrose dos tecidos. Intoxicação máxima de 37% aos 8 DAA	Não reduzindo a concentração de clorofilas e não provocou fotoinibição	Cunha et al. (2016)
Isoxazoles (F2)	Isoxaflutole	Milho	120	A aplicação em pré-emergência resultou no branqueamento dos tecidos com eventuais necroses, principalmente nas folhas recém-expandidas, nos primeiros dias do ciclo. Intoxicação de 40% aos 7 DAA, alcançando o máximo de 60% aos 14 DAA.	Redução na altura de planta e diâmetro de colmo, e de 8,5% na produtividade final da cultura.	Cavaliere et al. (2008)
		Cana-de-açúcar soqueira	127,5	Injúrias observadas foram um intenso amarelo com manchas brancas nas folhas da cultura. Intoxicação máxima de 20% aos 15 DAA, na aplicação aos 20 dias após a colheita. Intoxicação máxima de 40% aos 15 DAA na aplicação aos 42 dias após a colheita	Redução de 12,5% na produção de colmos de cana-de-açúcar	Azania et al. (2006)
Isoxazolidinonas (F3)	Clomazone	Milho	1000	Durante o desenvolvimento inicial das plântulas foram observadas um intenso amarelo com manchas brancas nas folhas da cultura e albinismo total das plântulas. Intoxicação de 50% aos 7 DAA e de 25% aos 14 DAA,	Redução no teor de clorofila de 60% aos 10 DAA, não sendo avaliado a produtividade da cultura.	Karam et al. (2003)

Constata-se que os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides resultam em ação fitotóxica em poaceas, com diferentes níveis de intoxicação, bem como efeitos diferenciados nas diferentes espécies vegetais estudadas. Entretanto, destaca-se que os resultados apresentados na Tabela 1 apenas o Mesotriona apresenta registro para a cultura do milho para aplicação em pós-emergência da cultura e o Isoxaflutole apresenta registro para aplicação em pré-emergência da cultura, os demais efeitos observados são demonstrados em estudos que visam identificar a seletividade e/ou tolerância das culturas para determinado herbicida, que embora se mostrem seletivos nos estudos, apresentam intoxicação que prejudicam alguma fase de desenvolvimento vegetal.

## **5. MÉTODOS PARA AUMENTAR A SELETIVIDADE DOS INIBIDORES DA BIOSSÍNTESE DE CAROTENOIDES**

Um dos métodos mais utilizados para reduzir a incidência de fitotoxidez para as culturas refere-se ao uso dos “safeners” ou antídotos ou protetores. Os safeners são aplicados preferencialmente via tratamento de semente, entretanto, podem ser aplicados na mistura com o herbicida.

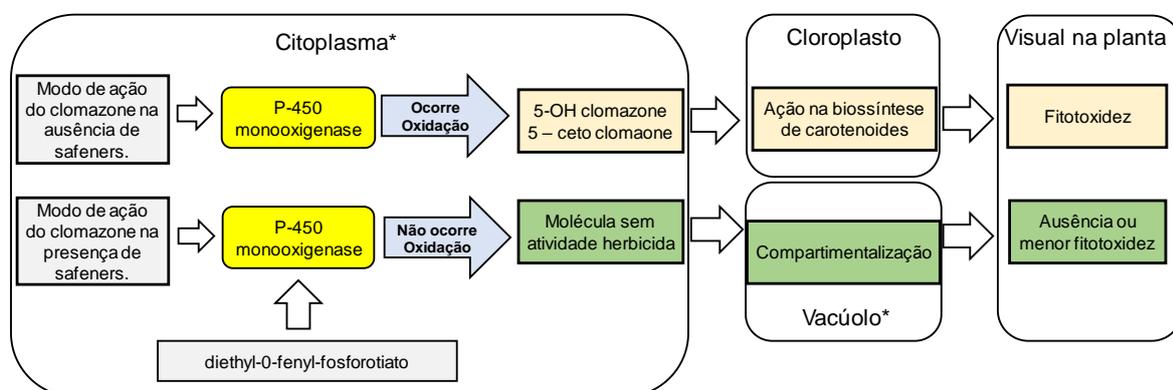
Os safeners possuem diferentes modos de ação, podendo ser utilizados para maximizar a ação dos herbicidas. O modo de ação será nos sítios do mecanismo de ação, resultando em aumento da toxidez nas enzimas alvos e limitando ação nas demais enzimas vegetais. Todavia, quando os safeners são utilizado para a redução do efeito fitotóxico do herbicida atuam de forma a reduzir a absorção e translocação do herbicida, ou elevando a taxa de metabolização do herbicida na planta (DAVIES; CASELEY, 1999).

São relatados para os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides dois tipos de safeners: o “diethyl-0-fenyl-fosforotiato - dietholate” para o herbicida Clomazone; e o safeners Anidrido naftálico para os herbicidas inibidores da enzima HPPD como o mesotriona e isoxaflutole (GALON et al., 2011). O “safener” dietholate atua nas plantas reduzindo a toxicidade dos herbicidas por meio da inibição da enzima citocromo P-450 mono-oxigenase que é responsável pela ativação do clomazone.

Como o clomazone é aplicado na forma de pré-herbicida a ativação se faz necessário para que ele atue como herbicida na planta que a molécula pré-herbicida necessita ser oxidada pela P-450 mono-oxigenase para a forma 5-OH clomazone em

milho ou 5-ceto clomazone no caso da soja, sendo nessas forma tóxico as plantas (YUN et al., 2005; FERHATOGLU; BARRETT, 2006).

Ainda são citados, em estudos em cloroplastos isolados de espinafre, que a oxidação do pré-herbicida clomazone em moléculas ativas, pode ocorrer primeiramente em 5-OH clomazone um intermédio de menor toxicidade e posteriormente em 5-ceto clomazone, com maior nível de toxicidade, sendo que ambas as formas causam os sintomas de albinismo (FERHATOGLU; BARRETT, 2006). Os mesmos autores citam ainda que a oxidação do pré-herbicida clomazone pela P-450 monooxigenase não ocorre dentro do cloroplasto vegetal. Assim, possivelmente a oxidação ocorra no citoplasma da célula e posteriormente é transportada de forma ainda desconhecida ao cloroplasto na forma oxidada com ação herbicida, onde bloqueia a ação da IPP, possivelmente (Figura 2).



**Figura 2:** Resumo da rota de ativação do clomazone nos vegetais e o modo de ação do safener diethyl-0-fenyl-fosforotato na P-450 monooxigenase para maximizar a seletividade do herbicida.

Fonte: ferhatoglu; Avdiushko; Barrett, (2005); Yu; Powles, (2014). Adaptação: Bulegon (2018). \* indica locais potencial de ocorrência.

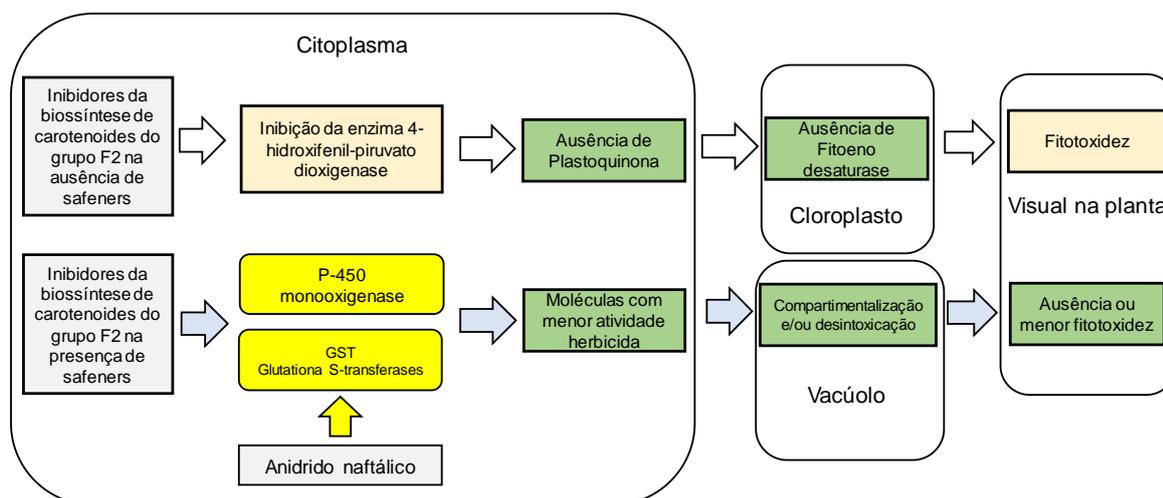
Quando se realiza o tratamento com os safeners a ação da enzima P-450 monooxigenase passa a ser inibida, não tendo a oxidação da molécula pré-herbicida para sua forma herbicida, resultando em menor concentração da molécula com ação herbicida no citoplasma e conseqüentemente menor concentração nos cloroplastos, sendo as moléculas não oxidadas compartimentalizadas no vacúolo vegetal, remetendo no aumento da seletividade do clomazone, causando menor intoxicação das plantas.

Embora o diethyl-0-fenyl-fosforotiato (dietholate) seja um produto específico para se reduzir a incidência de fitotoxidez em culturas maximizando a seletividade do herbicida, no Brasil sua utilização é pequena sendo mais evidente na cultura do arroz irrigado. Na cultura do arroz irrigado o uso de dietholate na dose de 500 g para 100 kg de semente resultou na redução do efeito fitotóxico do herbicida clomazone em diferentes doses (SANCHOTENE et al., 2010).

Na cultura do algodão o uso de dietholate (400 g para 100 kg) de semente resultou em ausência de sintomas de fitotoxidez de clomazone e elevou a produção de algodão em carroço em 55% em relação a testemunha (INOUE et al., 2014). No milho a dose de 500 g para 100 kg de semente de dietholate demonstrou potencial em proteger a cultura dos da degradação da clorofila, onde as sementes não tratadas tiveram 50% de degradação da clorofila com 784 g ha<sup>-1</sup> de clomazone, sendo que para sementes tratadas com o dietholate a degradação de clorofila de 50% foi atingida na dose de 1740 g ha<sup>-1</sup> aos 10 DAA (KARAM et al., 2003).

Todavia, foram relatados para o dietholate a ocorrência de efeitos negativos na cultura do arroz em que o uso da dose de 1000 g para 100 kg de sementes, reduziu a germinação das sementes de arroz em 9,1%, o índice de velocidade de emergência em 11,1% e inibiu o crescimento da parte aérea das plântulas em 14,4% (MISTURA et al., 2008). Adicionalmente o “safeners” pode reduzir a efetividade do controle de plantas daninhas, quando em mistura de tanque para aquelas daninhas que apresentam fisiologia semelhante a cultura de interesse. Em aplicação do “safener” em mistura de tanque as plantas daninhas se beneficiaram da ação protetora, e tiveram seu controle reduzido (ABU-QARE; DUNCAN, 2002; GALON et al., 2011).

O mecanismo de ação do anidrido naftálico ainda é um processo pouco explorado, tendo no trabalho de Davies et al. (1998), na cultura do milho o relatado que esse “safener” não atua na planta reduzindo a concentração de herbicidas, ou seja, não atua reduzindo a absorção de herbicidas, e sim elevando a atividade da enzima citocromo P-450 monooxigenases e da glutathione S-transferases (GST), que agem na desintoxicação de herbicidas (Figura 3). Nesse sentido são reportados incrementos em 69% na atividade da GST em plantas com aplicação de S-metolachlor tratadas com o “safener” fluxofenim via tratamento de semente na dose de 40 mL para cada 100 kg de sementes de trigo (SILVA et al., 2011).



**Figura 3:** Resumo da rota de ativação dos herbicidas do grupo F2 na biossíntese de carotenoides nos vegetais e modo de ação do safener Anidrido naftálico na P-450 monooxigenase e na Glutathiona S-transferase para maximizar a seletividade dos herbicidas.

Fonte: Davies et al. (1998). Adaptação: Bulegon (2018).

Os estudos com o “safener” Anidrido naftálico relatam resultados positivos na redução dos sintomas de fitotoxidez de herbicidas isoxaflutole na cultura do milho, onde plantas com o safener apresentaram fitotoxidez de 2,6% aos 14 DAA enquanto as plantas sem o safener apresentava 56% de intoxicação (MACIEL, 2004). Para a cultura do sorgo, o anidrido naftálico, via tratamento de sementes, exerceu efeito protetor na cultura para mistura entre Atrazine + S-metolachlor + isoxaflutole aplicado em pré-emergência, com intoxicação de 3,5% aos 15 dias após a emergência (DAE) na presença do safener e de 6,25% na ausência do safener (MACIEL et al., 2017). Em gramíneas forrageiras, o uso do anidrido naftálico, associado ao isoxaflutole protegeu as forrageiras de interesse da toxidez tendo 77,5% de intoxicação aos 28 DAA sem o safener e com o safener a intoxicação foi reduzida a 50% (MACIEL, 2004).

Portanto, como os “safeners” agem a níveis enzimáticos reduzindo a ação do herbicida sobre a cultura de interesse, tornam-se alternativas para o manejo de plantas daninhas em culturas que apresentam limitação quando a determinados herbicidas, podendo garantir a seletividade do herbicida mesmo a culturas que apresentam problemas com a intoxicação.

Partindo do exposto, o uso de “safeners” mostra-se uma opção viável para maximizar a seletividade de herbicidas, e conseqüentemente reduzir a incidência de fitotoxidez causada por herbicidas inibidores da síntese de carotenoides em plantas.

## 6. MÉTODOS POTENCIAIS PARA ELEVAR A SELETIVIDADE DOS HERBICIDAS INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE CAROTENOIDES

Considerando que os “safeners”, atuam estimulando ou reduzindo a atividade enzimática dependendo do herbicida utilizado, ou auxiliando no processo de metabolização dos herbicidas (DAVIES; CASELEY, 1999), tratamentos que elevam a atividade enzimática ou que estimulam o desenvolvimento vegetal, podem auxiliar a reduzir nas plantas os efeitos da fitotoxidez. A redução dos efeitos tóxicos pode ocorrer de forma a demonstrar menor sintomas ou em apresentar redução do tempo de intoxicação.

Estudos buscam maximizar a seletividade de herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides nas culturas, via tratamento de sementes e/ou aplicação foliar, com produtos que possuem ações não específicas para a prevenção da fitotoxidez, mas que indiretamente trazem resultados satisfatórios, além de elevarem os parâmetros produtivos das culturas, dentre desses destaca-se o uso de nutrientes via tratamento de sementes ou aplicação foliar, também se tem conhecimento que práticas de manejo do solo podem levar a redução da fitotoxidez.

Ao se considerar o uso de nutrientes, os estudos desenvolvidos na cultura do algodão demonstraram que o uso de acetato de zinco amoniacal via tratamento de sementes auxiliou a redução da fitotoxidez de clomazone na dose de 1200 g ha<sup>-1</sup> (SILVA; SANTOS, 2011). O uso de fertilizante misto contendo 16,00% de N; 3,53% de Zn; 0,02% de B; 0,15% de Mn; 0,15% de Cu; 0,15% de Fe, na dose de 8 mL kg<sup>-1</sup> de sementes associado ao clomazone (1000 g ha<sup>-1</sup>), reduziu a incidência de fitotoxidez na cultura do algodão, a aplicação de clomazone resultou em intoxicação de 10%, 8,50% e 12,5%, por sua vez quando associado com o uso de nutrientes + clomazone obteve-se intoxicação de 7,50%, 6,50% e 0,05% aos 7 DAA, 21 DAA e 28 DAA, respectivamente (INOUE et al., 2012).

O manejo da palhada representa uma opção para reduzir a incidência de fitotoxidez para aqueles herbicidas que possuem atividade no solo, como o clomazone. Assim a fitotoxidez foi reduzida com presença de palhada do solo em plantas de alface consideradas indicadoras, com valores de 38% de intoxicação em solo desprovido de palhada e 11% de intoxicação aos 7 dias após a semeadura em solo com 1500 kg ha<sup>-1</sup> de palhada (RODRIGUES, 1993). Essa condição deve-se a

capacidade de retenção de herbicida pela palhada resultando em menor quantidade de moléculas herbicidas no solo, o que reduziu a intoxicação das plantas.

Embora os fertilizantes foliares apresentam potencial de minimizar os efeitos fitotóxicos de herbicidas, esses ainda demandam maior gama de estudos que evidenciem como os mesmos atuam no sistema vegetal a fim de determinar seus prós e contras quando associados a herbicidas sobre as culturas. Por sua vez, o uso de palhada mostre efeitos positivos, seus resultados são escassos e dependente de condições de homogeneidade de deposição da palhada sobre o solo e massa de palhada depositada sobre o solo, o que eleva seu risco de utilização em condições agrícolas.

Por fim, o uso de fertilizantes foliares apresenta maior potencial, pois os efeitos dos diferentes nutrientes estimulam o desenvolvimento vegetal, podendo aumentar a seletividade dos herbicidas, devido a incrementos em fatores que garantem a seletividade as plantas, ou ainda atuarem em locais-chaves nos vegetais.

## **7. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL PODEM SEREM “SAFENERS”?**

O modo de ação dos inibidores da biossíntese de carotenoides resulta em fotooxidação e a utilização de tratamentos que representem na planta incrementos na atividade enzimática, manutenção dos níveis de pigmentos foliares em folhas não afetadas e estímulos no desenvolvimento vegetal podem auxiliar na redução dos efeitos da fitotoxidez, principalmente durante o desenvolvimento inicial, visto que a fitotoxidez de herbicidas seletivos não reduzem a produtividade final da cultura (ROSO; VIDAL, 2011). Assim, tem-se como opção com potencial para minimizar os efeitos fitotóxicos dos herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides as bactérias promotoras de crescimento vegetal.

Partindo do estudo com a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* associada a adubação nitrogenada em cobertura em V<sub>4</sub>, que incrementou em 52,4% a atividade da enzima peroxidase na cultura do milho com aplicação do herbicida mesotriona (192 g ha<sup>-1</sup>) no estágio V<sub>3</sub> (BULEGON et al., 2017), será abordado as potencialidades de uso da bactéria promotora de crescimento vegetal (BPCV) *A. brasilense* via inoculação das semente ou pela aplicação da BPCV em

mistura de tanque com os herbicidas como potencial “safener” para os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides que atuam na inibição da HPPD,

A possibilidade de uso foliar das BPCV's ocorre para as bactérias com capacidade de colonizar os tecidos vegetais, as espécies endofíticas como exemplo (OLIVARES et al., 2017). Essa técnica apresenta as seguintes vantagens: proximidade com os sítios de ação; menor competição com outros microrganismos e fatores de crescimento no filopiano das folhas e potencial de reduzir a presença de bactérias e fungos patogênicos (SUDHAKAR et al., 2000), além de incrementar a fixação biológica de nitrogênio e dos demais nutrientes (VESSEY, 2003).

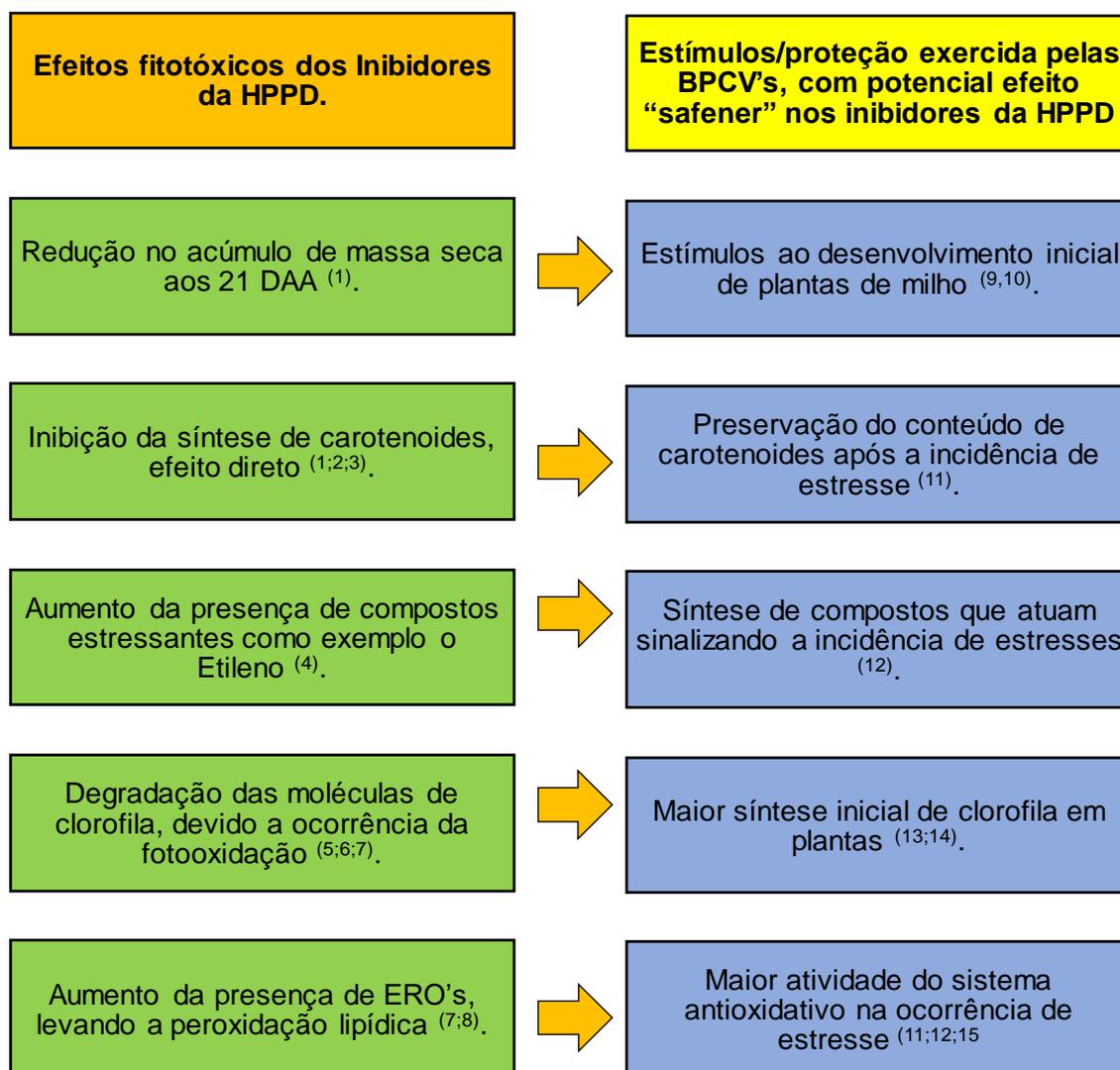
Um dos principais pontos quanto ao uso da BPCV e o herbicida está na seletividade do herbicida para a sobrevivência da bactéria. Quando se considera a associação dos herbicidas com a bactéria *A. brasilense*, foram demonstrados que em meio de cultivo os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides clomazone e isoxaflutole não reduziram o desenvolvimento da *A. brasilense*, bem como não interferem na atividade da fixação biológica de nitrogênio (PROCÓPIO et al., 2011). Em estudos sobre a toxicidade da mistura mesotriona+S-metalachor+terbutylazine nas doses recomendadas pelo fabricante não foram observado danos as bactérias do gênero *Azotobacter*, aquelas que apresentam potencial de fixar nitrogênio no solo, ou seja, não reduziram a população (BOROWIK et al., 2017).

As BPCV estimulam nos vegetais a produção hormônios vegetais; promoção de crescimento de raiz e de parte aérea; incrementos no sistema antioxidante vegetal reduzindo os efeitos indesejados das espécies reativas de oxigênio (ERO's); presença da ACC deaminase que utiliza o substrato percursos do etileno minimizando a concentração de etileno nos tecidos vegetais; proteção e estímulos na produção de moléculas de clorofila e carotenoides; e produção e estímulos na produção de compostos osmólitos que sinalizam a incidência de estresse vegetal (VURUKONDA et al., 2016).

Esses estímulos nos vegetais atuam indiretamente ligados com a ação do herbicida, mas relacionadas diretamente em sítios onde são relatados efeitos fitotóxicos do mesotriona, em que se relaciona as consequências da fitointoxicação de mesotriona e os locais de estímulos das BPCV, que podem representar um possível efeito “safener” sobre as plantas tolerantes ao mesotriona (Figura 4).

O efeito “safener” potencial das BPCV está em auxiliar as plantas a superar mais rapidamente ou minimizar os efeitos fitotóxicos causados pelos herbicidas sob o

sistema fisiológico e bioquímico vegetal, através da sinalização, possibilitando que a plantas ative as próprias defesas vegetais para a eliminação das moléculas de ação herbicida.



**Figura 4:** Diagrama explicativo dos principais efeitos relatados pela intoxicação dos inibidores da HPPD em plantas e como as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) podem atuar mitigando os efeitos negativos, demonstrando um potencial efeito "safener" das BPCV.

Fonte: (1) Bulegon et al. (2017); (2) Mitchell et al. (2001); (3) Beaudegnies et al. (2009); (4) Falk et al. (2002); (5) Vitek et al. (2017); (6) Mccurdy et al. (2008); (7) Godar et al. (2015); (8) Prione et al. (2016); (9) Rampim et al. (2012); (10) Inagaki et al. (2015); (11) Bulegon; Guimarães; Laureth (2016); (12) Vurukonda et al. (2016); (13) Bashan et al. (2006); (14) Morais et al. (2015); (15) Ngumbi; Kloepper (2016).

Considerando os efeitos das BPCV's, mais especificamente à *A. brasilense*, e a ação dos inibidores da HPPD nas plantas, o uso de *A. brasilense* via inoculação das sementes ou em mistura de tanque com mesotriona pode amenizar nas culturas os efeitos causados pela fitointoxicação.

Embora os efeitos demonstrados na Figura 4 são potenciais, ressalta-se que essa condição nem sempre pode ocorrer visto as BPCV's serem organismos vivos e dependerem de uma interação complexa entre BPCV, planta e ambiente para que sua ação ocorra de forma efetiva, principalmente quando aplicada via foliar.

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os herbicidas inibidores da biossíntese de carotenoides, apresentam diferentes rotas de ação que culminam no mesmo efeito final, a inibição da biossíntese de carotenoides, porém, tal mecanismo de ação ainda demanda maiores estudos para sua elucidação, principalmente para os herbicidas pertencente ao grupo F3, como o clomazone.

A presente revisão evidenciou que a seletividade dos herbicidas é influenciada por uma série de fatores, e quando um desses fatores é prejudicado, ocorre a perda de seletividade, resultando na ocorrência de intoxicação.

Para elevar a seletividade dos inibidores da biossíntese de carotenoides tem-se como opção os “safeners” que atuam a nível enzimático inibindo a ação tóxica dos herbicidas nas culturas de interesse. Na presente revisão também são evidenciadas outras formas que apresentam potencial para maximizar a seletividade dos inibidores da biossíntese de carotenoides, como o uso de fertilizantes foliares ou complexo de nutrientes via tratamento de sementes. Outro método potencial está na utilização das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), que tem a possibilidade de reduzir os danos causados a cultura.

Quando se considera os herbicidas inibidores da síntese de carotenoides tem-se uma série de opções passíveis de utilização que maximizam a seletividade da cultura e conseqüentemente reduzem os níveis de fitotoxicidade, entretanto quando consideramos as técnicas com potencial para amenizar os efeitos da fitotoxidez, essas demandam ainda maiores estudos visto as respostas ocorrerem de forma variada para cada subgrupo de herbicidas devido atuarem em diferentes pontos na rota da biossíntese de carotenoides e também podem ser variados para cada cultura devido as diferenças fisiológicas, bioquímicas e anatômicas que favorecem ou não as repostas para os nutrientes e/ou BPCV.

## **9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABU-QARE, A. W.; DUNCAN, H. J. Herbicide safeners: Uses, limitations, metabolism,

and mechanisms of action. **Chemosphere**, v. 48, n. 9, p. 965–974, 2002.

AGOSTINETTO, D.; PERBONI, L. T.; LANGARO, A. C.; GOMES, J.; FRAGA, D. S.; FRANCO, J. J. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application. **Planta Daninha**, v. 34, n. 1, p. 1–9, 2016.

ARANTES, M. T.; FREITAS, A.; RHEIN, D. L.; PINCELLI, R. P.; SILVA, M. D. A. Respostas fisiológicas de cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas seletivos. **Bioscience journal**, v. 29, n. 5, p. 1206–1214, 2013.

AZANIA, C. A. M.; ROLIM, J. C.; CASAGRANDE, A. A.; LAVORENTI, N. A.; AZANIA, A. A. P. M. Seletividade de herbicidas. III - Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar na época da estiagem. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 489–495, 2006.

BARELA, J. F.; CHISTOFFOLETI, P. J. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcas (RB 867515) tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 371–378, 2006.

BARROSO, A. L. D. L.; SHIMOHIRO, A. K.; DAN, H. D. A.; M, L. G.; JÚNIOR, J. J. D. A.; PROCÓPIO, S. D. O.; BRAZ, G. B. P. Seletividade de associações herbicidas pós-emergentes em variedade de soja precoce. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 7, n. 2, p. 36–42, 2008.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 4, p. 279–285, 2006.

BEAUDEGNIES, R.; EDMUNDS, A. J. F.; FRASER, T. E. M.; HALL, R. G.; HAWKES, T. R.; MITCHELL, G.; SCHAEZTER, J.; WENDEBORN, S.; WIBLEY, J. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors — A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4134–4152, 2009.

BOROWIK, A.; WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J.; BAĆMAGA, M.; TOMKIEL, M. Response of microorganisms and enzymes to soil contamination with a mixture of terbuthylazine, mesotrione, and S-metolachlor. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 2, p. 1910–1925, 2017.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.

BULEGON, L. G.; INAGAKI, A. M.; MORATELLI, G.; COSTA, N. V.; GUIMARÃES, V. F. Fitotoxicidade de mesotriona em milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a adubação nitrogenada associated nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 325–331, 2017.

CARVALHO, F. T.; CASTRO, R. M.; OTSUBO, R. I.; PEREIRA, F. A. R. Controle de dez espécies daninhas em cana-de-açúcar com o herbicida mesotrione em mistura com ametryn e metribuzin. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 585–590, 2010.

CARVALHO, L. B. **Herbicidas**. 1. ed. Lages: Leonardo Bianco de Carvalho, 2013.

CAVALIERI, S. D.; OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; DVORANEN, E. C.; BLAINSKI, E. Tolerância de híbridos de milho ao herbicida isoxaflutole. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 901–909, 2008.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, p. 13–20, 1994.

CORRÊA, M. J. P.; ALVES, G. L.; ROCHA, L. G. F.; SILVA, M. R. M. Períodos de interferência de plantas daninhas na cultura do feijão caupi. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 13, n. 2, p. 50–56, 2015.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Seletividade de soja transgênica tolerante ao glyphosate e eficácia de controle de *Commelina benghalensis* com herbicidas aplicados isolados e em mistura. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 2008, 2008.

CUNHA, F. N.; VIDAL, V. M.; SILVA, N. F.; ANTONIO, F.; SOARES, L.; BATISTA, P. F.; SANTOS, M. A.; MORAIS, W. A. Seletividade do herbicida tembotrione à cultura do sorgo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 2, p. 281–293, 2016.

DAMANAKIS, M.; DRENNAN, D. S. H.; FRYER, J. D.; HOLLY, K. The effect of soil dust and tap water on the toxicity of paraquat applications to leaves. **Weed Research**, v. 10, n. 4, p. 378–381, 1970.

DAN, H. A.; BARROSO, A. D. L.; DAN, L. G. M.; OLIVEIRA JR., R. S.; PROCÓPIO, S. O.; FREITAS, A. C. R.; CORREA, F. M. Selectivity of the herbicide tembotrione to pearl millet. **Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 793–799, 2010.

DAVIES, J.; CASELEY, J. Herbicide safeners: a review. **Pesticide Science**, v. 55, n. July, p. 1043–1058, 1999.

DAVIES, J.; CASELEY, J. C.; JONES, O. T. G.; BARRETT, M.; POLGE, N. D. Mode of action of naphthalic anhydride as a safener for the herbicide AC 263222 in maize. **Pesticide Science**, v. 52, n. 1, p. 29–38, 1998.

DIAS, N. M. P.; REGITANO, J. B.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; TORNISIELO, V. L. Absorção e translocação do herbicida diuron por espécies suscetível e tolerante de capim-colchão (*Digitaria* spp.). **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 293–300, 2003.

FALK, J.; KRAUSS, N.; DÄHNHARDT, D.; KRUPINSKA, K. The senescence associated gene of barley encoding 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase is expressed during oxidative stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, n. 11, p. 1245–1253, 2002.

FERHATOGLU, Y.; AVDIUSHKO, S.; BARRETT, M. The basis for the safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 81, n. 1, p. 59–70, 2005.

FERHATOGLU, Y.; BARRETT, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 85, n. 1, p. 7–14, 2006.

FREITAS, S. P.; MOREIRA, J. G.; FREITAS, I. L. .; FREITAS JÚNIOR, S. P.; AMARAL JÚNIOR, A. .; SILVA, V. Q. . Fitotoxicidade de herbicidas a diferentes cultivares de milho-pipoca. **Planta Daninha**, v. 27, n. 2007, p. 1095–1103, 2009.

GALON, L.; MACIEL, C. D. G.; AGOSTINETTO, D.; CONCENÇO, G.; MORAES, P. V. D. Seletividade de herbicidas às culturas pelo uso de protetores químicos. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 3, p. 291–304, 2011.

GODAR, A. S.; VARANASI, V. K.; NAKKA, S.; PRASAD, P. V. V.; THOMPSON, C. R.; MITHILA, J. Physiological and molecular mechanisms of differential sensitivity of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to mesotrione at varying growth temperatures. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–17, 2015.

IBAMA. **Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002.** Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#>. Acesso em: 30 jan. 2018.

INAGAKI, A. M.; GUIMARÃES, V. F.; LANA, C.; KLEIN, J.; ANDRÉIA CRISTINA RODRIGUES, P.; FERNANDO, L.; RODRIGUES, O. S.; RAMPIM, L. Maize initial growth with the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) under different soil acidity levels. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 4, p. 271–280, 2015.

INOUE, M. H.; ARAÚJO, T. D. C.; MENDES, K. F.; BEN, R.; CONCIANI, P. A. Eficiência de dietholate e bioestimulante isolados e associadas no tratamento de sementes de algodoeiro adensado com clomazone aplicado em pré-emergência. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 10, n. 2, p. 163–172, 2012.

INOUE, M. H.; CAVALCANTE, N. R.; BEN, R.; MENDES, K. F.; POSSAMAI, A. C. S.; DALLACORT, R. Seletividade do clomazone em sementes de algodão tratadas com dietholate e acetato de zinco. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, p. 2905–2918, 2014.

KARAM, D.; CARNEIRO, A. A.; ALBERT, L. H. .; CRUZ, M. B.; COSTA, G. T. .; MAGALHÃES, P. C. Seletividade da cultura do milho ao herbicida clomazone por meio do uso de dietholate. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 1, p. 72–79, 2003.

KOZLOWSKI, L. A.; KOEHLER, H. S.; PITELLI, R. A. Épocas e extensões do período de convivência das plantas daninhas interferindo na produtividade da cultura do milho (*Zea mays*). **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 481–490, 2009.

MACIEL, C. D. G. **Uso do anidrido naftálico para reduzir os efeitos fitotóxicos de herbicidas em gramíneas**. 108 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2004

MACIEL, C. D. G.; OLIVEIRA NETO, A. M.; GUERRA, N.; LEAL, G. B.; SILVA, A. A. P.; SOARES, C. R. B.; KARPINSKI, R. A. K. Selectivity of herbicide associations with chemical protector in the treatment of sweet sorghum hybrid seeds. **Planta Daninha**, v. 35, n. 1, p. 1–7, 2017.

MALLORY-SMITH, C.; RETZINGER, J. Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance. **Weed Technology**, v. 17, n. 2, p. 605–619, 2003.

MCCURDY, J. D.; MCELROY, J. S.; KOPSELL, D. A.; SAMS, C. E.; SOROCHAN, J. C. Effects of mesotrione on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) carotenoid concentrations under varying environmental conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 9133–9139, 2008.

MISTURA, C. C.; BRANCO, J. C.; FREITAS, D. C.; ROSENTHAL, M. D.; MORAES, D. M.; OLIVEIRA, A. C. De. Influência do protetor de sementes dietil fenil fosforotioato sobre plântulas de arros (*Oryza sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 14, n. 2, p. 231–238, 2008.

MITCHELL, G.; BARTLETT, D. W.; FRASER, T. E.; HAWKES, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. **Pest management science**, v. 57, n. 2, p. 120–128, 2001.

MORAIS, T. P.; BRITO, C. H.; FERREIRA, A. D. S.; LUZ, J. M. Q. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, v. 62, n. 6, p. 589–596, 2015.

MORAIS, N. C.; JAKELAITIS, A.; CARDOSO, I. S.; REZENDE, P. N.; ARAÚJO, V. T.; VIERIA JR, N. S.; TAVARES, C. J. Efeitos de herbicidas e adubo foliar em mistura de tanque na cultura da soja. **Magistra**, v. 28, n. 2, p. 233–243, 2016.

NELSON, K. A.; MOTAVALLI, P. P.; STEVENS, W. E.; KENDIG, J. A.; DUNN, D.; NATHAN, M. Foliar potassium fertilizer additives affect soybean response and weed control with glyphosate. **International Journal of Agronomy**, v. 2012, n. 1, p. 1–10, 2012.

NEPOMUCENO, M.; ALVES, P. L. C. A.; DIAS, T. C. S.; PAVANI, M. C. M. D. Período de interferência das plantas daninhas na cultura da soja nos sistemas de semeadura direta e convencional. **Planta Daninha**, v. 25, n. 19, p. 43–50, 2007.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109–125, 2016.

NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Aplicação conjunta de herbicidas e inseticidas na cultura do milho. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 413–420, 2006.

OGLIARI, J.; FREITAS, S. P.; RAMOS, A. C.; BRESSAN SMITH, R. E.; FAÇANHA, A. R. Sistemas primários de transporte de prótons integram os mecanismos de desintoxicação do mesotrione em plantas de milho. **Planta daninha**, v. 27, n. 4, p. 799–807, 2009.

OLIVARES, F. L.; BUSATO, J. G.; DE PAULA, A. M.; DA SILVA LIMA, L.; AGUIAR,

N. O.; CANELLAS, L. P. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 1–13, 2017.

OLIVEIRA JR, R. S. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 348.

ORGANIZATION. Phytotoxicity assessment. **EPPO Bulletin**, v. 37, n. 1, p. 4–10, 2007.

PERESSIN, V. A.; VICTORIA FILHO, R.; PERECIN, D. Misturas de herbicidas: efeitos de adjuvantes no controle de plantas infestantes na cultura da soja. **Bragantia**, v. 56, n. 1, p. 103–116, 1997.

PRIONE, L. P.; OLCANHESKI, L. R.; TULLIO, L. D.; SANTO, B. C. E.; RECHE, P. M.; MARTINS, P. F.; CARVALHO, G.; DEMIATE, I. M.; PILEGGI, S. A. V.; DOURADO, M. N.; PRESTES, R. A.; SADOWSKY, M. J.; AZEVEDO, R. A.; PILEGGI, M. GST activity and membrane lipid saturation prevents mesotrione-induced cellular damage in *Pantoea ananatis*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 16-24, 2016.

PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G.; CARGNELUTTI FILHO, A.; VARGAS, L.; SANT'ANNA, S. A. C. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria *Azospirillum brasilense*. **Planta Daninha**, v. 29, n. Número especial, p. 1079–1089, 2011.

QUEIROZ, A. A.; MARTINS, J. A. S.; CUNHA, J. P. A. R. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 4, p. 8–19, 2008.

RAMPIM, L.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 678–685, 2012.

RODRIGUES, B. N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. **Planta Daninha**, v. 11, n. 1–2, p. 21–28, 1993.

ROSO, A. C.; VIDAL, R. A. Culturas resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS: revisão de literatura. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 21, n. 1, p. 13–24, 2011.

SANCHOTENE, D. M.; KRUSE, N. D.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; NICOLODI, G. A.; DORNELLES, S. H. B. Efeito do protetor dietholate na seletividade de clomazone em cultivares de arroz irrigado. **Planta daninha**, v. 28, n. 2, p. 339–346, 2010.

SANTOS, A. C. M.; SOUZA, M. A. S.; FREITAS, G. A.; SANTOS, P. S. S.; SILVA, R. R. Substância húmica na redução da fitotoxicidade dos herbicidas Roundup Ready + Lactofene na cultura da soja. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 9, n. 3, p. 35–41, 2015.

SANTOS, L. A.; POZZA, E. A.; SOUZA, P. E. Phytotoxicity of mineral, vegetable oils and foliar fertilizers in coffee seedlings. **Coffee Science**, v. 12, n. 1, p. 108–113, 2017.

SHORT, D. E. Phytotoxicity of pesticides to plants. **Ornamentals Northwest Archives**, v. 5, n. 6, p. 3–4, 1981.

SILVA, A. A.; FREITAS, F. M.; FERREIRA, L. R.; JAKELAITIS, A. Efeitos de mistura de herbicidas com inseticida sobre a cultura do milho, as plantas daninhas e a lagarta-d-cartucho. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 517–525, 2005.

SILVA, R. A.; SANTOS, A. M. Indução de resistência a fitotoxicidade do herbicida clomazone através do tratamento de sementes do algodão com o adubo foliar acetato de zinco amoniacal. In: 8º Congresso Brasileiro de Algodão & I Cotton Expo, São Paulo. **Anais...** São Paulo: 2011.

SILVA, J. R. V.; MARTINS, D.; CATANEO, A. C.; SILVA, J. V. C.; FERREIRA, L. C.; SOUZA, G. S. F.; MARTINS, C. C. Uso de fluxofenim em trigo como protetor ao herbicida s-metolachlor. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 3, p. 401–407, 2011.

SUDHAKAR, P.; CHATTOPADHYAY, G. N.; GANGWAR, S. K.; GHOSH, J. K. Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). **The Journal of Agricultural Science**, v. 134, n. 02, p. 227–234, 2000.

VENSKÉ, E.; SCHAEGLER, C. E.; CAMARGO, T. O.; ZIMMER, P. D. Abiotic factors in the effect of herbicides on the physiological quality of rice seeds. **Revista de Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 818–825, 2015.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**,

v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003.

VILA-AIUB, M. M.; GUNDEL, P. E.; POWLES, S. B. Glyphosate resistance in *Sorghum halepense* and *Lolium rigidum* is reduced at suboptimal growing temperatures. **Pest Management Science**, v. 69, n. 4, p. 228–232, 2013.

VÍTEK, P.; NOVOTNÁ, K.; HODAŇOVÁ, P.; RAPANTOVÁ, B.; KLEM, K. Detection of herbicide effects on pigment composition and PSII photochemistry in *Helianthus annuus* by Raman spectroscopy and chlorophyll a fluorescence. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 170, p. 234–241, 2017.

VITORINO, H. S.; CAMPOS, C. F.; MARTINS, D. Eficácia de herbicidas na dessecação de nabiça e sua ação na germinação de sementes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1119-1123, 2014.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

YORK, A. C.; JORDON, D. L.; FRANS, R. E. Insecticides modify cotton (*Gossypium hirsutum*) response to clomazone. **Weed Technology**, v. 5, n. 4, p. 729–735, 1991.

YUN, M. S.; YOGO, Y.; MIURA, R.; YAMASUE, Y.; FISCHER, A. J. Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 83, n. 2–3, p. 107–114, 2005.

**CAPÍTULO II**

**INTOXICAÇÃO DE MESOTRIONA EM MILHO INOCULADO COM *Azospirillum*  
*brasiliense* E COM APLICAÇÃO DE REGULADOR VEGETAL**

**INTOXICATION OF MESOTRIONE IN CORN INOCULATED WITH *Azospirillum*  
*brasiliense* AND APPLICATION OF PLANT GROWTH REGULATORS**

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a intoxicação do herbicida mesotriona no desenvolvimento inicial e na produtividade do milho, inoculado via semente ou foliar com *Azospirillum brasilense* e aplicação de reguladores vegetais. Foram realizados três experimentos, um em condição de casa de vegetação e dois em condições de campo, em diferentes locais. Em todos os experimentos utilizou-se o delineamento em blocos casualizados no esquema fatorial 2x4, representando presença (192 g ha<sup>-1</sup>) ou ausência de mesotriona e quatro tratamentos correspondente à testemunha; inoculação das sementes com *A. brasilense*; aplicação foliar de *A. brasilense*; aplicação foliar de auxina + giberelina + citocina (AX+GA+CK), sendo que as aplicações foliares com mesotriona foram realizadas no estágio V<sub>3</sub> da cultura. Os resultados em casa de vegetação com a aplicação de mesotriona originou intoxicação de 7,12%, o que reduziu em 10,15% o conteúdo de clorofila total e em 75,86% o teor de carotenoides, resultando em reduções nas trocas gasosas, na fluorescência da clorofila a e no incremento da atividade das enzimas antioxidativas. Em condições de campo os tratamentos não reduziram os efeitos da intoxicação provocados durante o desenvolvimento inicial da cultura do milho e não incrementaram a produtividade da cultura. Concluiu-se, que o uso de *A. brasilense* e de regulador vegetal não protegeram o milho da intoxicação do mesotriona no desenvolvimento inicial, bem como não incrementam a produtividade.

**Palavras – chaves:** *Zea mays*. Trocas gasosas. Fluorescência da clorofila a. Peroxidase. Catalase.

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the intoxication of the mesotrione herbicide in the initial development and yield of corn inoculated via seed or foliar spray with *Azospirillum brasilense* and the application of plant regulators. Therefore, three experiments were performed, one under greenhouse conditions and two under field conditions, in different locations. In all experiments the randomized block design was used in the 2x4 factorial scheme, representing presence (192 g ha<sup>-1</sup>) or absence of mesotrione and four treatments corresponding to the control; seed inoculation with *A. brasilense*; foliar spray application of *A. brasilense*; foliar spray application of auxin + gibberellin + cytokine (AX + GA + CK), and foliar spray applications with mesotrione were carried out in the V<sub>3</sub> stage of the culture. The greenhouse results with the application of mesotrione resulted in intoxication of 7.12%, which reduced the total chlorophyll content by 10.15% and the carotenoid content by 75.86%, resulting in

reductions in gas exchange, in the chlorophyll a fluorescence and in the increase of the activity of the antioxidative enzymes. Under field conditions the treatments did not reduce the effects of intoxication caused during the initial development of maize crop and did not increase crop productivity. It was concluded that the use of *A. brasilense* and plant regulator did not protect maize from mesotrione intoxication in the initial development, nor did it increase productivity.

**Keywords:** *Zea mays*; Gas exchange. Fluorescence of chlorophyll a; Peroxidase; Catalase

## 1. INTRODUÇÃO

O milho caracteriza-se como uma das mais importantes *commodities* produzida no mundo, principalmente por ser base para a produção de proteína animal, além de ser fonte energética e constituinte importante da alimentação humana. No Brasil o milho ocupa lugar de destaque, com produção estimada de 92,8 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

A cadeia produtiva da cultura do milho sofre influência de fatores diversos que reduzem sua produtividade, a exemplo das plantas daninhas causadoras de perdas de até 87% fazendo-se necessário a realização do manejo químico principalmente no período crítico de prevenção a interferência, que refere-se da emergência até o estágio V<sub>7</sub> (KOZLOWSKI, 2002), correspondendo a aproximadamente 42 dias após a semeadura (BALBINOT et al., 2016).

Para o manejo químico das plantas daninhas na cultura do milho, destaca-se o uso do herbicida mesotriona que atua na inibição da enzima 4-hidroxifenil-piruvatodioxigenase, na síntese de carotenoides, resultando na morte das plantas devido a ação da fotooxidação das moléculas de clorofila, pela não dissipação do excesso de energia luminosa por partes dos carotenoides no processo fotossintético (MITCHELL et al., 2001b). A tolerância do milho ao mesotriona ocorre devido a compartimentalização das moléculas do herbicida tornando-as sem atividade herbicida (BEAUDEGNIES et al., 2009).

Mesmo o mesotriona sendo seletivo a cultura do milho pode proporcionar intoxicação de até 35% (BULEGON et al., 2017c), sendo caracterizadas por manchas foliares de coloração brancas nas folhas novas das plantas do milho, que evoluem para manchas cloróticas e posterior necrose do tecido foliar em condições mais

extremas (BARCHANSKA et al., 2014), interferindo no metabolismo vegetal da cultura (O'SULLIVAN; ZANDSTRA; SIKKEMA, 2002; OGLIARI et al., 2009).

A aplicação de herbicidas, mesmo os seletivos as cultura podem reduzir as trocas gasosas e elevar a atividade de enzimas relacionadas a remoção de espécies reativas de oxigênio – ERO's (AGOSTINETTO et al., 2016; LANGARO et al., 2017), que são produzidas pelo acúmulo de O<sub>2</sub> pela degradação das moléculas de clorofila (STREIT et al., 2005). Assim, plantas de milho submetidas a aplicação de mesotriona demonstraram redução de 78% na taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> e de 52% na relação Fv/Fm (OGLIARI et al., 2009).

Para maximizar a seletividade do mesotriona no milho, deve-se reduzir os efeitos visuais da intoxicação (clorose) nas folhas novas das plantas por serem negativamente correlacionados com o teor de carotenoides (BARCHANSKA et al., 2014). Desta forma, reduzir a degradação dos carotenoides, torna-se fundamental na redução dos efeitos fitotóxicos. Em plantas tratadas com herbicidas inibidores da HPPD incrementos da atividade das enzimas antioxidativas (GRIGORYUK et al., 2016), degradação de moléculas de clorofila (VÍTEK et al., 2017), além da inibição da síntese de carotenoides, originando fitoeno albino (BEAUDEGNIES et al., 2009). O uso de estratégias que elevam a atividade do sistema antioxidante, incrementem a síntese de clorofila e auxiliam na manutenção do teor de carotenoides podem auxiliar a planta a manter sua atividade fisiológica e bioquímica na ocorrência de intoxicação imposta pelo mesotriona.

A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) da espécie *Azospirillum brasilense* mostra-se promissora, por elevarem a atividade do sistema antioxidante de plantas em condições estressantes (VURUKONDA et al., 2016) como verificado em plantas de braquiária sob déficit hídrico (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016), e em condições de estresse salino (ZAWOZNIK; AMENEIROS, 2011). As BPCV também representam incrementos na síntese de clorofila (BASHAN et al., 2006), auxiliam a preservação dos carotenoides após a incidência de estresse ambiental (BULEGON et al., 2016), bem como podem incrementar o desenvolvimento inicial de plantas (INAGAKI et al., 2015), sendo que plantas mais desenvolvidas possuem maior tolerância a fitotoxidez (GODAR et al., 2015).

De forma similar, os hormônios vegetais, auxinas, giberelinas e citocinina, podem auxiliar no sistema de defesa vegetal, incrementando o sistema antioxidante

(XIA et al., 2015), os níveis de pigmentos fotossintéticos e o desenvolvimento inicial de plantas (RADEMACHER, 2015).

Com base nas informações citadas, objetivou-se avaliar a intoxicação de mesotriona no desenvolvimento inicial e na produtividade do milho inoculado via semente ou foliar com *A. brasilense* ou após a aplicação de regulador vegetal.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzindo três experimentos, sendo um em condição de casa de vegetação e dois em condições de campo. Em todos os experimentos adotou-se o delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 4x2, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos da presença (192 g ha<sup>-1</sup>) ou ausência da aplicação de mesotriona. O segundo fator foi representado pelos seguintes tratamentos: testemunha; inoculação das sementes com *A. brasilense* estirpes AbV5 e AbV6; inoculação foliar com *A. brasilense* estirpes AbV5 e AbV6; e aplicação foliar de auxina + giberelina + citocinina (AX+GA+CK).

Para a inoculação das sementes de milho utilizou-se 100 mL de inoculante líquido, para 60 mil sementes, contendo 2x10<sup>8</sup> UFC por mL de *A. brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 (padrão comercial), as quais foram homogeneizadas e mantidas à sombra por cerca de 30 minutos, e posteriormente semeadas.

A aplicação foliar dos tratamentos ocorreram quando as plantas atingiram o estágio fenológico V<sub>3</sub> (terceira folha desenvolvida), correspondendo a aproximadamente 14 dias após a semeadura (DAS). Nas aplicações utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado com CO<sub>2</sub>, munido de uma barra de 3 m de largura com seis pontas tipo leque (Magno 11002 ADGA), pressão de trabalho de 2,2 bar, vazão de 200 L ha<sup>-1</sup> e altura de aplicação de 0,5 m acima do ápice das plantas. A aplicação em casa de vegetação ocorreu com temperatura de 28 °C, umidade relativa do ar em 61% e velocidade do vento de 5,4 km h<sup>-1</sup>. A aplicação em campo em Marechal Cândido Rondon ocorreu com 23,3 °C, 61% e 8,8 km h<sup>-1</sup>, e para Entre Rios do Oeste com 21,8 °C, 65% e 5,4 km h<sup>-1</sup>, para temperatura, umidade relativa e velocidade do vento, respectivamente.

A aplicação do *A. brasilense* e do regulador vegetal foi realizada simultaneamente em mistura de tanque com o mesotriona, conforme ensaio preliminar que demonstrou que a aplicação conjunta não apresentava limitações quanto as trocas

gasosas, intoxicação e desenvolvimento do milho (dados não mostrados). As doses de mesotriona para todos os tratamentos foi  $192 \text{ g ha}^{-1}$  (Produto comercial Callisto®  $480 \text{ g L}^{-1}$ ) mais a adição de adjuvante Nimbus a  $0,5\% \text{ v v}^{-1}$ .

Para a aplicação foliar de *A. brasilense* foi utilizado a dose de  $400 \text{ mL ha}^{-1}$  de inoculante contendo  $2 \times 10^8$  UFC por mL estirpes AbV5 e AbV6 (padrão comercial). Para o tratamento com AX+GA+CK foi utilizado a dose de  $0,025 \text{ g ha}^{-1}$  de Ácido 4-indol-3-ilbutírico,  $0,025 \text{ g ha}^{-1}$  de Ácido giberélico e  $0,045 \text{ g ha}^{-1}$  de Cinetina, pelo uso do produto comercial Stimulate®.

## 2.1 CONDUÇÃO E AVALIAÇÕES EM CASA DE VEGETAÇÃO

A condução em casa de vegetação foi em estufa do tipo teto em arco, coberto com filme de polietileno difusor de baixa densidade, com  $150 \mu$  espessura localizada a  $-24^{\circ}558'S$  e  $-54^{\circ}045'O$ . Foram semeadas cinco sementes do híbrido simples 30F53 VYH por vaso de  $12 \text{ dm}^3$ , que após emergência foram raleadas deixando duas plantas por vasos. Como substrato foi utilizado solo proveniente do horizonte A de um LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico, de textura argilosa ( $578 \text{ g kg}^{-1}$  de argila;  $348,58 \text{ g kg}^{-1}$  de silte;  $3,42 \text{ g kg}^{-1}$  de areia), teor de matéria orgânica de  $5,47 \text{ g dm}^{-3}$ ; teor de P de  $2,07 \text{ mg dm}^{-3}$ ; H+Al de  $3,01 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{Al}^{+3}$  de  $0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{K}^{+}$  de  $0,11 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{Ca}^{+2}$  de  $3,92 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{Mg}^{+2}$  de  $1,03 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Capacidade de troca catiônica (CTC) de  $8,08 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  e V(%) de  $62,68$ , com uma população de microrganismos diazotróficos de  $7,5 \times 10^4 \text{ UFC g}^{-1}$  solo.

Para a adubação de base foi utilizado a recomendação de (NOVAIS; NEVES; BARROS, 1991) com adição de  $300 \text{ mg dm}^3$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  na forma de superfosfato simples,  $150 \text{ mg dm}^3$  de  $\text{K}_2\text{O}$  na forma de cloreto de potássio e  $50 \text{ mg dm}^3$  de N, na forma de ureia. Decorrido três dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, no estádio V<sub>4</sub> foi complementada a adubação nitrogenada com  $100 \text{ mg dm}^3$  de N, na forma de ureia. Após a semeadura os vasos foram irrigados diariamente.

As avaliações em casa de vegetação foram realizadas aos 1, 7 e 14 DAA determinando-se nas plantas de milho a porcentagem de intoxicação, o índice SPAD, teor de pigmentos foliares; atividade de enzima do estresse oxidativo, trocas gasosas e fluorescência da clorofila a.

A avaliação de intoxicação visual foram avaliados em ambos os experimentos realizada através de escala de nota de 0 a 100%, em que 0% corresponde a ausência de sintomas de intoxicação e 100% corresponde a morte da planta, proposta pela

Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995). No mesmo momento foi realizada a avaliação do índice SPAD com auxílio do equipamento SPAD-502 Minolta, pela medida de 10 pontos em todas as folhas completamente expandidas das plantas em casa de vegetação, e em condições de campo foi realizada a leitura em cada uma das folhas em cinco plantas escolhidas aleatoriamente dentro da parcela útil.

A avaliação do teor de pigmentos foliares foi realizada nos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em condição de campo. Para isso foram coletados segmentos foliares com massa fresca de 0,5 g, ao quais foram acondicionados em frascos vedados e recoberto com papel alumínio para evitar a entrada de luz, onde acrescentou-se 20 mL de solução de acetona 80%, sendo os frascos acondicionados sob refrigeração a 4°C e ausência de luz por 72 horas. Depois procedeu-se a leitura em espectrofotômetro utilizando-se para clorofila *a* 665 nm, clorofila *b* 649 nm e carotenoides 480 nm, para obtenção da clorofila total procedeu-se a soma entre os valores de clorofila *a* e clorofila *b* (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001).

A atividade enzimática foi avaliada no experimento conduzido em casa de vegetação onde procedeu-se a determinação da atividade das enzimas catalase e peroxidase. Para isso amostras frescas de folhas de milho com massa fresca de 0,5 g foram coletadas aos 1, 7 e 14 DAA de mesotriona foram maceradas em solução tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) acrescentando-se polivinil pirrolidona (PVP) e posteriormente centrifugado a 20.000 g durante 20 min para homogeneização, o sobrenadante foi coletado e acondicionadas em temperatura de -80°C.

Depois, foram determinadas a atividade da peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) a 30°C, através do método do espectrofotométrico direto, baseado na oxidação do guaiacol (HAMMERSCHMIDT; NUCKLES; KUĆ, 1982), com leituras a 470 nm durante dois minutos, com intervalo de leitura de 15 segundos. Para a determinação da catalase (CAT; EC 1.11.1.6). utilizou-se o monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio (HAVIR; MCHALE, 1987) com leitura a 240 nm.

A avaliação das trocas gasosas e da análises de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas no experimento conduzido em casa de vegetação utilizando-se o equipamento IRGA (*Infra Red Gas Analyser*) modelo LI-6400XT (*Licor Inc. Lincoln, NE*) utilizando teor de CO<sub>2</sub> de 400 μmol mol<sup>-1</sup> e 1500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fótons na última folha completamente expandida da planta na porção central da folha. Determinou-se

a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), taxa de transpiração da folha (*E*) e condutância estomática (*g<sub>s</sub>*). Para determinar a curva de resposta fotossintética em função dos níveis de luminosidade utilizou-se as densidades fotossintéticas de 2500; 2000; 1500; 1000; 800; 500; 200; 100; 50; 25 e 0,0 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e para determinação da máxima fotossíntese foi ajustada uma função hipérbole retangular (MACHADO et al., 2005).

A análises de fluorescência da clorofila *a* se deu através do método do pulso de saturação (SCHREIBER; BILGER; NEUBAUER, 1994) em folhas no escuro, com leitura realizada durante a madrugada, sendo obtidos, a fluorescência inicial (*F<sub>o</sub>*), fluorescência máxima (*F<sub>m</sub>*) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (*F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>*). Na presença de radiação solar, foi determinada a eficiência quântica efetiva do PSII (*ΦPSII*), a eficiência máxima do PSII (*F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>'*) e o coeficiente de extinção fotoquímico (*qP*).

## 2.2 CONDUÇÃO E AVALIAÇÕES EM CAMPO

Os experimentos conduzidos a campo foram realizados no município de Marechal Cândido Rondon, localizado nas coordenadas -24°53'S e -54°01'O e em Entre Rios do Oeste, localizado nas coordenadas -24°68'S e -54°28'O.

Ambos os experimentos foram instalados em LATOSSOLO VERMELHO eutrófico de textura argilosa. Em Marechal Cândido Rondon o solo apresentava 831,20 g kg<sup>-1</sup> de argila; 114,80 g kg<sup>-1</sup> de silte; 54,00 g kg<sup>-1</sup> de areia, teor de matéria orgânica de 2,90 g dm<sup>-3</sup>; teor P de 13,7 mg dm<sup>-3</sup>; H+Al de 6,30 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al<sup>+3</sup> de 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K<sup>+</sup> de 0,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> de 4,90 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> de 2,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Capacidade de troca catiônica (CTC) de 13,09 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V(%) de 54,70, com uma população de microrganismos diazotróficos de 7,5x10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>. Para Entre Rios do Oeste o solo apresentava 587,29 g kg<sup>-1</sup> de argila; 351,00 g kg<sup>-1</sup> de silte; 61,71 g kg<sup>-1</sup> de areia, teor de matéria orgânica de 25,97 g dm<sup>-3</sup>; teor P de 8,99 mg dm<sup>-3</sup>; H+Al de 4,53 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al<sup>+3</sup> de 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K<sup>+</sup> de 1,96 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> de 5,59 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> de 1,19 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Capacidade de troca catiônica (CTC) de 13,28 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V(%) de 65,88, com uma população de microrganismos diazotróficos de 7,5x10<sup>4</sup> UFC g<sup>-1</sup>.

A semeadura mecanizado do milho híbrido simples 30F53 VYH foi realizada no espaçamento de 0,7 m, densidade de 4,6 plantas por m, objetivando uma população

de 65.717 plantas ha<sup>-1</sup>, utilizando adubação de base de 320 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 10-15-15 (NPK).

A parcela experimental em Marechal Cândido Rondon consistiu de 8 linhas por 5 metros, totalizando 28 m<sup>2</sup>. Em Entre Rios do Oeste a parcela foi composta por 6 linhas por 5 m de comprimento, totalizando 21 m<sup>2</sup>. Em ambos os locais a área útil da parcela foi representada por 4 linhas centrais de 3 metros de comprimento (8,4 m<sup>2</sup>).

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho, fornecendo 140 kg ha<sup>-1</sup> de N, utilizando como fonte ureia (45% de N), juntamente foi fornecido 30 kg ha<sup>-1</sup> de potássio, na forma de cloreto de potássio (60% de K<sub>2</sub>O). A cultura do milho foi conduzida na ausência de interferência de plantas daninhas durante todo o período total de prevenção a interferência, evitando a competição.

As avaliações foram realizadas aos 10 DAA, determinando-se nas plantas de milho a porcentagem de intoxicação, índice SPAD, conteúdo de clorofila total e carotenoides, e ao final do ciclo da cultura a produtividade.

A avaliação de intoxicação visual e índice SPAD foi realizada de acordo com o descrito na seção anterior. A intoxicação visual foi determinada com o uso de escala de nota de 0 a 100%, em que 0% corresponde a ausência de sintomas de intoxicação e 100% corresponde a morte da planta (SBCPD, 1995), e para o índice SPAD determinada pelo equipamento SPAD-502 Minolta, realizou-se a medida em cada uma das folhas em cinco plantas escolhidas aleatoriamente dentro da parcela útil. Para a avaliação do teor de pigmentos foliares procedeu-se a coleta aos 10 DAA de segmentos foliares, sendo determinado o teor clorofila *a* 665 nm, clorofila *b* 649 nm e carotenoides 480 nm, para obtenção da clorofila total procedeu-se a soma entre os valores de clorofila *a* e clorofila *b* (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001).

Quando a cultura do milho atingiu a maturação, foram colhidas as espigas contidas na área útil das parcelas, onde determinou-se os componentes de produção representados por: comprimento de espiga, diâmetro de espiga, número de grãos por fileira, número de fileiras de grãos, massa de mil grãos e a produtividade da cultura do milho corrigida para um teor de umidade de 13% em base úmida, e expressa em kg ha<sup>-1</sup>.

## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F de Fisher a 5% de probabilidade de erro e quando pertinente as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em condições de casa de vegetação os valores da porcentagem de intoxicação do herbicida mesotriona nas plantas de milho apresentaram diferenças apenas para o fator presença e ausência do herbicida, não sendo observados efeito significativo para os tratamentos aplicados e a interação entre os fatores, com exceção da avaliação aos 7 dias após a aplicação (DAA), onde o índice SPAD foi influenciado pelos tratamentos, sendo que a aplicação foliar de *A. brasilense* resultando na maior média (Tabela 2).

A intoxicação de mesotriona ocorre devido a inibição da síntese de carotenoides, que levam a degradação das moléculas de clorofila pela desestruturação das membranas, ocasionada por radicais livres formados pela fotooxidação (MITCHELL et al., 2001b; STREIT et al., 2005; BEAUDEGNIES et al., 2009). A ação do mesotriona no metabolismo de síntese dos carotenoides ocorre de forma rápida (BEAUDEGNIES et al., 2009), sendo relatado que 70% e 40% do herbicida pode ser absorvido e translocado, respectivamente, oito horas após a aplicação (GODAR et al., 2015), o que resulta em inibição da síntese de novos carotenoides, ficando a planta predisposta aos efeitos da fotooxidação.

**Tabela 2:** Intoxicação (Into - %) e índice SPAD em plantas de milho após a aplicação de mesotriona, bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamento	1 DAA		7 DAA		14 DAA	
	Into (%)	SPAD	Into (%)	SPAD	Into (%)	SPAD
Mesotriona						
Com Mesotriona	1,93 a	40,46	7,21 a	42,49 b	0,68 a	50,00 b
Sem Mesotriona	0,00 b	41,95	0,00 b	48,08 a	0,00 b	52,95 a
Tratamentos						
Testemunha	1,25	40,45	3,87	44,51 b	0,50	52,62
<i>A. brasilense</i> Foliar	1,00	40,97	3,31	49,35 a	0,00	50,25
<i>A. brasilense</i> Semente	0,87	39,98	3,75	42,36 b	0,37	49,93
AX+GA+CK	0,75	43,41	3,50	44,86 b	0,50	53,07
Valores de F calculado						
Tratamento	1,244 <sup>ns</sup>	1,250 <sup>ns</sup>	0,256 <sup>ns</sup>	7,073 <sup>**</sup>	4,013 <sup>ns</sup>	1,342 <sup>ns</sup>
Mesotriona	102,442 <sup>**</sup>	1,192 <sup>ns</sup>	210,122 <sup>**</sup>	25,300 <sup>**</sup>	33,800 <sup>**</sup>	4,504 <sup>*</sup>
Interação	1,244 <sup>ns</sup>	2,280 <sup>ns</sup>	0,256 <sup>ns</sup>	2,107 <sup>ns</sup>	4,013 <sup>ns</sup>	1,439 <sup>ns</sup>
CV (%)	55,89	9,37	39,02	6,90	97,19	7,61

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras minúsculas semelhante na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

A tolerância das plantas está ligada a sua capacidade de metabolizar as moléculas herbicidas, em moléculas sem atividade, que no caso do milho ocorre estimulados pela ação das bombas H<sup>+</sup> (OGLIARI et al., 2009). Os mesmos autores demonstram que os efeitos fitotóxicos se apresentaram por 12 DAA, corroborando com o presente estudo. Ressalta-se que os sintomas de branqueamento foliar permanecem nas folhas velhas, o que resulta em menor índice SPAD mesmo aos 14 DAA, todavia, o mecanismo fisiológico e bioquímico não está mais sendo influenciado.

Aos 7 DAA, o conteúdo de clorofila total e carotenoides foi influenciado pela interação entre aplicação do mesotriona e os tratamentos (Tabela 3). As plantas que receberam o herbicida apresentaram menor conteúdo de clorofila total, com redução de 10,15% em relação as plantas sem mesotriona.

**Tabela 3:** Teores de pigmentos foliares em folhas de milho 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamento	Clorofila total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )			Carotenoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	51,68 aA	47,93 bA	48,81	0,57 abA	0,65 bA	0,61
<i>A. brasilense</i> Foliar	49,61 aA	51,47 abA	50,54	0,25 bB	1,44 aA	0,84
<i>A. brasilense</i> Semente	39,32 bB	57,06 aA	48,19	0,61 abA	0,90 bA	0,76
AX+GA+CK	47,64 aA	50,89 abA	49,27	0,90 aA	1,10 abA	1,00
Média	47,06 B	51,84 A		0,58 B	1,02 A	
Valores de F calculado						
Tratamento	0,540 <sup>ns</sup>			2,651 <sup>ns</sup>		
Mesotriona	12,541 <sup>**</sup>			19,319 <sup>**</sup>		
Interação	167,59 <sup>**</sup>			6,441 <sup>**</sup>		
CV (%)	7,71			35,08		

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras semelhante minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

Ao analisar os tratamentos na ausência de mesotriona os menores valores de clorofila total foram observados na testemunha, sem diferenciar do AX+GA+CK. Para plantas que receberam a aplicação do mesotriona foi observada menor conteúdo de clorofila total na inoculação de *A. brasilense* nas sementes. Ao comparar as plantas com e sem aplicação do mesotriona foi observado diferença apenas quando se inoculou as sementes com *A. brasilense*, com redução de 45,11% no conteúdo de clorofila em plantas com mesotriona (Tabela 3).

O teor de carotenoides foi reduzido em 75,86% nas plantas com aplicação do mesotriona, em relação as plantas sem herbicida. A aplicação foliar de *A. brasilense* promoveu maior teor de carotenoides na ausência do mesotriona, enquanto que o mesmo tratamento nas plantas com mesotriona demonstrou redução de 576% no teor de carotenoides, sendo o único a apresentar redução (Tabela 3).

A redução dos teores de pigmentos aos 7 DAA resulta da ocorrência do pico da intoxicação do herbicida. Os resultados corroboram com os encontrados com aplicação de mesotriona em *Amaranthus palmeri* (105 g i.a ha<sup>-1</sup>) (GODAR et al., 2015), *Lolium perenne* (280 g i.a ha<sup>-1</sup>) (MCCURDY et al., 2008) e milho (192 g ha<sup>-1</sup>) (OGLIARI et al., 2009). Pode-se ainda inferir que nesse momento ocorria a maior concentração

de moléculas herbicidas ativas na planta, visto a correlação negativa entre teor de clorofila e moléculas herbicidas observada em oito espécies de plantas (BARCHANSKA et al., 2014).

A atividade da POD 1 DAA nas plantas tratadas com mesotriona foi 33,9% superior a aquelas sem aplicação. Ao avaliar os tratamentos na presença e ausência do mesotriona maior atividade da POD foi observada no AX+GA+CK e *A. brasilense* foliar, sendo esses 40,9% e 81,8%, maiores respectivamente, quando as plantas receberam mesotriona (Tabela 4).

**Tabela 4:** Atividade da catalase (CAT) e peroxidase (POD) em folhas de milho aos 1 e 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamento	CAT 1 DAA			POD 1 DAA		
	UE min <sup>-1</sup> g massa fresca <sup>-1</sup>			UE min <sup>-1</sup> g massa fresca <sup>-1</sup>		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	9,48 aA	2,80 aB	6,14	107,09 cA	142,36 abA	124,73 c
<i>A. brasilense</i> Foliar	3,51 bA	5,51 aA	4,51	217,49 bA	119,61 bB	168,55 b
<i>A. brasilense</i> Semente	3,02 bA	4,59 aA	3,81	143,10 cA	97,57 bA	120,34 c
AX+GA+CK	8,60 aA	4,12 aB	6,36	277,79 aA	197,06 aB	237,43 a
Média	6,15A	4,26 B		186,37 A	139,15 B	
Valores de F calculado						
Tratamento	2,837 <sup>ns</sup>			16,518 <sup>**</sup>		
Mesotriona	6,582 <sup>**</sup>			12,478 <sup>**</sup>		
Interação	8,661 <sup>**</sup>			4,895 <sup>**</sup>		
CV (%)	40,11			23,23		
Tratamento	CAT 7 DAA (UE min <sup>-1</sup> g massa fresca <sup>-1</sup> )					
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média			
Testemunha	6,66 aA	8,10 aA	7,38 a			
<i>A. brasilense</i> Foliar	8,14 aA	4,00 bB	6,07 a			
<i>A. brasilense</i> Semente	2,90 bA	4,83 bA	3,86 b			
AX+GA+CK	6,01 aA	8,43 aA	7,22 a			
Média	5,93	6,34				
Valores de F calculado						
Tratamento	6,874 <sup>**</sup>					
Mesotriona	0,440 <sup>ns</sup>					
Interação	6,121 <sup>**</sup>					
CV (%)	28,50					

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras semelhante minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

Para superar os efeitos causados pela intoxicação do mesotriona resultantes da fotooxidação da clorofila e consequente formação de radicais livres as plantas utilizam uma série de enzimas, dentre as quais destacam-se as catalase (CAT) e peroxidases (POD). A atividade da CAT foi incrementada 1 DAA nas plantas que receberam aplicação de mesotriona, sendo 44,3% superior a aquelas que não receberam o herbicida (Tabela 4). Para as plantas sem a aplicação do mesotriona não foram observadas diferenças entre os tratamentos, entretanto nas plantas onde aplicou-se o herbicida mesotriona a maior atividade da CAT foi verificada no AX+GA+CK e na testemunha, os mesmos, também superaram seus padrões sem mesotriona em 108,7% para AX+GA+CK e 238,5% para a testemunha.

A aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK elevou a atividade da POD ao 1 DAA, o que pode sugerir que os mesmos auxiliam o processo de remoção de ERO's, um mecanismo importante na minimização dos efeitos do mesotriona (BUONO et al., 2011; AGOSTINETTO et al., 2016; LANGARO et al., 2017). Incrementos no sistema antioxidante de *Urochloa ruziziensis* pulverizada com *A. brasilense* via foliar foram demonstrados em condições de estresse causado por déficit hídrico (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016), enquanto, o uso de reguladores vegetais estimularam o desenvolvimento de plantas em condições de estresse salino (OLIVEIRA et al., 2016).

O aumento na atividade antioxidante quando da aplicação de herbicidas em plantas, como obtido no presente estudo corroboram com os observados na cultura do trigo, em que a aplicação dos herbicidas Clodinafop-Propargil (0,25 L ha<sup>-1</sup> p.c.) elevaram a atividade da CAT 1 DAA (AGOSTINETTO et al., 2016). Em estudo na cultura do arroz também foi demonstrado que o herbicida Oxyfluorfen (960 g i.a ha<sup>-1</sup>) causou intoxicação e elevou a atividade das enzimas de remoção de ERO (LANGARO et al., 2017). Em milho demonstrou-se que herbicidas Acetochlor (2,5 L ha<sup>-1</sup> p.c.), Dimetenamida-P (1,5 L ha<sup>-1</sup> p.c.) e Indaziflam + Isoxaflutole (130 g ha<sup>-1</sup> p.c.) todos pré-emergentes causam alterações no sistema antioxidante vegetal (GRIGORYUK et al., 2016), e que essa ação ocorre de forma sincrônica com alteração nas trocas gasosas e fluorescência da clorofila, como observado no presente estudo.

Aos 7 DAA, apenas no tratamento *A. brasilense* via foliar observou-se que a atividade da CAT se manteve superior em 103,5% nas plantas aplicadas com mesotriona em relação as não aplicadas (Tabela 4).

Na avaliação realizada aos 7 DAA observou-se efeito estatístico do mesotriona para todas as variáveis de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* com exceção da fluorescência inicial ( $F_o$ ). Para as demais fontes de variações não foram encontrados efeitos estatísticos ( $p > 0,05$ ) (Tabela 5). A taxa assimilatória líquida de  $CO_2$  ( $A$ ), transpiração ( $E$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ) nas plantas que receberam aplicação de mesotriona apresentaram menores médias em relação às ausentes de aplicação do herbicida, sendo verificadas reduções de 32,9%, 30,9% e 46,3%, respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 5:** Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em folhas de milho 7 dias após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamento	$A$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	$E$ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	$g_s$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )			
Com mesotriona	34,48 b	3,55 b	0,203 b			
Sem mesotriona	51,16 a	4,64 a	0,297 a			
Valores de F calculado						
Tratamento	0,285 <sup>ns</sup>	0,516 <sup>ns</sup>	0,703 <sup>ns</sup>			
Mesotriona	30,775**	20,809**	16,221**			
Interação	0,776 <sup>ns</sup>	0,583 <sup>ns</sup>	0,808 <sup>ns</sup>			
CV (%)	14,42	16,64	26,28			
Tratamento	$F_o$	$F_m$	$F_v/F_m$	$\Phi\text{PSII}$	$F_v'/F_m'$	$qP$
Com mesotriona	117,36	556,55 b	0,788 b	0,284 b	0,464 b	0,612 b
Sem mesotriona	118,47	584,57 a	0,797 a	0,334 a	0,499 a	0,669 a
Valores de F calculado						
Tratamento	0,016 <sup>ns</sup>	2,076 <sup>ns</sup>	1,559 <sup>ns</sup>	0,286 <sup>ns</sup>	0,121 <sup>ns</sup>	2,343 <sup>ns</sup>
Mesotriona	0,807 <sup>ns</sup>	10,034**	4,396*	38,205**	11,476**	42,540**
Interação	0,360 <sup>ns</sup>	0,466 <sup>ns</sup>	0,559 <sup>ns</sup>	0,224 <sup>ns</sup>	0,071 <sup>ns</sup>	0,732 <sup>ns</sup>
CV (%)	2,96	4,38	1,48	7,38	6,12	3,89

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras semelhante minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

Da mesma forma que as trocas gasosas, para a fluorescência da clorofila *a* verificou-se diferença entre as plantas com e sem aplicação de mesotriona na fluorescência máxima ( $F_m$ ), máxima eficiência quântica do fotossistema ( $F_v/F_m$ ), eficiência quântica efetiva do PSII ( $\Phi\text{PSII}$ ), máxima eficiência quântica do fotossistema na presença da luz ( $F_v'/F_m'$ ) e coeficiente de extinção não fotoquímico ( $qP$ ), sendo

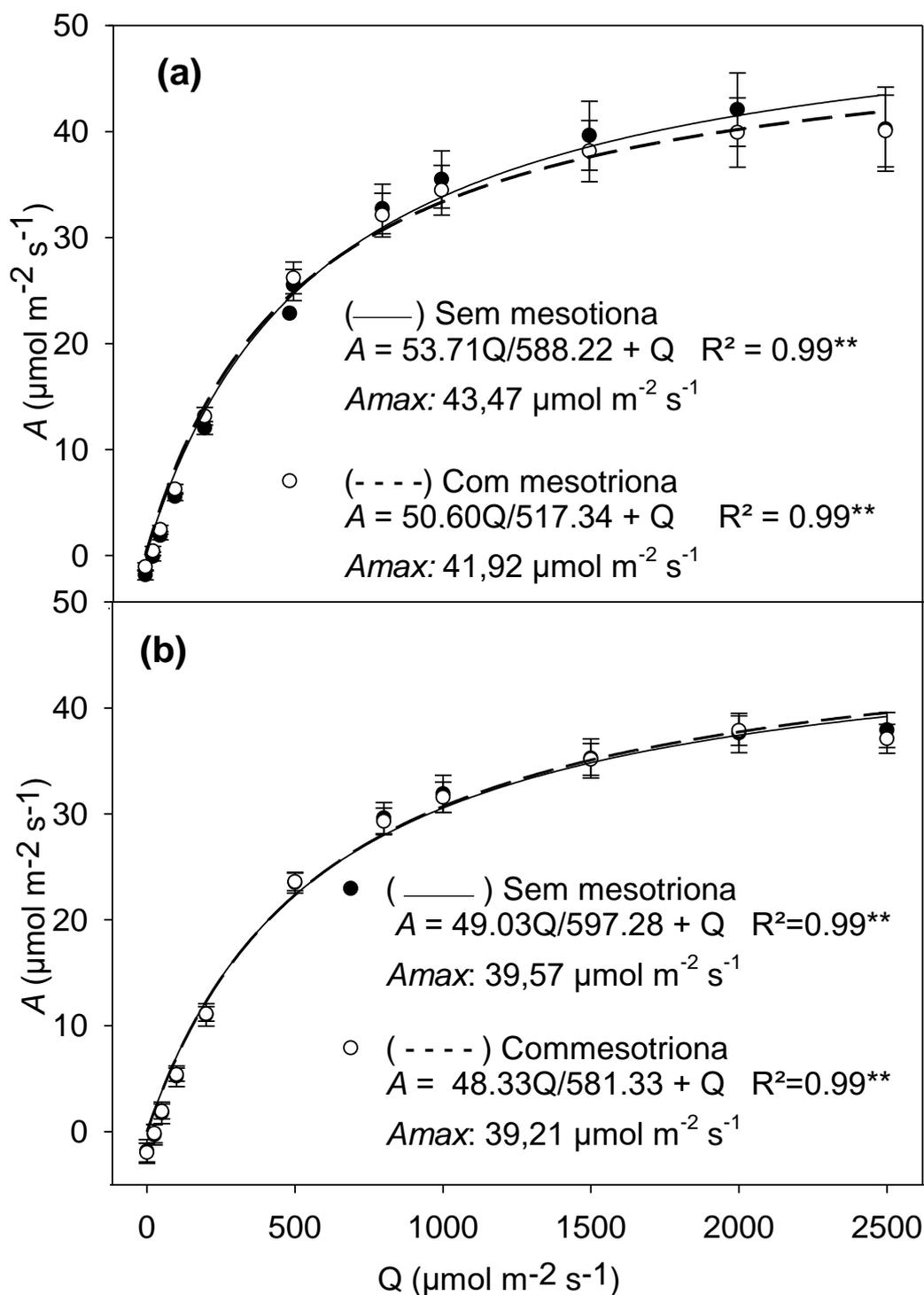
que as plantas com mesotriona apresentaram redução de 4,79%, 1,12%, 14,97%, 7,01% e 8,52%, respectivamente (Tabela 5).

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os obtidos aos 1 DAA do mesotriona no milho (OGLIARI et al., 2009), onde os efeitos fitotóxicos do herbicida interferiam na taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> e na fluorescência da clorofila *a*, sendo esta condição ligada a redução do complexo antena no PS II, devido ao menor teor de carotenóides (YE et al., 2013).

As reduções obtidas na fluorescência da clorofila *a* estão ligadas a efeitos da redução da concentração de carotenóides, podendo ser de curto prazo (efeitos momentâneos) e de longo prazo (efeitos prolongados) como aos 7 DAA (VÍTEK et al., 2017). A redução dos valores de carotenóides leva a redução do complexo antena e reduz captação de luz nos fotossistemas (MCCURDY et al., 2008), o que interfere na fluorescência da clorofila *a*, remetendo que a taxa de transporte de elétrons foi prejudicada. Outra condição está na degradação das membranas das moléculas de clorofila, e conseqüentemente degradação pela fotooxidação.

Portanto, os tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e os reguladores vegetais empregados não são capazes de reduzir os efeitos da intoxicação do mesotriona sobre as trocas gasosas das plantas de milho, bem como não protegem o fotossistema II dos efeitos danosos da inibição da síntese de carotenóides, resultado da intoxicação do mesotriona.

Uma vez que a intoxicação do mesotriona resulta em redução momentânea das trocas gasosas e na fluorescência da clorofila *a*, foi determinado aos 7 e 14 DAA a curva de resposta fotossintética do milho a fim de estudar a redução da capacidade máxima fotossintética. Aos 7 DAA, pode-se observar que plantas que não receberam mesotriona apresentavam máxima taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> ( $A_{max}$ ) de 43,47  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , enquanto as plantas com mesotriona apresentavam 41,92  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , ou seja, 3,56% inferior (Figura 5a). Contudo, aos 14 DAA, as plantas ausentes de mesotriona apresentavam  $A_{max}$  de 39,57  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , enquanto às com mesotriona apresentavam 39,21  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figura 5b), evidenciando que o potencial fotossintético das plantas foi retomado a taxas semelhantes nas plantas tratadas com mesotriona em relação ao controle.



**Figura 5:** Curva de resposta fotossintéticas ( $A$ ) de plantas de milho aos 7 DAA (a) e 14 DAA (b) de mesotriona em funções de diferentes níveis de luminosidade ( $Q$ ) em condições de casa de vegetação, Marechal Cândido Rondon, 2016.

\*\* regressão e coeficientes da regressão significativos a 1% de probabilidade, pelo teste t. barras de erro indicam erro padrão da média para  $n = 16$ .

Os menores valores de  $A_{max}$  aos 7 DAA são resultado da falta de dissipação do excesso luminoso, representado pela elevação da luminosidade na câmara do IRGA, levando a efeito da fotooxidação, associado a redução da eficiência do complexo antena que leva a uma redução nos valores máximos de  $A$  (YE et al., 2013). Por sua vez, aos 14 DAA devido a recuperação da planta, a intoxicação de mesotriona foi reduzida, não sendo mais limitante para a fotossíntese vegetal. Resultados semelhantes foram verificados na redução de  $A_{max}$  em cana-de-açúcar cultivada sob condição de estresse hídrico (MACHADO et al., 2013).

Embora o uso de *A. brasilense* ou regulador vegetal demonstrem potencial em auxiliar na remoção de ERO's ao 1 DAA, de modo geral, esses tratamentos não apresentaram potencial para reduzir a intoxicação do mesotriona na cultura do milho, pois não auxiliaram na manutenção das trocas gasosas, bem como na fluorescência da clorofila, o que limitou aos 7 DAA o potencial fotossintético da planta de milho.

Além do mais, os resultados evidenciam que a redução dos carotenoides pelo mesotriona ocorre em cerca de 75% na cultura do milho ao se comparar as médias gerais do tratamento com e sem mesotriona aos 7 DAA, reduzindo as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila, e incrementando a atividade enzimática da planta pela intoxicação.

Os resultados obtidos no experimento em condições de campo em Marechal Cândido Rondon, demonstrou que a intoxicação das plantas apresentou valor máximo de 3%, enquanto o índice SPAD não diferenciou estatisticamente para nenhuma das fontes de variação estudadas (Tabela 6).

O conteúdo de clorofila total foi influenciado pela interação dos fatores, em que as plantas que receberam *A. brasilense* via semente e via foliar apresentaram superioridade de 19,8% e 20,31%, respectivamente na presença do mesotriona, quando comparado ao seu correspondente tratamento sem mesotriona. Para o teor de carotenoides não se observou diferenças entre o fator com e sem mesotriona, bem como para os tratamentos aplicados. Ao se observar a interação verificou-se que plantas tratadas com mesotriona e *A. brasilense* via foliar apresentaram menor teor de carotenoides, enquanto nas plantas sem mesotriona o menor teor de carotenoides ocorreu nas plantas com *A. brasilense* via semente (Tabela 6).

**Tabela 6:** Intoxicação aos 10 DAA, índice SPAD e teor de carotenoides em plantas de milho em condições de campo após a aplicação de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016/2017.

Tratamento	Intoxicação (%)			Índice SPAD		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	3,0	0,0	1,5	34,95	42,45	38,70
<i>A. brasilense</i> Foliar	2,5	0,0	1,25	37,42	38,42	37,92
<i>A. brasilense</i> Semente	2,25	0,0	1,125	37,82	38,75	38,28
AX+GA+CK	3,0	0,0	1,5	40,02	36,40	38,21
Média	2,68 A	0,0 B		37,55	39,00	

Tratamento	Clorofila total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )			Carotenoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	39,16 aA	41,58 aA	40,37	1,07 aA	0,70 abA	0,89
<i>A. brasilense</i> Foliar	43,11 aA	36,17 aB	39,64	0,37 bB	0,77 abA	0,57
<i>A. brasilense</i> Semente	44,66 aA	37,12 aB	40,89	0,73 abA	0,45 bA	0,59
AX+GA+CK	37,23 aA	38,72 aA	37,97	0,67 abB	1,03 aA	0,85
Média	41,04	38,40		0,71	0,74	

Tratamento	Valores de F calculado			
	Intoxicação	SPAD	Clorofila total	Carotenoides
Mesotriona	0,582 <sup>ns</sup>	0,041 <sup>ns</sup>	0,762 <sup>ns</sup>	3,617*
Interação	119,474*	0,845 <sup>ns</sup>	3,297 <sup>ns</sup>	0,112 <sup>ns</sup>
CV (%)	0,582 <sup>ns</sup>	2,104 <sup>ns</sup>	3,348*	5,334*
	51,76	11,66	10,37	34,04

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras semelhante minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

No experimento conduzido a campo em Entre Rios do Oeste, foi possível verificar efeito significativo da presença ou ausência do mesotriona sobre a intoxicação e índice SPAD, sendo que nas plantas que receberam o herbicida houve maiores valores de intoxicação e redução de 14,33% no índice SPAD (Tabela 7).

**Tabela 7:** Intoxicação aos 10 DAA, índice SPAD e teor de carotenoides em plantas de milho em condições de campo após a aplicação de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Entre Rios do Oeste, 2016/2017.

Tratamento	Intoxicação (%)			Índice SPAD		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	15,75	0,0	7,87	34,35	41,25	37,80
<i>A. brasilense</i> Foliar	8,00	0,0	4,00	32,85	40,60	36,72
<i>A. brasilense</i> Semente	10,75	0,0	5,37	37,12	41,40	39,26
AX+GA+CK	10,75	0,0	5,37	36,90	38,22	37,56
Média	11,312 B	0,0 A		35,30 B	40,36 A	

Tratamento	Clorofila total ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )			Carotenoides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	38,22	39,95	39,08	0,90 aA	1,00 aA	0,95 a
<i>A. brasilense</i> Foliar	44,59	35,98	40,29	0,52 aB	1,03 aA	0,77 a
<i>A. brasilense</i> Semente	38,62	39,95	34,54	0,24 bA	0,38 bA	0,31 c
AX+GA+CK	29,39	39,68	34,53	0,18 bB	0,89 aA	0,53 b
Média	37,71	36,52		0,59	0,70	

Tratamento	Intoxicação	SPAD	Clorofila total	Carotenoides
Mesotriona	2,354 <sup>ns</sup>	0,446 <sup>ns</sup>	1,191 <sup>ns</sup>	18,759 <sup>**</sup>
Interação	115,491 <sup>*</sup>	10,260 <sup>**</sup>	0,184 <sup>ns</sup>	2,892 <sup>ns</sup>
CV (%)	2,354 <sup>ns</sup>	0,840 <sup>ns</sup>	2,666 <sup>ns</sup>	15,391 <sup>**</sup>

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. Letras semelhante minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

O conteúdo de clorofila total não foi significativamente influenciado pelos fatores estudados. O teor de carotenoides não demonstrou diferenças entre o fator com e sem mesotriona, enquanto entre os tratamentos a maior média ocorreu na testemunha e *A. brasilense* via foliar. Ao se observar o desdobramento dos fatores nas plantas tratadas com mesotriona maiores médias ocorreram na testemunha e *A. brasilense* via foliar (Tabela 7).

Para os componentes de produção da cultura do milho não foram observados diferenças significativas para nenhuma das variáveis avaliadas (dados não mostrados). Da mesma forma para a produtividade da cultura do milho tanto para Marechal Cândido Rondon, quanto Entre Rios do Oeste não evidenciam efeitos significativos para nenhuma das fontes de variação estudadas, bem como para sua interação (Tabela 8). Nicolai et al., (2006); Procópio et al., (2006) encontraram

resultados semelhantes ao presente na cultura do milho, onde a aplicação de mesotriona não interferiu no desenvolvimento e produtividade da cultura.

**Tabela 8:** Componentes de produção e produtividade de plantas de milho após a aplicação (DAA) de mesotriona, submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, 2016/2017.

Tratamento	Marechal Cândido Rondon			Entre Rios do Oeste		
	----- Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> ) -----					
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
Testemunha	11576,7	11122,3	11345,5	10010,9	9515,7	9778,3
<i>A. brasilense</i> Foliar	11169,8	10797,3	10983,6	9671,0	9215,4	9443,2
<i>A. brasilense</i> Semente	10504,2	10860,9	10682,5	9880,9	10612,3	10146,6
AX+GA+CK	11678,5	10545,9	11112,2	9261,6	10400,7	9831,1
Média	11232,3	10818,1		9713,6	9936,0	
Valores de F calculado						
Tratamento	0,79 <sup>ns</sup>			1,19 <sup>ns</sup>		
Mesotriona	1,65 <sup>ns</sup>			0,54 <sup>ns</sup>		
Interação	0,95 <sup>ns</sup>			1,94 <sup>ns</sup>		
CV (%)	8,00			8,68		

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; \*\*, \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F. AX+GA+CK: reguladores vegetais (auxina, giberelina e citocinina).

Acreditava-se que as inoculações de *A. brasilense* iriam auxiliar na redução dos efeitos fitotóxicos do mesotriona, devido seus mecanismos de ação que atuam na redução dos estresse ambientais (KAUSHAL; WANI, 2016; VURUKONDA et al., 2016). Dentre esses mecanismos, destaca-se a capacidade de reduzir os níveis de etileno em plantas sob condições de estresse, devido a competição pela enzima precursora da síntese (MAYAK; TIROSH; GLICK, 2004a; GLICK, 2014). Os efeitos benéficos também se mostram em incrementar os teores de clorofila durante o desenvolvimento inicial de plantas (BASHAN et al., 2006), bem como auxiliam a manutenção da atividade fotossintética pela produção do ácido abscísico (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008) que interferem na abertura e fechamento estomático.

#### 4. CONCLUSÃO

O uso da inoculação das sementes com *A. brasilense* ou da aplicação foliar de *A. brasilense* ou regulador vegetal em mistura de tanque com mesotriona não

protegeram o milho da intoxicação provida pelo herbicida durante o desenvolvimento inicial, bem como não incrementam a produtividade da cultura.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINETTO, D.; PERBONI, L. T.; LANGARO, A. C.; GOMES, J.; FRAGA, D. S.; FRANCO, J. J. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application. **Planta Daninha**, v. 34, n. 1, p. 1–9, 2016.

BALBINOT, C. R.; DARIVA, P. A.; SORDI, A.; LAJÚS, C. R.; CERICATO, A.; LUZ, G. L.; KLEIN, C. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho. **Unoesc & Ciência**, v. 7, n. 2, p. 211–218, 2016.

BARCHANSKA, H.; BABILAS, B.; GLUZICKA, K.; ZRALEK, D.; BARANOWSKA, I. Rapid determination of mesotrione, atrazine and its main degradation products in selected plants by MSPD – HPLC and indirect estimation of herbicides phytotoxicity by chlorophyll quantification. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 2, p. 99–114, 2014.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 4, p. 279–285, 2006.

BEAUDEGNIES, R.; EDMUNDS, A. J. F.; FRASER, T. E. M.; HALL, R. G.; HAWKES, T. R.; MITCHELL, G.; SCHAEZTER, J.; WENDEBORN, S.; WIBLEY, J. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors — A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4134–4152, 2009.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.

BULEGON, L. G.; INAGAKI, A. M.; MORATELLI, G.; COSTA, N. V.; GUIMARÃES, V. F. Fitotoxicidade de mesotriona em milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a adubação nitrogenada associated nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 325–331, 2017.

BUONO, D. Del; IOLI, G.; NASINI, L.; PROIETTI, P. A Comparative study on the

interference of two herbicides in wheat and italian ryegrass and on their antioxidant activities and detoxification rates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 12109–12115, 2011.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 97–103, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, 2017.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2014.

GODAR, A. S.; VARANASI, V. K.; NAKKA, S.; PRASAD, P. V. V.; THOMPSON, C. R.; MITHILA, J. Physiological and molecular mechanisms of differential sensitivity of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to mesotrione at varying growth temperatures. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–17, 2015.

GRIGORYUK, I. P.; LYKHOLAT, U. V.; ROSSYKHINA-GALYCHA, G. S.; KHROMYKY, N. O.; SERGA, O. I. Effect of soil herbicides on the antioxidant system of maize vegetative organs during ontogenesis. **Annals of Agrarian Science**, v. 14, n. 1, p. 95–98, 2016.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73–82, 1982.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–4555, 1987.

INAGAKI, A. M.; GUIMARÃES, V. F.; LANA, C.; KLEIN, J.; RODRIGUES, A. C. P.; RODRIGUES, L. F. O. S.; RAMPIM, L. Maize initial growth with the inoculation of plant growth-promoting bacteria ( PGPB ) under different soil acidity levels. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 4, p. 271–280, 2015.

KAUSHAL, M.; WANI, S. P. Rhizobacterial-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 68–78, 2016.

KOZLOWSKI, L. A. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho baseado na fenologia da cultura. **Planta Daninha**, v. 20, n. 3, p. 365–372, 2002.

LANGARO, A. C.; AGOSTINETTO, D.; RUCHEL, Q.; GARCIA, J. R.; PERBONI, L. T. Oxidative stress caused by the use of preemergent herbicides in rice crops. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 358–364, 2017.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

MACHADO, D. F. S. P.; ANDRADE LAGÔA, A. M. M.; RIBEIRO, R. V.; RIBEIRO MARCHIORI, P. E.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C. Baixa temperatura noturna e deficiência hídrica na fotossíntese de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 487–495, 2013.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1161–1170, 2005.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 565–572, 2004.

MCCURDY, J. D.; MCELROY, J. S.; KOPSELL, D. A.; SAMS, C. E.; SOROCHAN, J. C. Effects of mesotrione on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) carotenoid concentrations under varying environmental conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 9133–9139, 2008.

MITCHELL, G.; BARTLETT, D. W.; FRASER, T. E.; HAWKES, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. **Pest Management Science**, v. 57, n. 2, p. 120–128, fev. 2001.

NICOLAI, M.; OVEJERO LÓPES, R. F.; CARVALHO, S. J. P.; MOREIRA, M. S.; CHISTOFFOLETI, P. J. Efeitos da adubação nitrogenada em cobertura sobre a seletividade de herbicidas à cultura do milho. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 279–286, 2006.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In:

- Métodos de pesquisa em fertilidade do solo.** Brasília: Embrapa, 1991. p. 392.
- O'SULLIVAN, J.; ZANDSTRA, J.; SIKKEMA, P. Sweet corn (*Zea mays*) cultivar sensitivity to mesotrione. **Weed Technonology**, v. 16, n. 2, p. 421–425, 2002.
- OGLIARI, J.; FREITAS, S. P.; RAMOS, A. C.; BRESSAN SMITH, R. E.; FAÇANHA, A. R. Sistemas primários de transporte de prótons integram os mecanismos de desintoxicação do mesotrione em plantas de milho. **Planta daninha**, v. 27, n. 4, p. 799–807, 2009.
- OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; CUNHA, R. C.; SOUZA, M. W. L.; LIMA, L. A. Use of biostimulants in relieving salt stress in popcorn. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 307–315, 2016.
- PROCÓPIO, S. O.; ROSENTHAL, M. D.; PINTO, J. J. O.; JÚNIOR, J.; ABRAÃO, E.; PERES, W. B.; ZANATTA, J. F.; FILHO, A. C.; SGANZERLA, D. C.; CARNEIRO, J. C.; AMARILLA, L.; FRANZINI, W. Toxicidade do herbicida mesotrione em plantas de milho provenientes de sementes com diferentes formatos e dimensões. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 1, p. 145–152, 2006.
- RADEMACHER, W. Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 4, p. 845–872, 2015.
- SBCPD - Sociedade Brasileira de Ciências das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas.** Londrina: Sociedade Brasileira de Plantas Daninhas, 1995.
- SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: **Ecophysiology of Photosynthesis.** Springer Study Edition, v. 100. Springer, Berlin, 1994. p. 49–70.
- STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005.
- VÍTEK, P.; NOVOTNÁ, K.; HODAŇOVÁ, P.; RAPANTOVÁ, B.; KLEM, K. Detection of herbicide effects on pigment composition and PSII photochemistry in *Helianthus annuus* by Raman spectroscopy and chlorophyll *a* fluorescence. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 170, p. 234–241, 2017.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

XIA, X.; ZHOU, Y.; SHI, K.; ZHOU, J.; FOYER, C. H.; YU, J. Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 10, p. 2839–2856, 2015.

YE, Z.; SUGGETT, D. J.; ROBAKOWSKI, P.; KANG, H. A mechanistic model for the photosynthesis – light response based on the photosynthetic electron transport of photosystem II in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> species. **New Phytologist**, v. 199, p. 110–120, 2013.

ZAWOZNIK, M. S.; AMENEIROS, M. Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum* - inoculated barley seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 3, p. 1389–1397, 2011.

**CAPÍTULO III**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL COMO  
MITIGADORAS DOS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS**

**PROMOTING BACTERIA OF PLANT GROWTH AS MITIGATING THE EFFECTS  
OF DROUGHT IN PLANTS**

**Resumo:** a ocorrência de déficit hídrico é um dos principais fatores que limitam a produtividade vegetal, sendo constante a busca por inovações para minimizar as perdas ocasionadas pela limitação hídrica. Assim, objetivou-se demonstrar os efeitos da deficiência hídrica e os mecanismos envolvidos na mitigação da deficiência hídrica em plantas via a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV's). As BPCV's, podem ser aplicadas via inoculação das sementes, no sulco de semeadura ou via pulverização foliar, podendo atuar de forma a maximizar os mecanismos de defesa vegetal contra a deficiência hídrica e outros tipos de estresse. A mitigação da deficiência hídrica por parte das BPCV's envolve estímulos em diferentes sítios de ação nos vegetais, como a produção de hormônios vegetais, promoção de crescimento radicular, ação no sistema antioxidante vegetal auxiliando na remoção ou evitando a produção de espécies reativas de oxigênio, redução na concentração de etileno pela ação da enzima ACC deaminase, estímulos na produção e proteção de pigmentos fotossintéticos, sinalização para o fechamento estomático e produção de compostos osmoticamente ativos. Esses mecanismos atuam nas plantas conjuntamente, o que resulta na mitigação dos efeitos da deficiência hídrica. O uso de BPCV's pode mitigar os efeitos do déficit hídrico de forma a minimizar as perdas na produção vegetal.

**Palavras chaves:** Promoção de crescimento vegetal. Hormônios vegetais. Mitigação da deficiência hídrica. adaptações vegetais.

**Abstract:** the occurrence of drought is one of the main limitations of plant productivity, and the search for innovations to minimize losses caused by constant water limitation. The objective was to demonstrate the effects of drought and the mechanisms involved in the mitigation of water deficiency in plants through the use of plant growth promoting bacteria (PGPB's). PGPB 's can be applied in seed inoculation, in the sowing groove and via foliar spraying, acting in a way to maximize the mechanisms of vegetal defense against drought, which results in the mitigation of negative effects. Mitigation of drought by PGPB's involves stimuli at different sites of action in plants, such as the production of phytohormones; root growth promotion; action in the vegetal antioxidant system assisting in the removal or avoiding the production of reactive oxygen species; reduction in ethylene concentration by the action of the enzyme ACC deaminase; stimuli in the production and protection of photosynthetic pigments; signaling for

stomatal closure and production of active osmolyte compounds. These mechanisms act on plants together which results in mitigation of the effects of water deficiency. The use of PGPB's has the capacity to mitigate the effects of the water deficit in order to minimize the losses in the vegetal production.

**Keywords:** Plant growth promotion. Plant hormones. Mitigation of water deficiency. plant adaptations.

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas estão sujeitas a ocorrência de estresses durante seu desenvolvimento, dentre os quais, destaca-se a deficiência hídrica. O déficit hídrico causa nas plantas uma série de respostas negativas que refletem em menor desenvolvimento vegetal, incrementos na produção de espécies reativas de oxigênio, maior degradação de clorofilas, maior produção de etileno, abortamento de órgãos vegetais e menor produção final de plantas.

Em razão da limitação hídrica, os vegetais desenvolveram estratégias de tolerância que se relacionam a encurtar o ciclo, manter seu potencial fisiológico, ou manter-se hidratado mesmo em condições de seca. Estas estratégias são ligadas a adaptações de respostas mais rápidas, como o fechamento estomático, redução da área foliar ou abortamento de órgãos em condições mais severas.

Visto a importância da deficiência hídrica como limitante da produção vegetal, muitos estudos são empregados buscando formas de minimizar seus danos. Dentre esses destaca-se a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV's), que apresentam mecanismos que levam a mitigar os danos da seca, como a produção de hormônios vegetais, promoção de crescimento radicular, incrementos no sistema antioxidante vegetal reduzindo os efeitos negativos das espécies reativas de oxigênio (ERO's), presença da ACC deaminase que utiliza o substrato precursor do etileno minimizando a produção e concentração de etileno nos tecidos vegetais, proteção e estímulos na produção de moléculas de clorofila e carotenoides, produção e estímulos na produção de compostos osmólitos que sinalizam a incidência de estresse hídrico resultando em fechamento estomático. Assim, as BPCV's são utilizadas em diversas espécies vegetais como mitigadoras da deficiência hídrica.

Desta forma, a presente revisão objetivou demonstrar os efeitos da deficiência hídrica e os mecanismos envolvidos na mitigação da deficiência hídrica em plantas via a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal.

## 2. DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS CULTIVADAS

A água é um composto essencial para a manutenção da vida e a capacidade produtiva das culturas agrícolas. Essa condição está ligada às suas propriedades químicas e físicas que lhe garante particularidades exclusivas, nas quais destaca-se as propriedades térmicas como alto ponto de fusão e ebulição, calor latente de fusão e vaporização e alto calor específico, que possibilitam a manutenção da água na forma líquida em condições ambientes, salvo algumas exceções (LARCHER, 2003; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Nos vegetais a água exerce funções chave, como a manutenção do turgor da planta favorecendo o alongamento celular, as trocas gasosas e o transporte nos vasos condutores. Em condições estressantes como a deficiência hídrica ocorre a perda do turgor que desencadeia uma desorganização celular e interrupção do fluxo nos vasos condutores pela formação de cavitações (CATUCHI et al., 2012). Nas trocas gasosas, a água tem papel fundamental, no resfriamento vegetal, na troca de gases pelos estômatos e no transporte eletrônico fornece os primeiros elétrons com a fotólise da água (SLAMA et al., 2015).

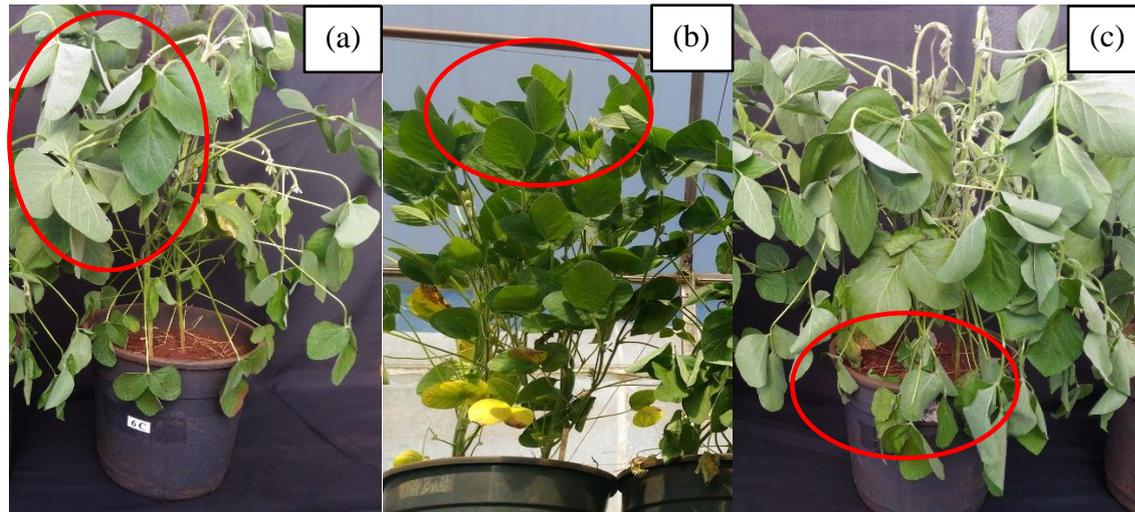
Em culturas agrícolas a água representa entre 40% a 80% da massa fresca total de acordo com o estágio de desenvolvimento. Todavia, grande parte dessa água é perdida para a atmosfera, através da evapotranspiração, sendo essa perda variável de acordo com a anatomia vegetal e fisiologia vegetal. No comparativo entre plantas  $C_3$  e  $C_4$  em condições de campo, observa-se taxas fotossintéticas próximas, contudo em  $C_3$  a transpiração é elevada com valores de  $8,816 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  frente a  $4,673 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  da  $C_4$ , o que resulta em uma eficiência no uso da água de  $3,71 \text{ mg g}^{-1}$  nas  $C_3$  sendo 50,4% inferior às plantas  $C_4$  (YU; WANG; ZHUANG, 2004).

Visto a importância fundamental da água, a limitação hídrica ocorre em decorrência de um balanço hídrico negativo nos vegetais, ou seja, a água absorvida via sistema radicular é menor que a água perdida via trocas gasosas (CARLESSO, 1995; SANTOS; CARLESSO, 1998; NASCIMENTO et al., 2011). A deficiência hídrica é classificada em quatro estágios: I - ligeira deficiência hídrica; II – deficiência hídrica

moderada; III – deficiência hídrica severa e IV - deficiência hídrica letal (SINCLAIR; LUDLOW, 1986; PIMENTEL, 2004).

Visando superar a ocorrência da deficiência hídrica as plantas desenvolveram estratégias que minimizam os efeitos da limitação hídrica sobre sua atividade fisiológica. Para superar essa condição as plantas fazem o uso de alguns mecanismos distintos; *Evitar a seca*: mantendo o seu status hídrico mesmo em ambientes secos; *Tolerar a seca*: as funções essenciais são mantidas em equilíbrio mesmo com a falta de água; e *Escapar a seca*: a planta completa seu ciclo antes de ocorrer o déficit hídrico (KRAMER, 1980). Tais estratégias envolvem modificações/adaptações a níveis fisiológicos, morfológicos e estruturais, e diferenciam de acordo com cada espécie vegetal (SOUZA; MATTA; FÁVERO, 2014).

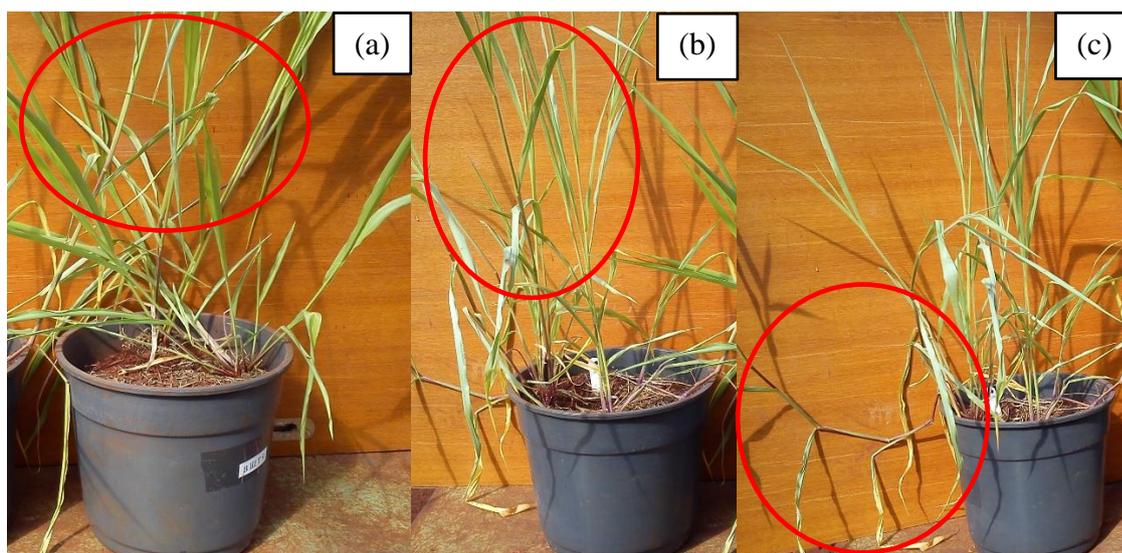
As adaptações fisiológicas e estruturais são semelhantes nos vegetais, sendo as primeiras a responderem à deficiência hídrica representadas pelo fechamento estomático que resulta na perda de turgescência vegetal (Figura 6a e 7a); e a segunda pelo abortamento de órgãos vegetais como folhas e estruturas reprodutivas que podem variar de acordo com a espécie e o momento de desenvolvimento vegetal (Figura 6c e 7c).



**Figura 6:** Efeitos da incidência da deficiência hídrica sobre a soja; (a) murcha da planta durante o dia devido a perda de turgescência; (b) paraheliotropismo das folhas para reduzir a área foliar da incidência direta de radiação solar e reduzir perdas com transpiração; (c) morte de folhas do terço inferior devido à maior intensidade e duração da deficiência hídrica.

Nota: círculos em vermelho destacam o efeito descrito. Fotos: Bulegon (2016).

Quando se considera as adaptações morfológicas, essas atuam na redução da área foliar, para diminuir a perda de água por transpiração e amenizar os efeitos do aquecimento vegetal (SANTOS; CARLESSO, 1998). Quando considera-se a planta a soja, as mesmas utilizam o paraheliotropismo que resulta na modificação do ângulo da folha, ficando estas paralelas aos raios solares minimizando o aquecimento e as taxas de transpiração foliar (Figura 7b) (CASAROLI et al., 2007; GAVA et al., 2015). Por sua vez, as plantas que possuem folhas do tipo lanceoladas como as poaceas, possibilitam a redução da área foliar por meio do enrolamento das folhas (Figura 7b) (KUNZ et al., 2007).



**Figura 7:** Efeitos da incidência da deficiência hídrica sobre braquiária (*Urochloa ruziziensis*); (a) murcha da planta durante o dia devido a perda de turgescência; (b) redução da área foliar exposta a radiação solar para reduzir perdas com transpiração; (c) morte e abortamento de estruturas devido à maior intensidade e duração da deficiência hídrica.

Nota: círculos em vermelho destacam o efeito descrito. Fotos Bulegon (2015).

Mesmo com as estratégias de defesa e adaptação a deficiência hídrica, a ocorrência dessa resulta em uma série de respostas negativas no sistema fisiológico, bioquímico e na morfologia vegetal, resultando em perdas significativas na produtividade agrícola. Entre as respostas negativas desencadeadas pelo déficit hídrico destaca-se a redução da taxa fotossintética (VIEIRA et al., 2013; BULEGON et al., 2017a), degradação da ultraestrutura celular pelo aumento da produção de radicais livres que ocasionam a peroxidação lipídica (BARBOSA et al., 2014; BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014; SCHIEBER; CHANDEL, 2014), degradação das

moléculas de clorofila devido a fotooxidação e peroxidação lipídica (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016), aumento na produção e concentração de etileno nos tecidos (MAYAK; TIROSH; GLICK, 2004b), redução do crescimento de estruturas vegetativas e reprodutivas (KUNZ et al., 2007), abortamento de estruturas vegetativas e reprodutivas (CATUCHI et al., 2011; FIOREZE et al., 2011) e por consequência redução da produtividade (GAVA et al., 2015).

Em soja cultivada sob déficit hídrico a manutenção do teor de água nas folhas é essencial para a produtividade (FIOREZE et al., 2011). Chavarria et al. (2015), citam a redução na capacidade fotossintética máxima em plantas de soja sob déficit hídrico, e devido a essa condição são reportadas reduções na produção da cultura (NADERI et al., 2013; FAROOQ et al., 2016). Em plantas forrageiras são demonstrados redução da expansão foliar, aumento da senescência foliar e diminuição da emissão de perfilhos (MATTOS; GOMIDE; HUAMAN, 2005; SILVA et al., 2005b; ZHOU; LAMBRIDES; FUKAI, 2013). Na cultura do milho sob déficit hídrico, a redução da área foliar e conseqüentemente menor aproveitamento da radiação fotossinteticamente ativa, apresentaram produtividade de 334 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto as plantas irrigadas, que não tiveram limitação da área foliar obtiveram produtividade de 9295 kg ha<sup>-1</sup> (KUNZ et al., 2007). No trigo, o déficit hídrico imposto no início do florescimento da cultura ocasionou redução dos componentes da produção da cultura, e conseqüentemente menor produtividade final (SANTOS et al., 2012), enquanto na cultura do arroz a limitação hídrica resultou em menores taxas de trocas gasosas (LAUTERI et al., 2014).

Assim, a deficiência hídrica se torna um dos fatores mais limitantes da produtividade que incide sobre as culturas agrícolas, principalmente em áreas onde o fornecimento de água depende das precipitações. A pesquisa tem voltado sua atenção para reduzir os efeitos do déficit hídrico sobre as plantas cultivadas, de forma pontual, surgindo como opção uma série de tecnologias, destacando-se o uso de reguladores vegetais (FAHAD et al., 2014; RADEMACHER, 2015), nutrientes via aplicação foliar (FIOREZE et al., 2013; MAGHSOUDI; EMAM; ASHRAF, 2015; NAWAZ et al., 2015) e o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal, que será exemplificada e discutida no decorrer desta revisão.

### 3. FORMAS DE UTILIZAÇÃO DAS BPCV's

A principal forma de utilização das BPCV's atualmente se dá via inoculação das sementes. Essa prática é feita realizada pela aplicação do inoculante diretamente sobre a massa de sementes onde as bactérias se aderem à superfície e ao iniciar o processo de germinação estas colonizam as raízes e se proliferam nessa região, dando início a colonização do sistema radicular. Todavia, essa prática apresenta algumas limitações relatadas na literatura como: para sementes pequenas tem-se uma limitação do número de células por sementes; sementes peletizadas dificultam a chegada das bactérias e favorecem a desidratação das células bacterianas; algumas espécies produzem naturalmente compostos antibióticos, tendo morte das bactérias e por fim nas grandes culturas o tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas reduzem a capacidade de colonização das bactérias (BASHAN; DE-BASHAN, 2010, 2015; CASSÁN; OKON; CREUS, 2015).

Outra forma, conhecida e difundida, principalmente para bactérias nodulantes é a aplicação via solo (BASHAN; DE-BASHAN, 2015), mas também pode ser aplicada as demais BPCV's. Contudo, os mesmos autores não recomendam a técnica para algumas BPCV, como a *A. brasilense*, por exemplo. O princípio desta técnica consiste na capacidade de sobrevivência das bactérias no solo. Assim, após o processo de germinação e emissão das raízes, através de liberação de compostos químicos pelas plantas, as bactérias são atraídas e colonizam as raízes iniciando o processo de reprodução. Estudos envolvendo, a aplicação de *A. brasilense* e *B. japonicum* via semente e via solo na cultura da soja, citam que a soja não foi responsiva a inoculação de *A. brasilense* via solo, todavia, apresentou elevação no número de nódulos, área foliar e massa seca de parte aérea, quando o *A. brasilense* foi inoculado na semente e o *B. japonicum* via solo (BULEGON et al., 2016), corroborando com a os relatos apresentados por autores anteriormente no texto.

Mais recentemente passou a se explorar a aplicação das BPCV's através da pulverização foliar em grandes culturas anuais. Tal técnica ainda tem os princípios de ação pouco explorados e pode variar a eficiência de acordo com a espécie de BPCV's em utilização, sendo relatado a eficiência no uso para as BPCV's que são endofíticas. Essas, BPCV's possuem capacidade de colonizar os tecidos vegetais e se multiplicam disponibilizando fatores de crescimento para o vegetal (OLIVARES et al., 2017).

Os produtos contendo BPCV's utilizados para aplicação foliar na literatura internacional são denominados de "*biofertilizer*", ou, biofertilizante. Para se enquadrar

nessa condição, os biofertilizantes devem conter organismos vivos, que aplicados nas sementes, na superfície foliar ou no solo, colonizam as plantas e promovem o crescimento pelo incremento de fatores produtivos ou na habilidade de fornecer nutrientes para as plantas (VESSEY, 2003).

Alguns trabalhos citados por Sudhakar et al. (2000), a aplicação via foliar de BPCV's apresenta as seguintes vantagens: proximidade com os sítios de ação; menor competição com outros microrganismos e fatores de crescimento no filoplano das folhas e potencial de reduzir a presença de bactérias e fungos patogênicos.

Nesse sentido, estudos envolvendo a aplicação foliar de BPCV's evidenciam respostas positivas ou negativas sobre a produção das culturas agrícolas. Ausência de efeitos significativos são demonstrados em soja submetidas a doses crescente (0 a 700 mL ha<sup>-1</sup>) de *A. brasilense* (ZUFFO et al., 2016). No trigo a mesma bactéria não se mostrou responsiva a inoculação foliar com doses de 300 a 400 mL ha<sup>-1</sup> (PEREIRA et al., 2017), bem como na cultura do milho com aplicação de 250 mL ha<sup>-1</sup> (KAPPES; SILVA; FERREIRA, 2017).

Uma série de respostas positivas também são demonstradas, como no arroz irrigado onde o uso da aplicação foliar de *A. brasilense* incrementa o pH e produtividade, sendo a dose de 200 mL ha<sup>-1</sup> a de maior resposta (GARCIA et al., 2016). Em frutíferas como a amora (*Morus alba*), o fornecimento de *Azotobacter* spp. no florescimento elevou a produção de folhas e frutos (SUDHAKAR et al., 2000). Para o damasco (*Prunus armeniaca*), e a cereja doce (*Prunus avium* L.) a o uso de *Bacillus* spp. aplicado no florescimento da cultura incrementou o acúmulo de nutrientes no fruto (ESITKEN et al., 2003, 2006).

Para a inoculação das BPCV's uma série de possibilidades e formas de aplicação se apresentam. Todavia, a aplicação via foliar ainda necessita de maiores estudos em relação à sua eficácia, pois essa etapa é fundamental para garantir a eficiência do uso das BPCV's nas mais diversas espécies vegetais, seja visando mitigação de efeitos da deficiência hídrica, incrementos em acúmulo de massa ou maior produtividade.

#### **4. UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

A forma mais eficiente de minimizar este efeito é através do melhoramento genético, que resulta na seleção de plantas com características desejáveis para a maior tolerância à deficiência hídrica. Como exemplo pode-se citar, na cultura do milho, uma característica desejável que é o “stay-green” associado à produção de grãos, prolificidade e o florescimento feminino (CÂMARA et al., 2007). Todavia, na mesma cultura, foi demonstrado que outros fatores estão envolvidos na tolerância como o desenvolvimento radicular (HEINEMANN et al., 2009).

A curto prazo são buscadas formas de minimizar os efeitos da ocorrência da deficiência hídrica, se mostrando como opção o uso de reguladores vegetais (RADEMACHER, 2015), e as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV's). As BPCV's apresentam uma série de mecanismos que auxiliam as plantas em condições de deficiência hídrica, sejam aplicadas via semente (FIGUEIREDO et al., 2008; BANO et al., 2013; KUMAR et al., 2016), ou via foliar (ZAKIKHANI et al., 2012; BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016; BULEGON et al., 2017a).

A mitigação dos efeitos da deficiência hídrica sobre plantas ocorre devido a estímulos e/ou proteção que as mesmas exercem no vegetal. Contudo, destaca-se que os estímulos são variados de acordo com a espécie de bactéria utilizada e a cultura que está sendo estudada. Considerando o exposto, a seguir serão listados os principais mecanismos estimulados pelas BPCV's envolvidos na mitigação dos efeitos causados pela deficiência hídrica.

##### **4.1 PRODUÇÃO DE HORMÔNIOS VEGETAIS**

A produção e/ou estímulos à produção de hormônios vegetais foi um dos primeiros efeitos a serem estudados em função do uso das BPCV's, sendo que grande parte dos efeitos dessas bactérias estão direta ou indiretamente ligadas aos hormônios vegetais.

Quando se considera a produção de hormônios vegetais, as BPCV's podem ou não apresentar produção de hormônios vegetais, e quando apresentam podem ser um ou vários compostos. Todavia, destaca-se que o principal hormônio produzido pelas BPCV's é o ácido indol-acético (AIA), uma auxina, sendo esse demonstrado

para diversas bactérias. Quando se considera as diversas espécies de BPCV's, as que apresentam maior gama na produção de hormônios são a *Azospirillum brasilense* e a *Bacillus* sp., com destaque para o *Bacillus subtilis* (Tabela 9).

Estudos que envolveram hormônios vegetais, apontam a efetividade para a mitigação dos efeitos da deficiência hídrica em plantas. O aumento na concentração de auxinas nos tecidos (dentro de um nível adequado) incrementa o desenvolvimento radicular de plantas e promove melhor arquitetura radicular, o que culmina em maior capacidade de exploração do solo e absorção de água e nutrientes (LI et al., 2018). Também é relatado na literatura que a redução na produção de espécies reativas de oxigênios (ERO's) ocorre pela aplicação exógena de auxina, na forma AIA, e quando em níveis mais baixos de auxina tem-se um aumento das ERO's e uma menor tolerância à seca, em *Arabidopsis* sp. (KINOSHITA et al., 2012). Portanto, a presença de auxina nos tecidos vegetais auxiliou na manutenção do status hídrico, classificando cultivares de soja com maiores teores de auxina, em grupos tolerantes ao déficit hídrico (VIEIRA et al., 2013).

**Tabela 9:** Resultados quanto a produção de auxina, giberelina, citocinina e ácido abscísico por parte das bactérias promotoras de crescimento vegetal.

BPCV	Auxina	Giberelina	Citocinina	Ácido abscísico	Fonte
<i>Azospirillum brasilense</i>	+	+	+	+	Bottini et al. (1989); Radwan et al. (2005); Kuss et al. (2007); Perrig et al. (2007); Cohen et al. (2008); Cassán et al. (2009); Cohen et al. (2009)
<i>Burkholderia</i> sp	+	+	--	--	Halda-Alija (2003); Joo et al. (2009); Kang et al. (2010)
<i>Bacillus</i> sp.	+	+	+	+	Gutiérrez-Mañero et al. (2001); Araújo et al. (2005); Arkhipova et al. (2005); Grover et al. (2014); Reetha et al. (2014)
<i>Pseudomonas</i> sp	+	+	--	--	Akiyoshi et al. (1987); Patten & Glick (2002); Kang et al. (2014); Reetha et al. (2014)
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	+	--	--	--	Bianco & Defez (2009); Golubev et al. (2011)

+ representa a produção do hormônio; -- representa que não foram encontrados relatos na literatura da produção do respectivo hormônio para a BPCV.

A giberelina, em condições de deficiência hídrica atua incrementando o conteúdo de cloroplastos e de ácidos nucleicos, além de alongamento e divisão celular. A aplicação exógena de giberelina incrementou a atividade antioxidante em plantas de canola as quais apresentaram menores efeitos da limitação hídrica (LI et al., 2010).

Na cultura do arroz a ocorrência de deficiência hídrica levou a incremento na síntese de citocinina de forma coordenada ao sistema de síntese de carbono e

nitrogênio, o que acarretou em manutenção da atividade fisiológica, e maior tolerância ao déficit hídrico (REGUERA et al., 2013). Na espécie *Agrostis stolonifera* a aplicação exógena de citocinina de forma quinzenal, associada com fertilizante nitrogenado, incrementou a capacidade de tolerância a deficiência hídrica, devido a aumentar a atividade das enzimas do sistema antioxidante, resultando em menor acúmulo de ERO's (CHANG et al., 2016). De forma similar, a aplicação exógena de citocinina elevou a tolerância do trigo a deficiência hídrica (KUMARI; KUMAR; PRAKASH, 2018).

O ácido abscísico (ABA) está diretamente ligado ao processo de fechamento estomático quando em condições de deficiência hídrica. Portanto, a aplicação exógena de ABA resultou em menor peroxidação lipídica, por estímulos na atividade antioxidante e manutenção de maiores teores de água nas folhas de plantas de Kiwi (WANG et al., 2011). Em *Cotinus coggygria*, além dos efeitos citados anteriormente foi observado menor abertura estomática e maior taxa fotossintética (LI et al., 2011).

Visto serem relatados várias respostas positivas dos hormônios vegetais quando em condições de deficiência hídrica, as BPCV's, quando inoculadas, trazem resultados semelhantes, pois estas levam ao aumento dos níveis de hormônios nos tecidos vegetais. Assim, os efeitos se mostram benéficos e são descritos na tabela 10, para diferentes espécies de BPCV's e culturas.

**Tabela 10:** Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto a produção de hormônios vegetais em condições de déficit hídrico.

BPCV	Espécie	Resultados encontrados	Fonte
<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Incrementos nos níveis de ácido abscísico	Cohen et al. (2015)
	<i>Zea mays</i>	Incrementos nos níveis de giberelina e ácido abscísico.	Cohen et al. (2009)
<i>Bacillus sp.</i>	<i>Zea mays</i>	Produção de ácido indol-acético (auxina), giberelina e citocinina,	Vardharajula et al. (2011)
	<i>Lactuca sativa</i>	Produção de citocinina, sendo que em condições de deficiência hídrica foi obtido na testemunha menor teor de citocinina.	Arkhipova et al. (2007)
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Zea mays</i>	Os resultados sugeriram incrementos na concentração de jasmonatos e ácido salicílico em plantas de soja.	Kang et al. (2014)
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	<i>Medicago sativa</i>	Incrementos na síntese de citocinina que atuou como sinalizador, incrementando a atividade do sistema de defesa vegetal a deficiência hídrica, sem afetar a fixação biológica da espécie.	Xu et al. (2012)

Desta forma, de acordo com o demonstrado na tabela 9, associado com os resultados por parte das BPCV's pela produção de hormônios (Tabela 10), fica evidenciado que os hormônios vegetais são fundamentais na manutenção do status

hídrico vegetal, sendo as BPCV's uma opção para amenizar os efeitos da deficiência hídrica em plantas.

#### 4.2 PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO RADICULAR

A promoção de crescimento radicular é um efeito relacionado com a produção de hormônios vegetais por parte das BPCV's. Esta atua em condições de deficiência hídrica amenizando os efeitos devido a maior capacidade de exploração do solo pelo sistema radicular, o que resulta em maior possibilidade de absorção de água.

A maior exploração do solo, quando a planta “identifica” a limitação hídrica é uma resposta já conhecida dos vegetais. Em soja cultivada com ausência de limitação hídrica, 97% do sistema radicular se concentra na camada de 0 a 23 cm (BENJAMIN; NIELSEN, 2006). Os mesmos autores relatam que em ervilha e grão de bico, 80% do sistema radicular se concentra de 0 – 23 cm em condição irrigadas. Todavia, em condições de limitação hídrica apenas 66% do sistema radicular se concentra nessa camada do solo. Condição semelhante foi demonstrada em plantas de milho sob déficit moderado, que tiveram um aumento do sistema radicular se desenvolvendo em camadas mais profundas do solo para buscar água (EGHBALL; MARANVILLE, 1993).

Para o *Bacillus* spp. são relatados na cultura do feijoeiro incrementos entre 58% a 71% em massa fresca de raízes, comparado ao tratamento controle (LÓPEZ-BUCIO et al., 2007). O mesmo é demonstrado para as *Pseudomonas* spp. onde observou-se incrementos de 35% no sistema radicular de canola, associado à produção de AIA (PATTEN; GLICK, 2002). Na tabela 11 são demonstrados mais resultados por parte das BPCV's no desenvolvimento radicular e na mitigação da deficiência hídrica.

**Tabela 11:** Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto ao desenvolvimento radicular em condições de déficit hídrico.

BPCV	Espécie	Resultados encontrados	Fonte
<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Zea mays</i>	Incrementos no desenvolvimento do sistema radicular, que resultaram no incremento da massa de planta de milho.	Rodriguez-Salazar et al. (2009)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Sorghum bicolor</i>	Foram observados que plantas inoculadas mantiveram maiores valores de umidade do solo, pela formação de uma película na rizosfera, que auxilia na manutenção da umidade incrementando o acúmulo de massa e o conteúdo de pigmentos foliares.	Grover et al. (2014)
	<i>Retama sphaerocarpa</i>	Maior desenvolvimento radicular, associando a inoculação do <i>Bacillus</i> sp. e micorriza, o que em déficit hídrico manteve a absorção de água e nutrientes e como resultado maior desenvolvimento da planta.	Marulanda et al. (2006)
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Catharanthus roseus</i>	Desenvolvimento radicular, resultou em incrementos de acúmulo de massa fresca e seca de parte aérea, bem como em altura de plantas.	Jaleel et al. (2007)

Nesse sentido, relatos na literatura evidenciam a capacidade de incrementos no sistema radicular, principalmente em condições de desenvolvimento inicial de culturas com o uso das BPCV's. Na cultura do trigo a inoculação das sementes com *A. brasilense* resultou em maior comprimento do sistema radicular, com valores variando entre 11% a 50%, de acordo com a cultivar em estudo, no desenvolvimento inicial da cultura (RAMPIM et al., 2012). Em plantas de arroz o *A. brasilense* promoveu incrementos em comprimento de raízes variando de 7% a 24%, dependendo da estirpe em questão (GUIMARÃES et al., 2013).

Visto a eficiência de promoção do crescimento radicular em função do uso de BPCV's, e o levantado sobre a exploração radicular do solo quando na presença da deficiência hídrica, o uso das BPCV's apresenta potencial para mitigar os efeitos da deficiência hídrica através desse mecanismo.

#### 4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Quando a planta é submetida à condição de deficiência hídrica, desencadeia-se uma desordem fisiológica (ZHOU; LAMBRIDES; FUKAI, 2013), ocasionando uma sobra de O<sub>2</sub> e culminando na formação do superóxido, ainda nessa condição ocorre a fotorrespiração e fotooxidação resultando também na formação de ERO's. Essas ERO's podem ser do tipo superóxido (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>), radicais hidroperoxila (HO<sub>2</sub>•<sup>-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radicais hidroxila (HO•) (ESTEVES; SUZUKI, 2008; ASHRAF, 2009).

O sistema antioxidativo vegetal é composto por uma série de enzimas, com destaque para as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e as peroxidases (POD). Embora o sistema de defesa das plantas seja eficiente, é prejudicado em condições de déficit hídrico severo, onde tem-se o rompimento da relação entre a atividade das enzimas antioxidativas e a produção de ERO's, ficando a planta exposta a degradação e morte celular (CAO et al., 2015).

Vários trabalhos indicam a elevação na atividade das enzimas do estresse oxidativo em condições de déficit hídrico (AIMAR et al., 2014; AHMED et al., 2015; HENDGES et al., 2015; KUMAR et al., 2015). Contudo, os resultados mostram que o sistema não necessariamente se eleva como um todo, sendo relatado em alguns momentos maior importância da SOD (LI et al., 2015b), em outros da POD (LIU; CHAN, 2015; NAWAZ et al., 2015) e também maior importância da CAT (CAMPOS et al., 2011; AIMAR et al., 2014).

Quando se considera as BPCV's, essas atuam em duas vias distintas dentro do sistema antioxidativo, aumentando a atividade desse sistema ou reduzindo a atividade desse sistema, conforme demonstrado na Tabela 12.

**Tabela 12:** Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto ao sistema antioxidante em condições de déficit hídrico.

BPCV	Espécie	Resultados encontrados	Fonte
<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Urochloa ruziziensis</i>	Incremento na atividade antioxidante vegetal, resultando em menor degradação de clorofilas e carotenoides.	Bulegon et al. (2016)
	<i>Glycine max</i>	Enzimas antioxidantes desempenham um papel importante no alívio dos efeitos prejudiciais do estresse hídrico.	Zakikhani et al. (2012)
<i>Burkholderia</i> sp.	<i>Zea mays</i>	Menor produção de ERO's que aliviou o efeito do déficit hídrico, pelo aumento na capacidade antioxidante. Menor abertura estomática, mantendo a taxa fotossintética em condições de seca, levando ao aumento na eficiência no uso da água.	Fan et al. (2015)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Zea mays</i>	Redução da atividade antioxidante das enzimas ascorbato peroxidase, catalase, glutathione peroxidase. Como resultado, as plântulas apresentaram resposta fisiológica que podem aliviar os efeitos negativos do estresse hídrico.	Vardharajula et al. (2011)
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Zea mays</i>	Em comparação com plantas não inoculadas, as inoculadas apresentaram atividades significativamente menores da ascorbato peroxidase, catalase e glutathione peroxidase sob estresse hídrico, indicando que as inoculadas sofreram menores estresse em comparação com as não inoculadas.	Sandhya et al. (2010)

Os resultados que indicam o incremento na atividade antioxidante se mostram como uma resposta direta, pois de acordo com os relatos, em deficiência hídrica

ocorre incrementos na produção de ERO's. O aumento da atividade antioxidante ameniza os efeitos negativos da peroxidação de proteínas e lipídeos. Para, a redução da atividade antioxidante, essa passa a ser uma resposta com tendência indireta, visto as mesmas atuarem sinalizando a incidência de estresse vegetais (ARKHIPOVA et al., 2005; BULEGON et al., 2017a), possibilitando a ativação das defesas vegetais de forma antecipada reduzindo a formação de ERO's e conseqüentemente menor necessidade da atividade de enzimas antioxidantes.

Desta forma, o uso de BPCV's que apresentam ação sobre o sistema antioxidante vegetal mostra-se fundamental para a mitigação dos efeitos desencadeados pelo déficit hídrico vegetal, devido a proteção exercida nas moléculas providas pelos danos causados pela produção de espécies reativas de oxigênio.

#### 4.4 ATIVIDADE DA ACC DEAMINASE

Durante a ocorrência do déficit hídrico tem-se o incremento da síntese de etileno que leva a redução ou até inibição do desenvolvimento vegetal. Em níveis mais severos leva ao abortamento de estruturas vegetais (LARCHER, 2003). A síntese de etileno em vegetais de forma resumida ocorre na rota da metionina, que é transformado em S-adenosilmetionina (SAM), que via a enzima ACC sintase é convertido em ácido 1-aminociclopropano carboxílico (ACC), que sofre a ação da ACC oxidase sendo convertido em etileno (TAIZ & ZEIGER, 2013).

A biossíntese de etileno pela ACC oxidase é reduzida pela alta concentração de CO<sub>2</sub>; anaerobiose e temperatura acima de 35 °C. Outra forma de limitar a síntese de etileno é reduzindo a produção da ACC, nos vegetais, assim a enzima ACC oxidase terá limitação do substrato e por conseqüência menor síntese de etileno. Nesse sentido, as BPCV's tem um papel importante pela produção da enzima ACC deaminase, que sequestra a ACC e a utiliza como substrato para o fornecimento de nitrogênio e energia (GLICK, 2014). Os mesmos autores, ainda citam que o incremento em auxinas, como relatado na seção produção de hormônios vegetais, também reduzem a atividade da ACC oxidase.

Estudos envolvendo deficiência hídrica mostram incrementos na síntese de etileno (ARRAES et al., 2015; VALLURU et al., 2016). Na cultura *Brassica rapa* subsp. *Chinensis* foi explanado que o aumento do etileno nos tecidos vegetais, levou a redução das taxas fotossintéticas, pela menor atividade da RUBISCO (HUANG et al.,

2014). Incrementos no etileno também levam à degradação das clorofilas (STREIT et al., 2005).

Todavia, os resultados adversos por parte do etileno são observados apenas em elevadas concentrações no tecido vegetal. Uma série de estudos relata que em concentrações mais baixas o hormônio gasoso atua na sinalização para o fechamento estomático (TANAKA et al., 2005; IQBAL et al., 2011b), na modulação do crescimento radicular (SHARP & LENOBLE, 2001), atuando de forma conjunta com o ABA (VALLURU et al., 2016).

Quando se considera os resultados por parte das BPCV's várias são as que apresentam essa capacidade, sendo que em condições de deficiência hídrica alguns estudos associam esse mecanismo com a mitigação dos efeitos da deficiência hídrica (Tabela 13). Além das BPCV's já citadas, outras possuem essa capacidade, como a *Azospirillum brasilense* (LI; SALEH-LAKHA; GLICK, 2005).

**Tabela 13:** Resumo dos resultados obtidos para bactérias promotoras de crescimento vegetal quanto a ação via ACC deaminase em condições de deficiência hídrica.

BPCV	Espécie	Resultados encontrados	Fonte
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Redução da concentração da ACC em 39%, sendo observado que plantas inoculadas demonstraram menores redução da clorofila e menor peroxidação lipídica.	Barnawal et al. (2013)
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pisum sativum</i>	Maior crescimento das plantas e eficiência do uso da água sob deficiência hídrica, pela redução do etileno, o qual em níveis elevados demonstrou efeitos inibitórios no crescimento de raízes e brotos.	Arshad et al. (2008); Zahir et al. (2008)
<i>Achromobacter piechaudii</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Redução na concentração de etileno em plantas inoculadas, resultando no incremento de massa seca e fresca de plantas.	Mayak et al. (2004)

Assim, BPCV's que apresentam o mecanismo relacionado à atividade da enzima ACC deaminase são eficientes como mitigadores dos efeitos da deficiência hídrica, reduzindo a síntese e a concentração de etileno nos tecidos em condições de seca, ou ainda, reduzindo a concentração em condições iniciais de seca, fazendo com que o etileno atue como sinalizador, e não como hormônio ligado a senescência vegetal.

#### 4.5 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E FOTOPROTETORES

Quando se tem ocorrência de deficiência hídrica o sistema fisiológico passa a ser limitado, ou seja, a eficiência da utilização da luz nos cloroplastos é reduzida

devido à falta de água (CHAVARRIA et al., 2015; BULEGON et al., 2017a). Quando da ocorrência dessa limitação, ocorre uma sobra de energia e os pigmentos clorofilados são degradados pelo excesso de energia luminosa pela fotooxidação (STREIT et al., 2005), a qual também ocorre em condições normais, contudo, em menor intensidade.

Para proteger a clorofila da fotodegradação os pigmentos carotenoides dissipam o excesso de energia luminosa (CASAROLI et al., 2007). Assim, a manutenção dos teores de carotenoides é fundamental para a manutenção dos teores de clorofilas nos tecidos foliares.

Nesse sentido, é relatado na literatura que o uso de *Azospirillum brasilense* incrementa a síntese de clorofila em plantas de trigo (BASHAN et al., 2006). Em condições de deficiência hídrica severa a mesma BPCV auxiliou na proteção das moléculas de clorofila, associado à manutenção das moléculas de carotenoides (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016). Esses autores associaram tal resposta à capacidade antioxidativa, visto a elevação do teor de carotenoides auxiliar na manutenção das clorofilas pois sequestram oxigênio singlet (GILL; TUTEJA, 2010). Nesta mesma linha, a incidência de deficiência hídrica em *Cicer arietinum* reduziu os níveis de clorofila, todavia quando inoculadas com *Pseudomonas putida* e *Bacillus amyloliquefaciens* a redução foi minimizada, auxiliando na mitigação dos efeitos da seca (KUMAR et al., 2016).

Ao se considerar a BPCV *Bacillus* sp. plantas de sorgo inoculadas e submetidas a condições de seca tiveram incrementos nos teores de clorofila quando comparadas ao controle não inoculado (GROVER et al., 2014), representando um melhor desempenho fisiológico, ou seja, uma importante variável para caracterização de tratamentos que elevam a tolerância das plantas em deficiência hídrica. Corroborando com essa afirmação, vários autores relatam que a manutenção de elevados teores de clorofila nos tecidos foliares é uma característica para a tolerância a deficiência hídrica (ARUNYANARK et al., 2008; HOMAYOUN; DALIRI; MEHRABI, 2011).

Portanto, o uso de BPCV's atua nos pigmentos de duas formas, estimulando a síntese de clorofilas, ou protegendo as clorofilas da degradação, estando altamente correlacionado à preservação dos teores de carotenoides, o que torna a planta mais tolerante à seca, bem como acelerada sua recuperação após o alívio do estresse.

#### 4.6 FECHAMENTO ESTOMÁTICO E COMPOSTOS OSMOTICAMENTE ATIVOS

A abertura e fechamento dos estômatos é uma das primeiras linhas de defesa vegetal para a deficiência hídrica. Quando da falta de água no solo, ocorre a variação de turgescência das células da zona meristemática das extremidades das raízes, iniciando-se uma série de respostas, pela síntese de ácido abscísico (ABA) que é translocado para a parte aérea, e juntamente com a descompartimentalização de ABA na parte aérea, induzem o fechamento estomático por atuar na inibição da atividade de ATPases na membrana plasmática das células-guarda. A transpiração estomática representa a principal perda de água pelos vegetais, sendo o fechamento estomático fundamental para evitar a perda de água, tendo relação direta com a manutenção do conteúdo de água nos tecidos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Ao se considerar o item 4.1 desta revisão, sobre hormônios vegetais, onde as BPCV's apresentam potencial em sintetizar ABA (ARAÚJO; HENNING; HUNGRIA, 2005; COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008; COHEN et al., 2009), essas possuem ação que levam ao fechamento estomático, evitando a perda excessiva de água, mitigando os efeitos da deficiência hídrica.

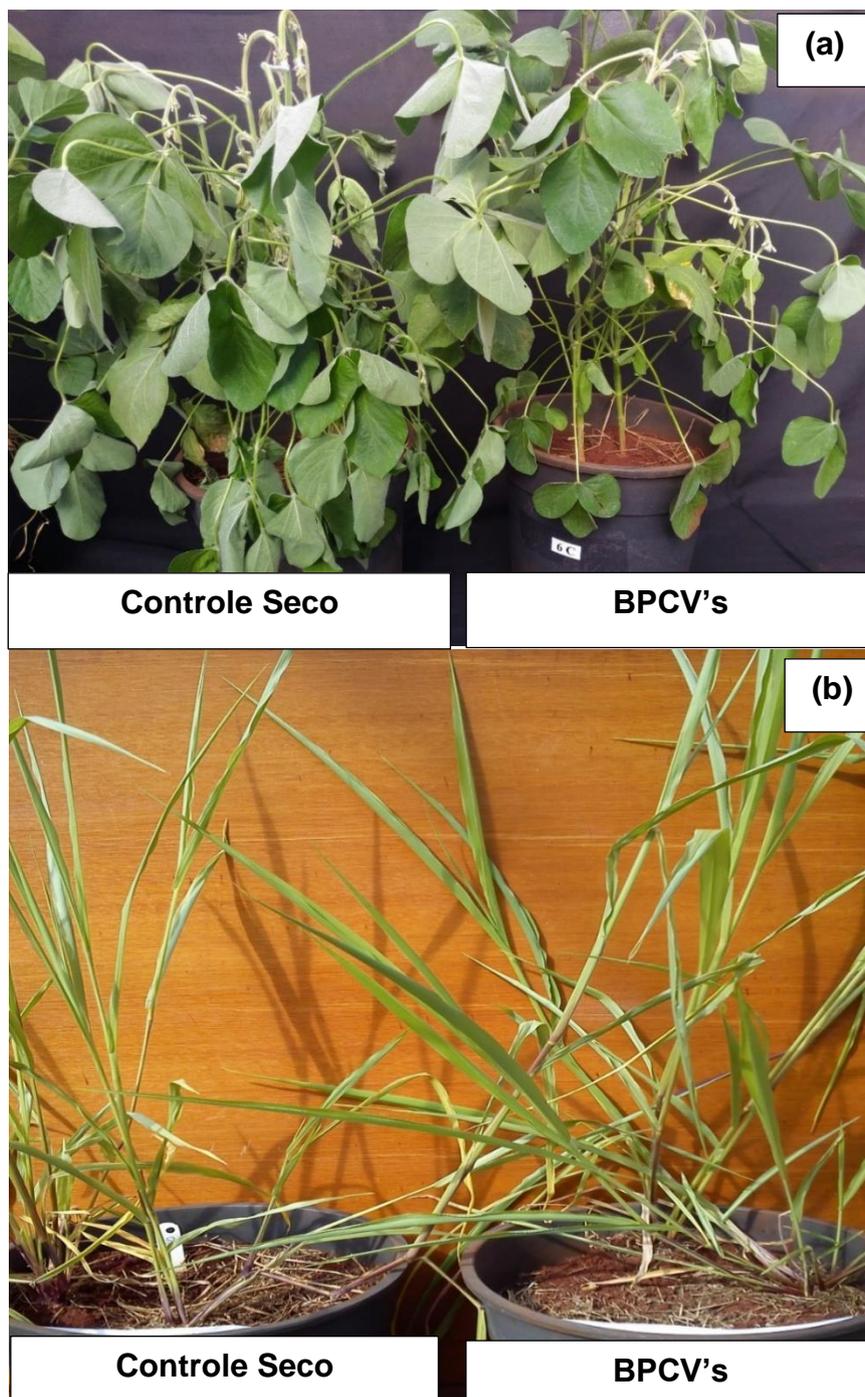
Em estudos com a cultura do milho existem relatos que plantas inoculadas com *A. lipoferum* apresentaram teores de ABA de 3013 ng g<sup>-1</sup> de massa fresca, enquanto as plantas controle demonstravam 1846 ng g<sup>-1</sup> (COHEN et al., 2009). Em *Arabidopsis thaliana* os níveis endógenos de ABA em plantas inoculadas com *A. brasilense* foram de 3,55 ng g<sup>-1</sup> de massa fresca, frente a 1,52 ng g<sup>-1</sup> de massa fresca nas plantas controle (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008), sendo essas respostas associadas à mitigação dos efeitos do déficit hídrico.

Outro processo fisiológico que pode resultar no fechamento estomático é a sinalização, ou seja, a sinalização da limitação hídrica no solo, que resulta na produção de compostos pela planta para se aclimatar a tal condição. Essa sinalização é dada em grande parte via compostos osmólitos, que são produzidos em maiores quantidades em condições de deficiência hídrica. Deste modo, em plantas de *Urochloa ruziziensis* inoculadas com *A. brasilense* o fechamento estomático ocorreu de forma antecipada em relação ao controle, acarretando em redução da taxa fotossintética nesse momento. Todavia, com o aumento da intensidade do déficit hídrico as plantas inoculadas mantiveram certa abertura estomática e taxa fotossintética, enquanto plantas do controle tiveram a assimilação de CO<sub>2</sub> nula, tendo

iniciado a respiração vegetal e consumo de reservas (BULEGON et al., 2017a). Esses compostos osmólitos podem ser representados por prolina, açúcares, poliaminas, betainas, compostos de amônio e alguns aminoácidos (VURUKONDA et al., 2016).

Todavia, alguns relatos da literatura associam a produção destes compostos osmólitos à mitigação de efeitos negativos da deficiência hídrica. Em plantas de milho, a inoculação de *A. lipoferium* resultou em incrementos nos teores de aminoácidos livres, destacando-se a prolina, açúcares solúveis e proteínas, o que levou à conclusão que a BPCV mostrou resultados promissores e pode ser um inoculante eficiente para auxiliar a cultura a suportar a limitação na disponibilidade de água (BANO et al., 2013). Em *Sorghum bicolor* a maior concentração de açúcares solúveis e prolina nas plantas inoculadas com *Bacillus* sp. resultou em plantas com maior massa seca de sistema radicular e parte aérea e maior teor de clorofila, além de maior teor de umidade do solo nos tratamentos inoculados quando comparado ao tratamento controle (GROVER et al., 2014). Esses autores, citam a produção de exopolissacarídeo e a formação de biofilme pelos microrganismos inoculados que auxiliam na conservação da umidade na rizosfera e na superfície radicular.

Diante do exposto, no decorrer desta seção, fica evidenciado as potencialidades das BPCV's em amenizar os efeitos da deficiência hídrica em plantas através de uma série de mecanismos, via estímulos nas defesas vegetais, destacando-se ainda que esses mecanismos ocorrem de forma simultânea no vegetal, originando os resultados aqui relatados, sendo tal resposta passível de ser observada visualmente (Figura 8), onde as plantas inoculadas com BPCV's apresentam menores sintomas de limitação hídrica, representado pelas adaptações fisiológicas, morfológicas e estruturais, conforme já descrito.



**Figura 8:** Comparação visual da mitigação dos efeitos de perda de turgescência em plantas de soja (a) e da redução da área foliar em *Urochloa ruziziensis* (b) em plantas controle sem inoculação e plantas inoculadas com bactérias *Azospirillum brasilense*, submetidas ao déficit hídrico. Nota: Fotos Bulegon (2015; 2016).

## 5. NOVOS ESTUDOS E POTENCIALIDADES PARA A UTILIZAÇÃO DAS BPCV's

Mais recentemente, alguns trabalhos relatam que os fatores de crescimento produzidos pelas BPCV's no meio de cultura, que ao entrar em contato com as folhas são absorvidos e assimilados passando a atuar no metabolismo vegetal.

Nesse sentido, estudos buscando identificar a produção de hormônios vegetais por parte das BPCV's, demonstram na cultura do milho e do arroz, que a produção de ácido indol-acético (AIA) interfere no desenvolvimento inicial das culturas (RADWAN; MOHAMED; REIS, 2004). Em estudos na cultura do soja e milho, a produção de ácido indolacético (AIA), giberelina (GA<sub>3</sub>) e citocinina (CK), melhoram o desenvolvimento inicial das plantas (CASSÁN et al., 2009). Esses autores, citam que para melhor explorar a capacidade de produção hormonal das BPCV's, se faz necessário o conhecimento na capacidade de produção de compostos promotores de crescimento, para melhor identificar as potencialidades de cada espécie.

Visado identificar as potencialidade envolvendo a produção de compostos promotores de crescimento nos meios de cultivo das BPCV's, *Azospirillum brasilense* estirpe Az39 e Cd e *Bradyrhizobium japonicum* E109, evidencia-se que essas possuem comportamento diferenciado na produção de fatores de crescimento vegetal, em meio de cultivo (PERRIG et al., 2007; CASSÁN et al., 2009), para isso, foi compilado na Tabela 14, os níveis de produção de compostos promotores de crescimento de cada uma dessas bactérias.

**Tabela 14:** Produção de compostos promotores de crescimento vegetal em meio de cultura por parte das principais espécies de bactérias promotoras de crescimento vegetal.

BPCV	AIA	GA <sub>3</sub>	CK	ABA	Et	Poliaminas totais
	µg mL <sup>-1</sup>	µg mL <sup>-1</sup>	µg mL <sup>-1</sup>	µg mL <sup>-1</sup>	ng mL <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	nmoles mL <sup>-1</sup>
<i>A. brasilense</i> Az39 <sup>1</sup>	2,9	0,30	0,75	7,70	2,32	201,11
<i>A. brasilense</i> Az39 <sup>2</sup>	13,16	0,39	0,88	--	--	--
<i>A. brasilense</i> Cd <sup>1</sup>	10,8	0,66	2,37	0,65	3,94	141,55
<i>B. japonicum</i> E109 <sup>2</sup>	6,62	0,95	0,65	--	--	--

Fonte: <sup>1</sup>Perrig et al. (2007); <sup>2</sup>Cassán et al. (2009); Adaptação: Bulegon (2018).

Nota: AIA: ácido indol-acético (auxina); GA<sub>3</sub>: ácido giberélico (giberelina); CK: zeatina (citocinina); ABA: ácido abscísico; Et: etileno; Poliaminas totais: somatório entre putrescina, espermidina, espermina e precursor da L-lisina.

Por fim, vale ressaltar que embora as BCPV sejam amplamente estudadas e exploradas, em diversas culturas, os avanços nas pesquisas levam a descobertas que necessitam serem estudadas para melhor entendimento. Essa condição é semelhante à citada para a aplicação foliar de BPCV que foi estudada em frutíferas (SUDHAKAR et al., 2000; ESITKEN et al., 2006) e recentemente passou a ser explorada em culturais anuais com efeitos de promoção de crescimento vegetal e mitigação de estresses abiótico causado pela deficiência hídrica, principalmente pela facilidade de utilização via pulverização em área total. Todavia, vale destacar que os resultados positivos ainda são inconstantes, principalmente pela falta de estudos ligados ao modo de ação dessas BPCV quando aplicadas via foliar.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando-se todos os aspectos apresentados e discutidos no decorrer desta revisão, fica evidenciado que as BPCV's agem reduzindo os efeitos negativos da deficiência hídrica em diversas espécies vegetais, através de uma série de mecanismos, que embora nesta revisão foram explorados de forma individualizada para melhor entendimento, agem em de forma conjunta (Tabela 15).

**Tabela 15:** Resumo dos efeitos observados em plantas sobre condição de deficiência hídrica e com a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) atuam na mitigação da deficiência hídrica via os mecanismos exemplificados.

<b>Déficit hídrico sem BPCV</b>	<b>Déficit hídrico com BPCV</b>
Menor teor de água foliar	Promoção de crescimento radicular e/ou sinalização da seca, leva a maior área de absorção de água ou menores perdas de água provida pelo fechamento estomático
Menor desenvolvimento vegetal	Maior desenvolvimento vegetal, associado a uma série de fatores de crescimento, como hormônios vegetais, desenvolvimento radicular, pigmentos foliares e sistema antioxidante
Maior degradação de membranas	Sistema antioxidante atua de forma a evitar a formação de ERO's, assim a peroxidação de proteínas e lipídeos é reduzida.
Maiores níveis de etileno	Ação da ACC deaminase remete menor síntese de etileno.
Menores taxas fotossintéticas	Os fatores de crescimento produzidos pelas BCPV's, favorece maiores taxas fotossintéticas e conseqüentemente o crescimento vegetal
Maior efeito residual da deficiência hídrica, após reidratação	Devido a atividade fisiológica e a manutenção de pigmentos clorofilados, pela proteção exercida pelos carotenoides e o sistema enzimático, as plantas recuperam mais rapidamente sua atividade

Desta forma, as plantas apresentam uma série de respostas positivas, principalmente na manutenção do desenvolvimento vegetal, o que ao final do ciclo das culturas culmina em maiores produtividade, ao se comparar com plantas controle,

confirmando a capacidade de mitigação por parte destes microrganismos, que associado aos novos estudos evidenciam novos potenciais de exploração, tendo as BPCV's crescente importância no cenário agrícola nacional e mundial

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, I. M.; NADIRA, U. A.; BIBI, N.; CAO, F.; HE, X.; ZHANG, G.; WU, F. Secondary metabolism and antioxidants are involved in the tolerance to drought and salinity, separately and combined, in Tibetan wild barley. **Environmental and Experimental Botany**, v. 111, p. 1–12, 2015.

AIMAR, D.; CALAFAT, M.; ANDRADE, A. M.; CARASSAY, L.; BOUTEAU, F.; ABDALA, G.; MOLAS, M. L. Drought effects on the early development stages of *Panicum virgatum* L.: Cultivar differences. **Biomass and Bioenergy**, v. 66, n. 7, p. 49–59, 2014.

AKIYOSHI, D. E.; REGIER, D. A.; GORDON, M. P. Cytokinin production by *Agrobacterium* and *Pseudomonas* spp. **Journal of bacteriology**, v. 169, n. 9, p. 4242–4248, 1987.

ARAÚJO, F. F.; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 9, p. 1639–1645, 2005.

ARKHIPOVA, T. N.; PRINSEN, E.; VESELOV, S. U.; MARTINENKO, E. V.; MELENTIEV, A. I.; KUDOYAROVA, G. R. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. **Plant and Soil**, v. 292, n. 1–2, p. 305–315, 2007.

ARKHIPOVA, T. N.; VESELOV, S. U.; MELENTIEV, A. I.; MARTYNYENKO, E. V.; KUDOYAROVA, G. R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, v. 272, n. 1, p. 201–209, 2005.

ARRAES, F. B. M.; BENEVENTI, M. A.; LISEI DE SA, M. E.; PAIXAO, J. F. R.; ALBUQUERQUE, E. V. S.; MARIN, S. R. R.; PURGATTO, E.; NEPOMUCENO, A. L.; GROSSI-DE-SA, M. F. Implications of ethylene biosynthesis and signaling in soybean drought stress tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 15, n. 1, p. 1–20, 2015.

ARSHAD, M.; SHAHAROONA, B.; MAHMOOD, T. Inoculation with *Pseudomonas* spp.

containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea. **Pedosphere**, v. 18, n. 5, p. 611–620, 2008.

ARUNYANARK, A.; JOGLOY, S.; AKKASAENG, C.; VORASOOT, N.; KESMALA, T.; NAGESWARA RAO, R. C.; WRIGHT, G. C.; PATANOTHAI, A. Chlorophyll stability is an indicator of drought tolerance in peanut. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 194, n. 2, p. 113–125, 2008.

ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 84–93, 2009.

BANO, Q.; ILYAS, N.; BANO, A.; ZAFAR, N.; AKRAM, A.; HASSAN, F. U. L. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 13–20, 2013.

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

BARNAWAL, D.; MAJI, D.; BHARTI, N.; CHANOTIYA, C. S.; KALRA, A. ACC deaminase-containing *Bacillus subtilis* reduces stress ethylene-induced damage and improves mycorrhizal colonization and rhizobial nodulation in *Trigonella foenum-graecum* under drought stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 4, p. 809–822, 2013.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 4, p. 279–285, 2006.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth - A Critical Assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, n. 1, p. 77–136, 2010.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Inoculant Preparation and Formulations for *Azospirillum* spp. In: CASSÁN, F. D.; OKON, Y.; CREUS, C. M. **Handbook for Azospirillum: Technical Issues and Protocols**. Springer International Publishing, 2015. p. 469–486.

BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling.

**Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 5, p. 1229–1240, 2014.

BENJAMIN, J. G.; NIELSEN, D. C. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. **Field Crops Research**, v. 97, n. 2–3, p. 248–253, 2006.

BIANCO, C.; DEFEZ, R. *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by an indole-3-acetic acid-overproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 11, p. 3097–3107, 2009.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. P. Identification of Gibberellins A1, A3, and Iso-A3 in Cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 90, p. 45–47, 1989.

BULEGON, L. G.; BATTISTUS, A. G.; GUIMARÃES, V. F.; INAGAKI, A. M.; OFFEMANN, L. C.; SOUZA, A. K. P.; OLIVEIRA, P. S. R. Physiological responses of *Urochloa ruziziensis* inoculated with *Azospirillum brasilense* to severe drought and rehydration conditions. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 10, p. 1283–1289, 2017.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; EGEWARTH, V. A.; SANTOS, M. G.; HELING, A. L.; FERREIRA, S. D.; WENGRAT, A. P. G. S.; BATTISTUS, A. G. Crescimento e trocas gasosas no período vegetativo da soja inoculada com bactérias diazotróficas. **Nativa**, v. 4, n. 5, p. 277–286, 2016.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.

CÂMARA, T. M. M.; BENTO, D. A. V.; ALVES, G. F.; SANTOS, M. F.; MOREIRA, J. U. V.; JÚNIOR, C. L. D. S. Genetic parameters of drought tolerance related traits in tropical maize. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 595–603, 2007.

CAMPOS, M. K. F.; CARVALHO, K.; SOUZA, F. S.; MARUR, C. J.; PEREIRA, L. F. P.; FILHO, J. C. B.; VIEIRA, L. G. E. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic ‘Swingle’ citrumelo plants over-accumulating proline. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 2, p. 242–250, 2011.

CAO, B.; MA, Q.; ZHAO, Q.; WANG, L.; XU, K. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 53–62, 2015.

CARLESSO, R. Absorção de água pelas plantas: água disponível versus extraível e a produtividade das culturas. **Ciência Rural**, v. 25, n. 1, p. 183–188, 1995.

CASAROLI, D.; FAGAN, E. B.; SIMON, J.; MEDEIROS, S. P.; MANFRON, P. A.; NETO, D. D.; LIER, Q. J. van; MULLER, L.; MARTIN, T. N. Radiação solar e aspectos fisiológicos na cultura de soja - uma revisão. **Revista FZVA**, v. 14, n. 2, p. 102–120, 2007.

CASSÁN, F. D.; OKON, Y.; CREUS, C. M. **Handbook for azospirillum: technical issues and protocols**. Springer International Publishing, 2015. 514 p.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2009.

CATUCHI, T. A.; VIEIRA, F.; GUIDORIZZI, C.; GUIDORIZI, K. A. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 519–527, 2012.

CATUCHI, T. A.; VÍTOLO, H. F.; BERTOLLI, S. C.; SOUZA, G. M. Tolerance to water deficiency between two soybean cultivars: transgenic versus conventional. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 373–378, 2011.

CHANG, Z.; LIU, Y.; DONG, H.; TENG, K.; HAN, L.; ZHANG, X. Effects of cytokinin and nitrogen on drought tolerance of creeping bentgrass. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. 1–19, 2016.

CHAVARRIA, G.; DURIGON, M. R.; KLEIN, V. A.; KLEBER, H. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387–1393, 2015.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabisopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 97–103, 2008.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PONTIN, M.; BERLI, F. J.; MORENO, D.; BOCCANLANDRO, H.; TRAVAGLIA, C. N.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement

of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v. 153, n. 1, p. 79–90, 2015.

COHEN, A. C.; TRAVAGLIA, C. N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, v. 87, n. 5, p. 455–462, 2009.

EGHBALL, B.; MARANVILLE, J. W. Root development and nitrogen influx of corn genotypes grown under combined drought and nitrogen stresses. **Agronomy Journal**, v. 85, n. 1, p. 147, 1993.

ESITKEN, A.; KARLIDAG, H.; ERCISLI, S.; TURAN, M.; SAHIN, F. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacihaliloglu). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 54, n. 4, p. 377–380, 2003.

ESITKEN, A.; PIRLAK, L.; TURAN, M.; SAHIN, F. Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry. **Scientia Horticulturae**, v. 110, n. 4, p. 324–327, 2006.

ESTEVEZ, S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 4, p. 662–679, 2008.

FAHAD, S.; HUSSAIN, S.; BANO, A.; SAUD, S.; HASSAN, S.; SHAN, D.; KHAN, F. A.; KHAN, F.; CHEN, Y.; WU, C.; TABASSUM, M. A.; CHUN, M. X.; AFZAL, M.; JAN, A.; JAN, M. T.; HUANG, J. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 7, p. 4907–4921, 2014.

FAN, X.; HU, H.; HUANG, G. Soil inoculation with *Burkholderia* sp. LD-11 has positive effect on water-use efficiency in inbred lines of maize. **Plant Soil**, v. 390, n. 1, p. 337–349, 2015.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 2, p. 1–22, 2016.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; MARTÍNEZ, C. R.; CHANWAY, C. P. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. **Applied Soil Ecology**,

v. 40, n. 1, p. 182–188, 2008.

FIOREZE, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 58, n. 3, p. 342–349, 2011.

FIOREZE, S. L.; RODRIGUES, J. D.; CARNEIRO, J. P. C.; SILVA, A. D. A.; LIMA, M. B. Fisiologia e produção da soja tratada com cinetina e cálcio sob deficit hídrico e sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 11, p. 1432–1439, 2013.

GARCIA, N. F. S.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; PERES, A. R.; RODRIGUES, M.; PENTEADO, M. S. Doses and application methods of *Azospirillum brasilense* in irrigated upland rice. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 11, p. 990–995, 2016.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; JOSE, J. V.; FRAGA JR, E. F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349–359, 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2014.

GOLUBEV, S. N.; MURATOVA, A. Y.; WITTENMAYER, L.; BONDARENKOVA, A. D.; HIRCHE, F.; MATORA, L. Y.; MERBACH, W.; TURKOVSKAYA, O. V. Rhizosphere indole-3-acetic acid as a mediator in the *Sorghum bicolor* phenanthrene *Sinorhizobium meliloti* interactions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 6, p. 600–608, 2011.

GROVER, M.; MADHUBALA, R.; ALI, S. Z.; YADAV, S. K.; VENKATESWARLU, B. Influence of *Bacillus* spp . strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions. **Journal of Basic Microbiology**, v. 54, n. 9, p. 951–961, 2014.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; MOREIRA, J. C. F.; REZENDE, D. Crescimento inicial de plantas de arroz inoculadas com *Azospirillum* spp . **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, n. 2, p. 45–50,

2013.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F. J.; RAMOS-SOLANO, B.; PROBANZA, A.; MEHOUACHI, J.; TADEO, F. R.; TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, v. 111, n. 2, p. 206–211, 2001.

HALDA-ALIJA, L. Identification of indole-3-acetic acid producing freshwater wetland rhizosphere bacteria associated with *Juncus effusus* L. **Canadian journal of microbiology**, v. 49, n. 12, p. 781–787, 2003.

HEINEMANN, A. B.; ANDRADE, C. L. T.; GOMIDE, R. L.; AMORIM, A. O.; DA PAZ, R. L. Padrões de deficiência hídrica para a cultura de milho (safra normal e safrinha) no estado de goiás e suas conseqüências para o melhoramento genético. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1026–1033, 2009.

HENDGES, F. B.; RAMBO, C. R.; ALCASSA, L. P.; LIEBL, J.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; COSTA, A. C. T. Avaliação enzimática e fisiológica de plântulas de milho submetidas à seca. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, n. 2, p. 52–63, 2015.

HOMAYOUN, H.; DALIRI, S.; MEHRABI, P. Effect of drought stress on leaf chlorophyll in corn cultivars (*Zea mays*). **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 9, n. 3, p. 418–420, 2011.

HUANG, X.; ZHOU, G.; YANG, W.; WANG, A.; HU, Z.; LIN, C.; CHEN, X. Drought-inhibited ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity is mediated through increased release of ethylene and changes in the ratio of polyamines in pakchoi. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 15, p. 1392–1400, 2014.

IQBAL, N.; NAZAR, R.; SYEED, S.; MASOOD, A.; KHAN, N. A. Exogenously-sourced ethylene increases stomatal conductance, photosynthesis, and growth under optimal and deficient nitrogen fertilization in mustard. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 14, p. 4955–4963, 2011.

JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 1, p. 7–11, 2007.

JOO, G. J.; KANG, S. M.; HAMAYUN, M.; KIM, S. K.; NA, C. I.; SHIN, D. H.; LEE, I. J. *Burkholderia* sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. **Journal of Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 167–171, 2009.

KANG, S. M.; HAMAYUN, M.; JOO, G. J.; KHAN, A. L.; KIM, Y. H.; KIM, S. K.; JEONG, H. J.; LEE, I. J. Effect of *Burkholderia* sp. KCTC 11096BP on some physiochemical attributes of cucumber. **European Journal of Soil Biology**, v. 46, n. 3, p. 264–268, 2010.

KANG, S. M.; RADHAKRISHNAN, R.; KHAN, A. L.; KIM, M. J.; PARK, J. M.; KIM, B. R.; SHIN, D. H.; LEE, I. J. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 84, p. 115–124, 2014.

KAPPES, C.; SILVA, R. G.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* E doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 3, p. 366–373, 2017.

KINOSHITA, N.; WANG, H.; KASAHARA, H.; LIU, J.; MACPHERSON, C.; MACHIDA, Y.; KAMIYA, Y.; HANNAH, M. A.; CHUA, N.-H. IAA-Ala resistente, an evolutionarily conserved target of mir167, mediates arabidopsis root architecture changes during high osmotic stress. **The Plant Cell**, v. 24, n. 9, p. 3590–3602, 2012.

KRAMER, P. J. Drought stress, and the origins of adaptations. In: TUNER, N. C.; KRAMER, P. J. (Ed.). **Adaptation of plants to water and high temperature stress**. New York: Wiley publ, 1980. p. 7–22.

KUMAR, M.; MISHRA, S.; DIXIT, V.; KUMAR, M.; AGARWAL, L.; CHAUHAN, P. S.; NAUTIYAL, C. S. Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Plant Signaling & Behavior**, v. 11, n. 1, p. e1071004, 2016.

KUMAR, M. S. S.; ALI, K.; DAHUJA, A.; TYAGI, A. Plant physiology and biochemistry role of phytosterols in drought stress tolerance in rice. **Plant Physiology et Biochemistry**, v. 96, p. 83–89, 2015.

KUMARI, S.; KUMAR, S.; PRAKASH, P. Exogenous application of cytokinin (6-BAP) ameliorates the adverse effect of combined drought and high temperature stress in

wheat seedling. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p. 1176–1180, 2018.

KUNZ, J. H.; BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; HECKLER, B. M. M.; COMIRAN, F. Uso da radiação solar pelo milho sob diferentes preparos do solo, espaçamento e disponibilidade hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1511–1520, 2007.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459–1465, 2007.

LARCHER, W. **Physiological planta ecology**. 4. ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003.

LAUTERI, M.; HAWORTH, M.; SERRAJ, R.; MONTEVERDI, M. C.; CENTRITTO, M. Photosynthetic diffusional constraints affect yield in drought stressed rice cultivars during flowering. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109054, 2014.

LI, J.; CANG, Z.; JIAO, F.; BAI, X.; ZHANG, D.; ZHAI, R. Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, p. 1–7, 2015.

LI, Q.; SALEH-LAKHA, S.; GLICK, B. R. The effect of native and ACC deaminase-containing *Azospirillum brasilense* Cd1843 on the rooting of carnation cuttings. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 511–514, 2005.

LI, Y.; ZHAO, H.; DUAN, B.; KORPELAINEN, H.; LI, C. Effect of drought and ABA on growth, photosynthesis and antioxidant system of *Cotinus coggygia* seedlings under two different light conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, n. 1, p. 107–113, 2011.

LI, Z.; LU, G. Y.; ZHANG, X. K.; ZOU, C. S.; CHENG, Y.; ZHENG, P. Y. Improving drought tolerance of germinating seeds by exogenous application of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) in rapeseed (*Brassica napus* L.). **Seed Science & Technology**, v. 38, n. 1, p. 432–440, 2010.

LI, Z.; ZHANG, X.; ZHAO, Y.; LI, Y.; ZHANG, G.; PENG, Z.; ZHANG, J. Enhancing auxin accumulation in maize root tips improves root growth and dwarfs plant height. **Plant Biotechnology Journal**, v. 16, n. 1, p. 86–99, 2018.

LIU, X.; CHAN, Z. Application of potassium polyacrylate increases soil water status and improves growth of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) under drought stress condition. **Scientia Horticulturae**, v. 197, n. 14, p. 705-711, 2015.

LÓPEZ-BUCIO, J.; CAMPOS-CUEVAS, J. C.; HERNÁNDEZ-CALDERÓN, E.; VELÁSQUEZ-BECERRA, C.; FARÍAS-RODRÍGUEZ, R.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L. I.; VALENCIA-CANTERO, E. *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin- and ethylene-independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 2, p. 207–217, 2007.

MAGHSOUDI, K.; EMAM, Y.; ASHRAF, M. Influence of foliar application of silicon on chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and growth in water-stressed wheat cultivars differing in drought tolerance. **Turkish Journal of Botany**, v. 39, n. 4, p. 625–634, 2015.

MARULANDA, A.; BAREA, J. M.; AZCÓN, R. An indigenous drought-tolerant strain of *Glomus intraradices* associated with a native bacterium improves water transport and root development in *Retama sphaerocarpa*. **Microbial Ecology**, v. 52, n. 4, p. 670–678, 2006.

MATTOS, J. L. S.; GOMIDE, J. A.; HUAMAN, C. A. M. Effect of water deficit on the growth of *Brachiaria* species in greenhouse. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 746–754, 2005.

MAYAK, S.; TIROSH, T.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. **Plant Science**, v. 166, n. 2, p. 525–530, 2004.

NADERI, A.; NASERI, R.; FATHI, A.; BAHAMIN, S.; MALEKI, R. Physiological performance of soybean cultivars under drought stress. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 6, p. 38–44, 2013.

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853–860, 2011.

NAWAZ, F.; AHMAD, R.; ASHRAF, M. Y.; WARAICH, E. A.; KHAN, S. Z. Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical

constituents of wheat under drought stress. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 113, p. 191–200, 2015.

OLIVARES, F. L.; BUSATO, J. G.; PAULA, A. M.; DA SILVA LIMA, L.; AGUIAR, N. O.; CANELLAS, L. P. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 1–13, 2017.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 8, p. 3795–3801, 2002.

PEREIRA, L. C.; PIANA, S. C.; BRACCINI, A. L.; GRACIA, M. M.; GARCIA, M. M.; FERRI, C. C.; FELBER, P. H.; MARTELI, D. C. V.; BIANCHESSI, P. A.; DAMETTO, I. B. Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 105–113, 2017.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 1143–50, 2007.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropedica: Edur, 2004.

RADEMACHER, W. Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 4, p. 845–872, 2015.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 987–994, 2004.

RADWAN, T. E. S. E. I. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 997–1004, 2005.

RAMPIM, L.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p.

678–685, 2012.

REETHA, S.; BHUVANESWARI, G.; THAMIZHINIYAN, P.; MYCIN, T. R. Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and enhance growth of onion (*Allium cepa* L. ). **International journal of current microbiology and applied sciences**, v. 3, n. 2, p. 568–574, 2014.

REGUERA, M.; PELEG, Z.; ABDEL-TAWAB, Y. M.; TUMIMBANG, E. B.; DELATORRE, C. A.; BLUMWALD, E. Stress-induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice. **Plant Physiology**, v. 163, n. 4, p. 1609–1622, 2013.

RODRIGEZ-SALAZAR, J.; SUÁREZ, R.; CABELLERO-MELLADO, J.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. **Microbiological Letters**, v. 296, n. 1, p. 52–59, 2009.

SANDHYA, V.; ALI, S. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; VENKATESWARLU, B. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. **Plant Growth Regulation**, v. 62, n. 1, p. 21–30, 2010.

SANTOS; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287–294, 1998.

SANTOS, D.; GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; FIOREZE, S. L.; MACEDO JÚNIOR, E. K. Cultivares de trigo submetidas a déficit hídrico no início do florescimento, em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 8, p. 836–842, 2012.

SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current Biology**, v. 24, n. 10, p. 453–462, 2014.

SHARP, R. E.; LENOBLE, M. E. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 33–37, 2001.

SILVA, M. M. P.; VASQUEZ, H. M.; BRESSAN-SMITH, R. E.; SILVA, J. F. C.; ERBESDOBLER, E. D.; ANDRADE JR, P. S. C. Respostas morfogênicas de gramíneas forrageiras tropicais sob diferentes condições hídricas do solo. **Revista**

**Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1493–1504, 2005.

SINCLAIR, T.; LUDLOW, M. Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, n. 3, p. 329, 1986.

SLAMA, I.; M'RABET, R.; KSOURI, R.; TALBI, O.; DEBEZ, A.; ABDELLY, C. Water deficit stress applied only or combined with salinity affects physiological parameters and antioxidant capacity in *Sesuvium portulacastrum*. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 213, n. 1, p. 69–76, 2015.

SOUZA, F. H. D.; MATTA, F. P.; FÁVERO, A. P. **Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2014.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005.

SUDHAKAR, P.; CHATTOPADHYAY, G. N.; GANGWAR, S. K.; GHOSH, J. K. Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). **The Journal of Agricultural Science**, v. 134, n. 02, p. 227–234, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artemed, 2013.

TANAKA, Y.; SANO, T.; TAMAOKI, M.; NAKAJIMA, N.; KONDO, N. Ethylene Inhibits Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure in Arabidopsis. **Plant physiology**, v. 138, n. 8, p. 2337–2343, 2005.

VALLURU, R.; DAVIES, W. J.; REYNOLDS, M. P.; DODD, I. C. Foliar abscisic acid-to-ethylene accumulation and response regulate shoot growth sensitivity to mild drought in wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 4, p. 1–13, 2016.

VARDHARAJULA, S.; ALI, S. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; BANDI, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: Effect on growth, osmol ytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **Journal of Plant**, v. 6, n. 1, p. 1–14, 2011.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003.

VIEIRA, F. C. F.; SANTOS JUNIOR, C. D.; NOGUEIRA, A. P. O.; DIAS, A. C. C.;

HAMAWAKI, O. T.; BONETTI, A. M. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por peg 6000. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 543–552, 2013.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WANG, Y.; MA, F.; LI, M.; LIANG, D.; ZOU, J. Physiological responses of kiwifruit plants to exogenous ABA under drought conditions. **Plant Growth Regulation**, v. 64, n. 1, p. 63–74, 2011.

XU, J.; LI, X. L.; LUO, L. Effects of engineered *Sinorhizobium meliloti* on cytokinin synthesis and tolerance of alfalfa to extreme drought stress. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 22, p. 8056–8061, 2012.

YU, G. R.; WANG, Q. F.; ZHUANG, J. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. **Journal of plant physiology**, v. 161, n. 3, p. 303–318, 2004.

ZAHIR, Z.; MUNIR, A.; ASGHAR, H.; SHAHAROONA, B.; ARCHED, M. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. **Journal of Microbiology and Technology**, v. 18, n. 5, p. 958–963, 2008.

ZAKIKHANI, H.; ARDAKANI, M. R.; REJALI, F.; GHOLAMHOSEINI, M.; JOGHAN, A. K.; DOLATABADIAN, A. Influence of diazotrophic bacteria on antioxidant enzymes and some biochemical characteristics of soybean subjected to water stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, n. 11, p. 1828–1835, 2012.

ZHOU, Y.; LAMBRIDES, C. J.; FUKAI, S. Drought resistance of bermudagrass (*Cynodon* spp.) ecotypes collected from different climatic zones. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n. 1, p. 22–29, 2013.

ZUFFO, A. M.; BRUZI, A. T.; REZENDE, P. M.; CARVALHO, MOREIRA, M. L.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; SILVA, K. B. Foliar application of *Azospirillum brasilense* in soybean and seed physiological quality. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 20, p. 675–680, 2016.

**CAPÍTULO IV**

**RESPOSTA FOTOSSINTÉTICA E PRODUTIVAS DA SOJA A *Azospirillum  
brasiliense* OU REGULADOR VEGETAL EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

**PHOTOSYNTHETIC AND PRODUCTIVE RESPONSE OF SOYBEAN TO  
*Azospirillum brasiliense* OR PLANT REGULATOR UNDER DROUGHT  
CONDITIONS**

**Resumo:** objetivou-se avaliar a resposta fotossintética e a produção de plantas de soja em condição de déficit hídrico severo induzido, em relação à inoculação via semente e aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e aplicação foliar de regulador vegetal. Para isso utilizou-se delineamento de blocos casualizados, com cinco tratamentos: controle irrigado (sem restrição hídrica); controle seco (com restrição hídrica), inoculação das sementes com *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de *A. brasilense* com restrição hídrica e aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK), com restrição hídrica. O déficit hídrico foi imposto no florescimento pleno, sendo avaliado: a umidade gravimétrica do solo, teor relativo de água (TRA), a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> em função de densidades de fluxos de fótons, determinando-se: taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> máxima (*A*<sub>max</sub>), eficiência quântica aparente ( $\Phi$ ) e o ponto de compensação lumínica ( $\Gamma$ ), após a reidratação ao final do ciclo produtivo avaliou-se a produção. Os resultados evidenciaram ausência de diferença para os tratamentos em condições de restrição hídrica para o TRA. Menor *A*<sub>max</sub> foi obtido no controle com déficit hídrico, bem como maior  $\Phi$  e  $\Gamma$ , evidenciando que o uso foliar de *A. brasilense* ou regulador vegetal atua na manutenção do *A*<sub>max</sub>, resultando em maior produção em relação ao controle com déficit hídrico, sendo ambas as variáveis correlacionadas positivamente. Conclui-se que a aplicação foliar de *A. brasilense* e de regulador vegetal mitigam os efeitos negativos do déficit hídrico induzido no florescimento da soja sobre *A*<sub>max</sub> e minimizam as perdas de produção da cultura.

**Palavras chaves:** *Glycine max* L. Fotossíntese. Produção. Teor relativo de água.

**Abstract:** the objective of this study was to evaluate the photosynthetic response and the production of soybean plants under severe drought induced in relation to seed inoculation and *Azospirillum brasilense* foliar spray application and foliar spray application of plant regulator. For this it was used, a randomized block design was used, with five treatments: irrigated control (without water restriction); inoculation of *A. brasilense* seeds with drought, foliar spray application of *A. brasilense* with drought and foliar spray application of auxin, gibberellin and cytokinin (AX + GA + CK), with drought. The drought was imposed on full flowering, being evaluated: soil moisture content, relative water content (RWC), the net assimilation rate of CO<sub>2</sub> as a function of different densities of photon fluxes were determined, determining: maximum net CO<sub>2</sub>

assimilation rate ( $A_{max}$ ), apparent quantum efficiency ( $\Phi$ ) and light compensation point ( $\Gamma$ ), after the rehydration at the end of the productive cycle, the production. The results showed no difference in treatments for water restriction for the RCW. Under  $A_{max}$  was obtained in the control with drought, as well as greater  $\Phi$  and  $\Gamma$ , evidencing that the foliar spray of *A. brasilense* or plant regulator acts in the maintenance of the  $A_{max}$ , resulting in greater production in relation to the control with drought, both being correlated variables. In conclusion that the foliar spray application of *A. brasilense* and plant regulator alleviate the negative effects of the drought induced on the flowering of soybean on  $A_{max}$  and minimize the losses of crop production.

**Keywords:** *Glycine max* L. Photosynthesis. Production. Relative water content.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja ocupa lugar de destaque no cenário produtivo nacional, com produção superior a 113,3 milhões de toneladas (CONAB, 2019), o que coloca o Brasil como segundo maior produtor mundial da commodity. Dentre os fatores que limitam a produtividade da cultura destaca-se o déficit hídrico, que pode ocasionar perdas significativas na produtividade, devido o abortamento de folhas e estruturas reprodutivas, menor massa de grãos e senescência acelerada (VIEIRA et al., 2013).

A cultura da soja tem demanda hídrica que varia de 450 a 800 mm durante seu ciclo, com maior necessidade entre o florescimento e enchimento de grãos (GAVA et al., 2015; SOUZA et al., 2016). Para tolerar o déficit hídrico as plantas desenvolveram estratégias adaptativas, que reduzem a perda de água em condições de baixa disponibilidade hídrica, sendo essas a níveis fisiológicos, morfológicos e estruturais (CHAVES; OLIVEIRA, 2004a).

As adaptações fisiológicas são de rápidas respostas e passíveis de serem trabalhadas a curto prazo para reduzir os efeitos do déficit hídrico. Nesse sentido são estudadas diferentes formas de manejo das culturas para se elevar a tolerância à deficiência hídrica, dentre as quais destaca-se o uso de reguladores vegetais e bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), dentre as quais destacam o gênero *Azospirillum*. Dentre esse gênero, destaca-se a espécie *A. brasilense*, que é a mais utilizada em gramíneas e leguminosas, devido principalmente à capacidade de excretar hormônios vegetais como auxina, giberelina e citocininas, dentre outros

efeitos relacionados à promoção do crescimento (KUSS et al., 2007; PERRIG et al., 2007).

De modo semelhante às BPCV influenciam vias fundamentais para elevar potencialmente a tolerância à deficiência hídrica (NGUMBI; KLOEPPER, 2016; VURUKONDA et al., 2016). Assim, auxiliam no desenvolvimento radicular (RAMPIM et al., 2012), na expansão celular (RADWAN; MOHAMED; REIS, 2004), nas trocas gasosas (FIOREZE et al., 2013; INAGAKI et al., 2015), na atividade das enzimas do sistema antioxidante (XIA et al., 2015; BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016) e na redução da síntese de etileno (GLICK, 2014). Além disso minimizam a perda de água pelo fechamento estomático promovido pelo ABA (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008; COHEN et al., 2009). A utilização de *Azospirillum* sp. minimizou os efeitos do déficit hídrico na cultura do trigo (ARZANESH et al., 2011), bem como em plantas de milho (RODRIGEZ-SALAZAR et al., 2009; BANO et al., 2013).

Da mesma forma que as BPCV, os reguladores vegetais exibem efeitos positivos na redução dos efeitos do déficit hídrico em plantas (PERES; ZSÖGÖN; KERBAUY, 2009; WERNER et al., 2010; COLEBROOK et al., 2014). Nesse sentido, o uso de cinetina (citocinina) promoveu maior teor relativo de água em plantas de soja sob déficit hídrico (FIOREZE et al., 2013). Vieira et al. (2013), relataram que a presença de auxina nos tecidos vegetais auxiliou na manutenção do status hídrico, classificando cultivares de soja com maiores teores de auxina, em grupos tolerantes ao déficit hídrico.

A manutenção do teor de água nas folhas é essencial para a manutenção da produtividade (FIOREZE et al., 2011). Zoz et al. (2013), evidenciaram que a ação do sistema antioxidante, representado pelas peroxidases, é importante na superação do déficit hídrico. Por sua vez, Chavarria et al., (2015), evidenciou redução na capacidade fotossintética máxima nas plantas de soja sob déficit hídrico, o que resulta em redução na produção da cultura (NADERI et al., 2013; FAROOQ et al., 2016).

Portanto, o uso de BPCV e reguladores vegetais auxilia a cultura da soja na manutenção da taxa fotossintética e status hídrico durante a ocorrência de déficit hídrico, minimizando as perdas de produção da cultura através de respostas morfológicas e fisiológicas que modificam na planta de soja a sua capacidade de utilização da água.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas fotossintéticas e a produção de plantas de soja em condição de déficit hídrico severo

induzido, em relação à inoculação via semente e aplicação foliar com *A. brasilense* e aplicação foliar de regulador vegetal contendo auxina, giberelina e citocinina.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, com teto em forma de arco, coberto com filme de polietileno difusor de baixa densidade, com 150  $\mu\text{m}$  espessura e proteção anti-UV, com laterais protegidas com tela branca de 40% sombreamento. Durante a condução do experimento a temperatura média foi de 28,8 °C, umidade relativa média de 71,84% e ponto de orvalho médio de 20,8 °C, no período de 12 de novembro de 2016 a 10 de março 2017.

Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade nominal de 12 litros, que receberam como substrato solo proveniente do horizonte A de LATOSSOLO VERMELHO Eutróferrico. O solo apresentava as seguintes características químicas: saturação de bases de 62,68%, pH de 5,67, teor de matéria orgânica de 5,47  $\text{g dm}^{-3}$ , teor de P de 2,07  $\text{mg dm}^{-3}$  e K de 0,18  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , teor de argila, silte e areia de 578, 348,58 e 3,42  $\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente, não sendo necessária a correção, com calcário. Realizou-se fertilização com 150  $\text{mg dm}^{-3}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  (cloreto de potássio) e 300  $\text{mg dm}^{-3}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  (superfosfato simples). A população natural de bactérias diazotróficas, determinada pelo método do número mais provável, era de  $7,5 \times 10^4$  UFC  $\text{g}^{-1}$  solo.

Foi adotado delineamento em blocos casualizados, com 5 tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram representados por controle irrigado (sem restrição hídrica); controle seco (com restrição hídrica), inoculação das sementes com *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK), com restrição hídrica.

Para a realização do experimento foram utilizadas sementes de soja cultivar NA 5909<sup>®</sup> com hábito de crescimento indeterminado, porte médio e ciclo variando de 100 a 120 dias, sendo conduzidas duas plantas por vasos. Todos os tratamentos receberam inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* via solo através da pulverização nas covas onde foram depositadas as sementes de 600  $\text{mL ha}^{-1}$  de inoculante líquido, com volume de calda de 200  $\text{L ha}^{-1}$  contendo as semia 5079 e 5080 com concentração de  $5 \times 10^9$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ .

A inoculação das sementes com *A. brasilense* estirpes AbV5 + AbV6 foi realizada na dose de 100 mL de inoculante ( $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) para cada 50 kg sementes, as quais foram homogeneizadas e mantidas à sombra por cerca de 30 minutos.

Quando as plantas atingiram o estágio fenológico V<sub>6</sub>, correspondendo a 45 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a aplicação foliar dos tratamentos. Para isso utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado com CO<sub>2</sub>, dotado de uma barra de 3 m de largura com seis pontas tipo leque (Magno 11002 ADGA), pressão de trabalho de 2,2 bar, vazão de 200 L ha<sup>-1</sup> e altura de aplicação de 0,5 m acima do ápice das plantas. Para o tratamento com regulador vegetal foi utilizada uma mistura entre auxina, giberelina e citocinina na dose de 0,025 g ha<sup>-1</sup> de ácido 4-indol-3-ilbutírico, 0,025 g ha<sup>-1</sup> de ácido giberélico e 0,045 g ha<sup>-1</sup> de cinetina, pelo uso do produto comercial Stimulate®. Para a aplicação foliar de *A. brasilense* foi utilizado dose de 500 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante comercial a base de *A. brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, numa concentração de  $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>

Os vasos foram irrigados, com reposição diária de água. As plantas foram constantemente monitoradas, para garantir adequado desenvolvimento, não sendo realizada aplicação de nutrientes durante a condução do ensaio.

Quando as plantas alcançaram o estágio fenológico R<sub>2</sub>, florescimento pleno, foi realizada a imposição do déficit hídrico. Para isso, as plantas foram irrigadas até a capacidade de campo e após aquelas destinadas ao déficit hídrico, tiveram a suspensão por completo da irrigação até o momento em que fotossíntese líquida (*A*) se aproximou de zero, correspondendo a dois dias após a imposição do déficit hídrico. Após o término das avaliações os vasos foram reidratados e constantemente irrigados até o momento da maturação plena, onde realizou-se a colheita da soja.

A classificação dos estádios do déficit hídrico severo, foi estabelecido seguindo o critério da condutância estomática (*gs*) para plantas C<sub>3</sub>, onde plantas hidratadas apresentam  $gs \geq 0,2$  mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e plantas em déficit hídrico severo apresentam  $gs \leq 0,1$  mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (dados não apresentados) (FLEXAS et al., 2004).

A avaliação do teor relativo de água (TRA) e a umidade gravimétrica do solo antes do amanhecer e ao final da avaliação (aproximadamente meio dia), procedendo a média entre ambas. Para o TRA coletou-se segmentos foliares de área conhecida, seguindo o método de diferença entre massa no momento, massa turgida após 6 horas a 25 °C e massa seca após 48 horas a 65 °C (SLAVIK, 1974). A umidade

gravimétrica do solo foi determinada pela coleta e uma amostra do perfil do vaso e determinado pelo método de diferença de massa no momento e massa seca após 24 horas a 105 °C.

A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*) em função dos diferentes níveis de luz, foi determinada utilizando-se o equipamento IRGA (*Infra Red Gas Analyser*) modelo LI-6400XT (*Licor Inc. Lincoln, NE*). As leituras foram efetuadas pela manhã entre 08h00min e 11h00min utilizando concentração de CO<sub>2</sub> de 400 μmol mol<sup>-1</sup>, realizadas em folhas completamente desenvolvidas, fotossinteticamente ativas e sem lesões, localizadas no terço médio, nas seguintes densidades de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA - Q) 0; 25; 50; 100; 200; 500; 800; 1200; 1500; 2000 e 2500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Para calcular a eficiência quântica aparente ( $\Phi$  [μmol fótons / μmol CO<sub>2</sub>]), foram utilizadas as concentrações 0; 25; 50; 100 e 200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fótons, ajustando-se a equação linear ( $A = a + \Phi Q$ ), em que *a* e  $\Phi$  são coeficientes de ajuste e *Q* representa a DFFFA, sendo o valor obtido pelo inverso do coeficiente angular da reta. Na intersecção da reta no eixo X calculou-se o valor do ponto de compensação lumínica [ $\Gamma$  (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)]. A curva de resposta da *A* em função da DFFFA foi ajustada pela função hipérbole retangular ( $A = A_{max}Q / (a + Q)$ ), em que *A<sub>max</sub>* é a taxa máxima de fotossíntese e “*a*” é um coeficiente de ajuste da equação e *Q* representa a DFFFA, e através da equação determinada a *A<sub>max</sub>* obtida pela cultura da soja.

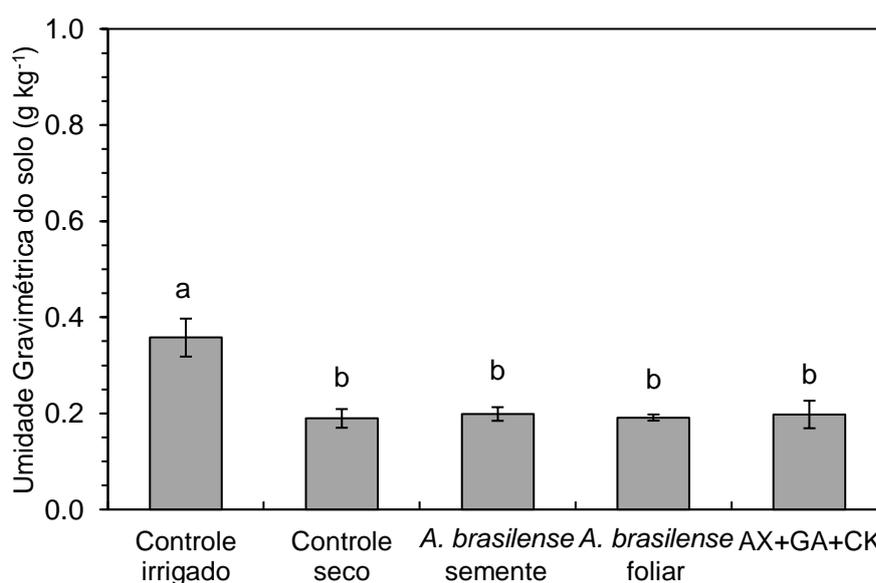
No estágio de maturação plena da soja, procedeu a colheita de todas as vagens, as quais foram debulhadas e posteriormente quantificadas em balança de precisão analítica para determinar a produção por planta.

Os dados de teor relativo de água, umidade gravimétrica do solo e produção foram submetidos a análise de variância a 5% de probabilidade, e quando constada diferenças significativas as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade, ainda se procedeu a determinação da análise de correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A umidade gravimétrica do solo (*U<sub>g</sub>*), foi influenciada pelos tratamentos, sendo observado que o controle irrigado foi superior aos demais tratamentos (Figura 9). Os tratamentos submetidos ao déficit hídrico não apresentaram diferenças, pois no

momento da imposição do déficit hídrico as plantas apresentavam desenvolvimento radicular semelhante, com valores médios de  $9,57_{\pm 1,75}$  g planta<sup>-1</sup>, bem como acúmulo de massa seca de parte aérea com  $22,15_{\pm 2,51}$  g planta<sup>-1</sup>. Assim a água disponível foi absorvida de forma semelhante, sendo a maior média do controle irrigado provida pela reposição diária de água. Corroborando com o presente trabalho verifica-se que a umidade do solo não foi alterada entre os tratamentos mantidos em deficiência hídrica em Argissolo cultivado com espécies lenhosas (ROCHA et al., 2017) e Latossolo com a cultura da soja (FIOREZE et al., 2011, 2013).



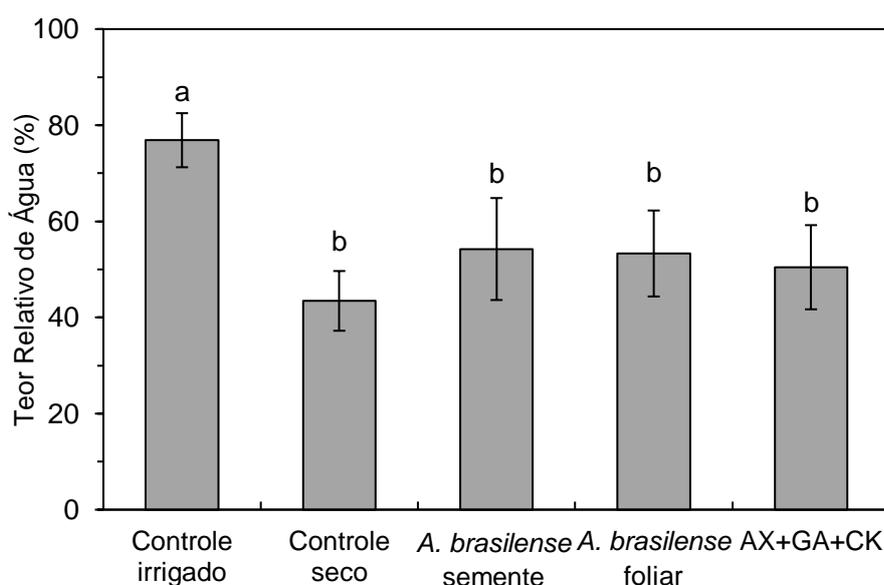
**Figura 9:** Umidade gravimétrica do solo (Ug) após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura da soja submetida a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal.

Nota: Barras indicam o desvio padrão da média; Letras diferentes entre si indicam diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para o teor relativo de água no tecido foliar seguiram o padrão de resposta da umidade gravimétrica do solo, onde foram observadas diferenças significativas para o controle irrigado que apresentou maior média em relação aos demais tratamentos sob restrição hídrica. Tais tratamentos por sua vez não apresentaram diferenças entre si (Figura 10).

As plantas mantidas em déficit hídrico apresentaram redução do TRA frente ao controle irrigado de 76,96%, 41,75%, 44,22% e 52,40% para o controle seco, *A. brasilense* semente, *A. brasilense* foliar e AX+GA+CK, respectivamente.

Os maiores TRA absolutos observados para as plantas inoculadas via semente, foliar ou tratadas com regulador vegetal, podem ser explicados pelo melhor aproveitamento da água (DIMKPA; WEINAND; ASCH, 2009). Trabalhos envolvendo bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) relatam melhor aproveitamento da água em plantas inoculadas em relação às não inoculadas (GROVER et al., 2014; FAN; HU; HUANG, 2015). Esses concluíram que as BPCV auxiliaram na sobrevivência das plantas, pois mantiveram o TRA mais elevado. Nesse sentido, maiores valores de TRA representam plantas com maior capacidade de adaptações fisiológicas ao ambiente, com manutenção de intensa divisão celular e atividade fisiológica (NGUMBI; KLOEPPER, 2016).



**Figura 10:** Teor relativo de água (TRA) no tecido foliar após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura da soja submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal.

Nota: Barras indicam o desvio padrão da média; Letras diferentes entre si indicam diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade.

As respostas do TRA também são explicadas pela correlação positiva entre TRA x Ug (Tabela 16). A redução da umidade gravimétrica do solo leva a redução do teor relativo de água. A soja tem demanda hídrica durante a fase de florescimento entre 5,6 mm dia<sup>-1</sup> a 7,5 mm dia<sup>-1</sup> (PAYERO; IRMAK, 2013; GAVA et al., 2016) e de 4,1 mm dia<sup>-1</sup> durante o enchimento de grãos (SOUZA et al., 2016). Embora esses valores sejam semelhantes a plantas C<sub>4</sub> como o milho (SANTOS et al., 2014) e cana

de açúcar (NENESES; RESENDE, 2016), a soja demanda maior abertura estomática para o fluxo de CO<sub>2</sub> na fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2013). Desta forma, as plantas apresentam maior taxa transpiratória, e conseqüentemente menor eficiência no uso da água (LIU et al., 2005). Portanto, a manutenção do TRA é fundamental para a manutenção de maiores taxas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (Tabela 16).

**Tabela 16:** Correlação de Person entre as variáveis fotossintéticas, teor de água e produção por planta (g planta<sup>-1</sup>) de soja submetida a inoculação com *A. brasilense* ou com aplicação de reguladores vegetais, na presença de déficit hídrico no período de florescimento da cultura.

	<i>Amax</i>	$\Phi$	$\Gamma$	Produção	TRA	Ug
<i>Amax</i>	1	-0,7251	-0,3107	0,8905**	0,9781*	0,9878*
$\Phi$	-0,7251	1	0,2663	-0,7197	-0,7918***	-0,6310
$\Gamma$	-0,3107	0,2663	1	-0,6972	-0,4033	-0,2254
Produção	0,8905**	-0,7197	-0,6972	1	0,9361**	0,8358***
TRA	0,9781*	-0,7918***	-0,4033	0,9361**	1	0,9510**
Ug	0,9878*	-0,6310	-0,2254	0,8358***	0,9510**	1

\*, \*\*, \*\*\* significativo pelo teste t a 1%; 5% e 10% de probabilidade, respectivamente.

Nota: *Amax*: taxa máxima de fotossíntese;  $\Phi$ : eficiência quântica aparente;  $\Gamma$ : ponto de compensação lumínica; TRA: Teor relativo de água; Ug: umidade gravimétrica.

Ao se avaliar as curvas de respostas fotossintéticas das plantas de soja em função das diferentes densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), foi verificado que aquelas que não foram submetidas a restrição hídrica mantiveram elevadas taxas fotossintéticas, alcançando *Amax* de 28,08  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , enquanto os tratamentos mantidos em restrição hídrica tiveram valores reduzidos. O controle seco apresentou *Amax* de 4,65  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , enquanto a inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK promoveram 8,45  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 7,36  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e 8,25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, correspondendo uma superioridade de 181,72%; 158,27% e 177,42% em relação ao controle seco, respectivamente (Figura 11).

Quando se considera os efeitos da mitigação da deficiência hídrica, observa-se que a redução do *Amax* por parte do controle seco foi de 603,87% em relação ao controle irrigado, por sua vez a inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK apresentaram redução de 332,31%,

381,52%, 340,36% em relação ao controle irrigado, respectivamente, ou seja, amenizaram os efeitos na redução da fotossíntese.

A manutenção de maiores valores de  $A_{max}$  em plantas irrigadas e naquelas tratadas com *A. brasilense* e regulador vegetal é reflexo dos maiores teores de água no tecido vegetal (Tabela 16), visto a água ser fundamental para a manutenção da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2013). A redução da  $A_{max}$  está associada à limitação de  $CO_2$  na câmara subestomática, causado pelo fechamento estomático. Logo, plantas com maior TRA conseguem manter maior difusão do  $CO_2$  tendo disponibilidade de substrato para a fotossíntese (CHAVES; OLIVEIRA, 2004a). A limitação da fotossíntese também resulta da fotoinibição dinâmica ou protetora da fotossíntese, ou seja, uma limitação na transporte de elétrons no fotossistema II, que leva a uma redução na taxa fotossintética, com efeitos de curta duração (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009).

Corroborando com o presente estudo, na cultura da soja existem relatos de que a restrição hídrica reduziu a taxa fotossintética das plantas em função de diferentes níveis de DFFFA (CHAVARRIA et al., 2015). Contudo, os mesmos autores citam que plantas mantidas irrigadas apresentaram  $A_{max}$  de  $19,30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , inferior ao obtido no tratamento irrigado do presente estudo.

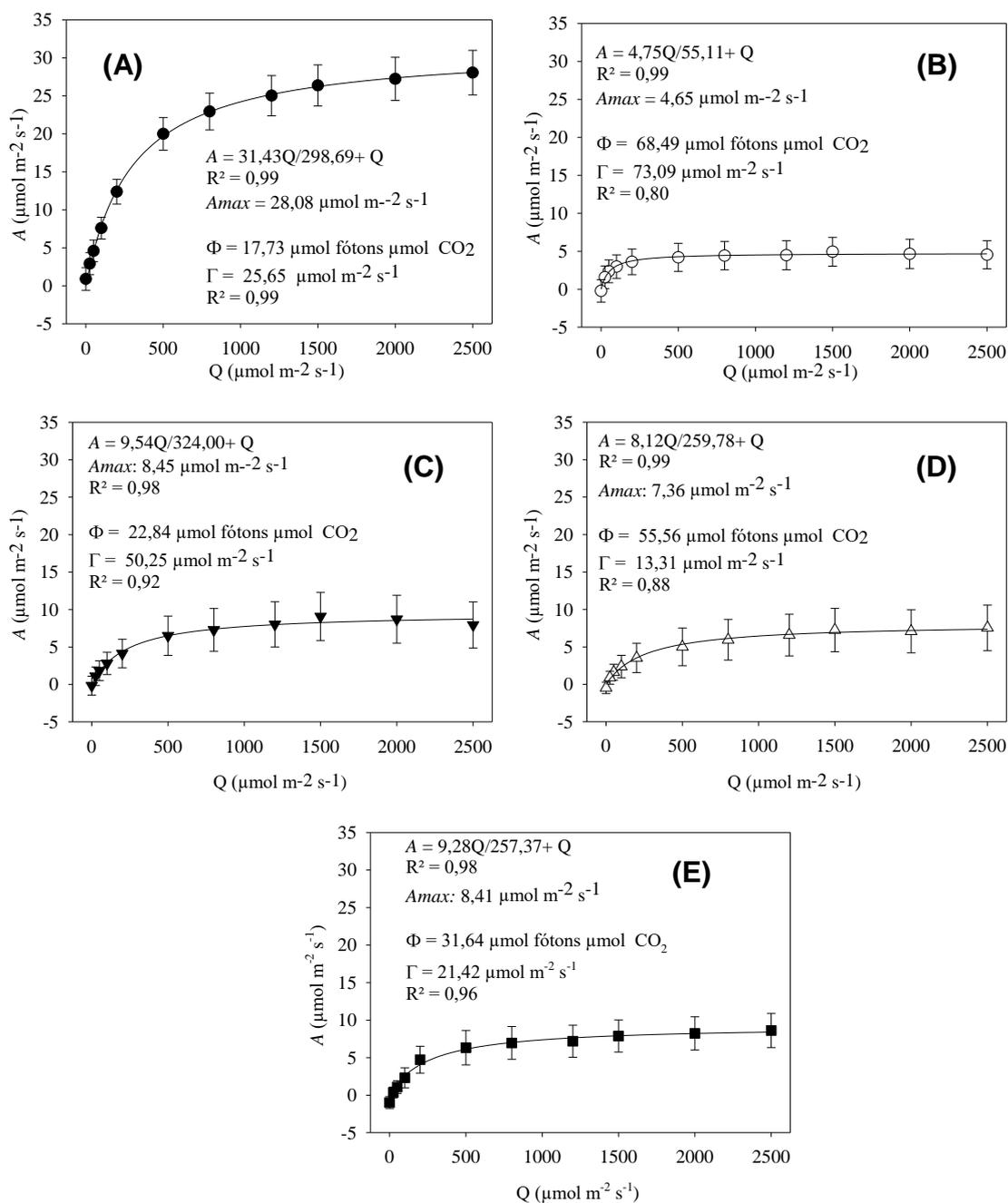
Ao avaliar a eficiência quântica aparente ( $\Phi$ ) (Figura 3) foi evidenciado que a deficiência hídrica reduz a eficiência de utilização de ATP e NADPH no ciclo de Calvin. Ghannoum (2009), relata que a elevação da  $\Phi$  representa também deficiência na capacidade de uso na energia luminosa nas reações fotoquímicas da fotossíntese. As plantas mantidas irrigadas demandaram 17,73 mols de fótons para fixar  $1 \mu\text{mol}$  de  $CO_2$ , enquanto no controle seco foram necessários 68,49 mols de fótons, na medida que a inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK necessitavam de 50,25; 55,56 e 42,47 mols de fótons, respectivamente.

A elevação da  $\Phi$  nos tratamentos em déficit hídrico está diretamente relacionada com a redução do TRA, exemplificada pela correlação negativa entre estas variáveis (Tabela 1). A elevação da  $\Phi$  é consequência da limitação da entrada de  $CO_2$  pelo fechamento estomático (MACHADO et al., 2013), resultando em menor eficiência em fixar o  $CO_2$  tendo maior gasto de energia luminosa para fixar uma molécula de  $CO_2$ , em decorrência da deficiência hídrica elevar a fotorrespiração.

Da mesma forma que a eficiência quântica aparente, o ponto de compensação lumínica ( $\Gamma$ ) foi aumentado nas plantas do controle seco (Figura 11B) e inoculadas

com *A. brasilense* nas sementes (Figuras 11C), enquanto que para as plantas que receberam aplicação foliar de *A. brasilense* (Figura 11D) e AX+GA+CK (Figuras 11E) houve redução do ponto de compensação lumínica, em 48,11% e 45,03%, respectivamente, quando comparada ao controle irrigado. Corroborando com os presentes resultados foi demonstrado que plantas de soja sob deficiência hídrica apresentam aumento no ponto de compensação lumínica (CATUCHI et al., 2011). Larcher (2003), relata que o aumento de  $\Gamma$  indica respiração vegetal, ou seja, para superar as condições de déficit hídrico plantas do controle seco e submetidas à inoculação das sementes com *A. brasilense* necessitaram utilizar os fotoassimilados acumulados, fato esse que explica as mesmas não terem se diferenciando em produção por planta (Figura 11).

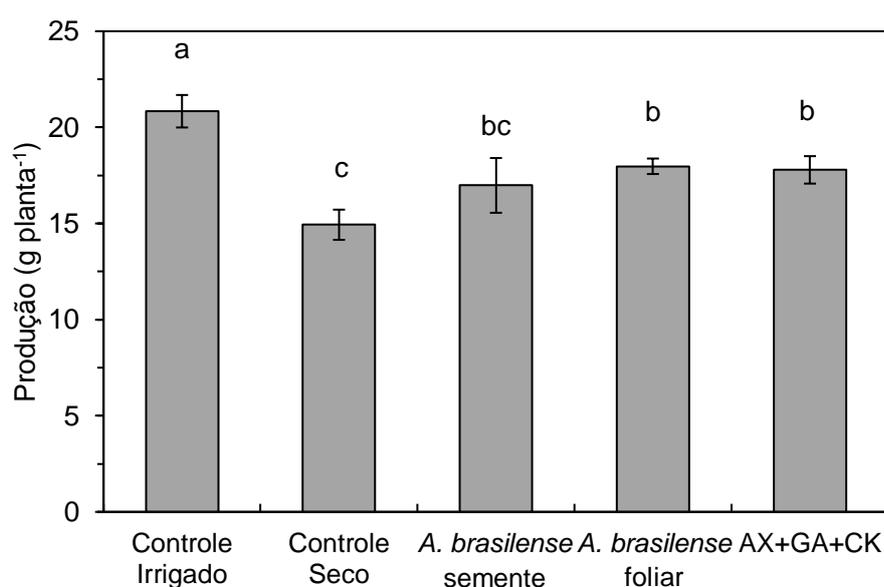
Os resultados semelhantes obtidos entre o uso de *A. brasilense* e regulador vegetal estão relacionados devido os mesmos atuarem de forma semelhante no vegetal. Esta bactéria possui capacidade de produzir e excretar hormônios vegetais principalmente auxinas (KUSS et al., 2007), além de citocininas e giberelinas (PERRIG et al., 2007), os mesmos utilizados na mistura de reguladores vegetais aplicada via pulverização foliar. Desta forma, são relatados que incrementos nos níveis de auxinas (PERES; ZSÖGÖN; KERBAUY, 2009), citocinina (WERNER et al., 2010) e giberelina (COLEBROOK et al., 2014) em plantas sob condições de déficit hídrico auxiliam no desenvolvimento vegetal mitigando os efeitos do estresse.



**Figura 11:** Curva de resposta fotossint\u00e9tica para os tratamentos: controle irrigado (A); controle seco (B); inocula\u00e7\u00e3o das sementes com *A. brasilense* (C); aplica\u00e7\u00e3o foliar de *A. brasilense* (D); aplica\u00e7\u00e3o foliar de AX+GA+CK (E) aplicados na cultura da soja submetidas ao d\u00e9ficit h\u00eddrico no est\u00e1dio de florescimento em fun\u00e7\u00e3o de diferentes n\u00edveis de luminosidade.

Nota: A: Taxa assimilat\u00f3ria l\u00edquida de CO<sub>2</sub>; Q: densidade de fluxo de f\u00f3tons fotossinteticamente ativo; A<sub>max</sub>: taxa m\u00e1xima de fotoss\u00edntese; Φ: efici\u00eancia qu\u00e2ntica aparente; Γ: ponto de compensa\u00e7\u00e3o lum\u00ednica;

Seguindo o comportamento das variáveis anteriores, a imposição do déficit hídrico durante o florescimento da cultura da soja influenciou a produção de grãos. A maior média foi obtida nas plantas mantidas irrigadas, enquanto a menor média nas plantas do controle seco, com redução na produção de 28,31% frente ao controle irrigado. Contudo, o controle seco não se diferenciou da inoculação das sementes com *A. brasilense*. Por sua vez, a aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK em condições de déficit hídrico, apresentaram maiores médias que o controle seco de 20,34% e 19,07%, respectivamente (Figura 12), os mesmos tratamentos não se diferiram da inoculação das sementes com *A. brasilense*.



**Figura 12:** Produção de grãos por plantas de soja após a imposição do déficit hídrico severo durante o período de florescimento da cultura submetida a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal.

Nota: Barras indicam o desvio padrão da média; Letras diferentes entre si indicam diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade.

A ocorrência do déficit hídrico no período de florescimento reduziu a produção das plantas devido ao abortamento de estruturas reprodutivas, e menor disponibilidade de fotoassimilados devido abortamento de folhas e consequentemente menor formação de legumes. Nesse sentido são demonstrados que a incidência de déficit hídrico nesse período resultou em abortamento de flores de soja de 15% (GAVA et al., 2016), 49% (FIOREZE et al., 2013) e 26,8% (FIOREZE et al., 2011).

As maiores produções obtidas nos tratamentos com aplicação foliar de *A. brasilense* ou regulador vegetal estão relacionadas com a manutenção da atividade

fotossintética, com as variações absolutas ao teor relativo de água (Figura 10). Estas respostas são confirmadas pelas correlações positivas obtidas entre as variáveis *Amax* x produção, *Amax* x teor relativo de água e *Amax* x umidade do solo (Tabela 16).

As maiores médias por parte da inoculação foliar de *A. brasilense* e da aplicação de AX+GA+CK são resultado da associação dos fatores produtivos e dos estímulos hormonais que resultaram em maior *Amax*, dessa forma a planta apresentou maior produção. Confirmando essa condição é demonstrado que plantas de soja que continuam a realizar fotossíntese em condições de restrição hídrica apresentam maiores produtividades (LIU et al., 2005).

Pode-se então relatar que a utilização de *A. brasilense* ou regulador vegetal via pulverização foliar são opções para amenizar os efeitos do déficit hídrico na cultura da soja, auxiliando na manutenção da assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, resultando em menores perdas na produção por planta.

#### 4. CONCLUSÃO

A inoculação via semente ou foliar de *A. brasilense* e a aplicação foliar de regulador vegetal com auxina, giberelina e citocinina, mitigam os efeitos do déficit hídrico durante o florescimento da soja sobre a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>.

A inoculação foliar de *A. brasilense* e a aplicação foliar de regulador vegetal a base de auxina, giberelina e citocinina mitigam os efeitos do déficit hídrico sobre a produção da soja submetida ao déficit hídrico durante o florescimento.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 463–472, 2009.

ARZANESH, M. H.; ALIKHANI, H. A.; KHAVAZI, K.; RAHIMIAN, H. A.; MIRANSARI, M. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 197–205, 2011.

BANO, Q.; ILYAS, N.; BANO, A.; ZAFAR, N.; AKRAM, A.; HASSAN, F. U. L. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 13–20, 2013.

- BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.
- CATUCHI, T. A.; VÍTOLO, H. F.; BERTOLLI, S. C.; SOUZA, G. M. Tolerance to water deficiency between two soybean cultivars : transgenic versus conventional. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 373–378, 2011.
- CHAVARRIA, G.; DURIGON, M. R.; KLEIN, V. A.; KLEBER, H. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387–1393, 2015.
- CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2365–2384, 2004.
- COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 97–103, 2008.
- COHEN, A. C.; TRAVAGLIA, C. N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, v. 87, n. 5, p. 455–462, 2009.
- COLEBROOK, E. H.; THOMAS, S. G.; PHILLIPS, A. L.; HEDDEN, P. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 1, p. 67–75, 2014.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, 2019.
- DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant – rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Planta, Cell & Environment**, v. 32, n. 3, p. 1682–1694, 2009.
- FAN, X.; HU, H.; HUANG, G. Soil inoculation with *Burkholderia* sp . LD-11 has positive effect on water-use efficiency in inbred lines of maize. **Plant Soil**, v. 390, n. 1, p. 337–349, 2015.
- FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 2,

p. 1–22, 2016.

FIGLIANO, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 58, n. 3, p. 342–349, 2011.

FIGLIANO, S. L.; RODRIGUES, J. D.; CARNEIRO, J. P. C.; SILVA, A. D. A.; LIMA, M. B. Fisiologia e produção da soja tratada com cinetina e cálcio sob déficit hídrico e sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 11, p. 1432–1439, 2013.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C<sub>3</sub> plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 1, p. 269–279, 2004.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; ALMEIDA, D. M.; FREITAS, P. S. L.; REZENDE, R. Estratégias de manejo de déficit hídrico na irrigação da cultura da soja. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 10, n. 3, p. 305–315, 2016.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; JOSE, J. V.; FRAGA JR, E. F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349–359, 2015.

GHANNOUM, O. C<sub>4</sub> photosynthesis and water stress. **Annals of botany**, v. 103, n. 1, p. 635–644, 2009.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2014.

GROVER, M.; MADHUBALA, R.; ALI, S. Z.; YADAV, S. K.; VENKATESWARLU, B. Influence of *Bacillus* spp . strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions. **Journal of Basic Microbiology**, v. 54, n. 9, p. 951–961, 2014.

INAGAKI, A. M.; GUIMARÃES, V. F.; LANA, C.; KLEIN, J.; RODRIGUES, A. C. P.; RODRIGUES, L. O. S.; RAMPIM, L. Maize initial growth with the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) under different soil acidity levels. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 4, p. 271–280, 2015.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459–1465, 2007.

LARCHER, W. **Physiological planta ecology**. 4. ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2003.

LIU, F.; ANDERSEN, M. N.; JACOBSEN, S.; JENSEN, C. R. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, n. 1, p. 33–40, 2005.

MACHADO, D. F. S. P.; ANDRADE LAGÔA, A. M. M.; RIBEIRO, R. V.; RIBEIRO MARCHIORI, P. E.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C. Baixa temperatura noturna e deficiência hídrica na fotossíntese de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 487–495, 2013.

NADERI, A.; NASERI, R.; FATHI, A.; BAHAMIN, S.; MALEKI, R. Physiological performance of soybean cultivars under drought stress. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 6, p. 38–44, 2013.

NENESES, T. N.; RESENDE, R. S. Influência de épocas de plantio na eficiência do uso da água da chuva em cultivo irrigado de cana-de-açúcar. **Irriga**, v. Edição Esp, n. Grandes Culturas, p. 291–305, 2016.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 109–125, 2016.

PAYERO, J. O.; IRMAK, S. Daily energy fluxes , evapotranspiration and crop coefficient of soybean. **Agricultural Water Management**, v. 129, p. 31–43, 2013.

PERES, L. E. P.; ZSÖGÖN, A.; KERBAUY, G. B. Abscisic acid and auxin accumulation in *Catasetum fimbriatum* roots growing in vitro with high sucrose and mannitol content. **Biologia Plantarum**, v. 53, n. 3, p. 560–564, 2009.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 1143–50, 2007.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 987–994, 2004.

RAMPIM, L.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V.

F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 678–685, 2012.

RODRIGEZ-SALAZAR, J.; SUÁREZ, R.; CABELLERO-MELLADO, J.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. **Microbiological Letters**, v. 296, n. 1, p. 52–59, 2009.

SANTOS, W. O.; SOBRINHO, J. E.; MEDEIROS, J. F.; MOURA, M. S. B.; NUNES, R. L. C. Coeficientes de cultivo e necessidades hídrica da cultura do milho verde nas condições do semiárido brasileiro. **Irriga**, v. 19, n. 4, p. 559–572, 2014.

SOUZA, P. J. O. P.; ORTEGA-FARIAS, S.; ROCHA, E. J. P.; SOUSA, A. M. L.; SOUZA, E. B. Consumo hídrico da soja no nordeste paraense. **Irriga**, v. Edição Esp, p. 218–231, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artemed, 2013.

VIEIRA, F. C. F.; SANTOS JUNIOR, C. D.; NOGUEIRA, A. P. O.; DIAS, A. C. C.; HAMAWAKI, O. T.; BONETTI, A. M. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por peg 6000. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 543–552, 2013.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WERNER, T.; NEHNEVAJOVA, E.; KÖLLMER, I.; NOVÁK, O.; STRNAD, M.; KRÄMER, U.; SCHMÜLLING, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and Tobacco. **The Plant Cell**, v. 22, n. 12, p. 1–17, 2010.

XIA, X.; ZHOU, Y.; SHI, K.; ZHOU, J.; FOYER, C. H.; YU, J. Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 10, p. 2839–2856, 2015.

**CAPÍTULO V**

**TROCAS GASOSAS E PRODUÇÃO DE SOJA COM *Azospirillum brasilense* OU  
REGULADORES VEGETAIS SOB CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

**GAS EXCHANGES AND SOYBEAN PRODUCTION WITH *Azospirillum brasilense*  
OR PLANT REGULATORS UNDER DROUGHT CONDITIONS**

**Resumo:** o objetivou-se avaliar as respostas fotossintéticas e produtiva da cultura da soja, quando inoculada com *A. brasilense* via semente e foliar e reguladores vegetais via foliar, quando submetida a déficit hídrico severo no período de florescimento. Para isso utilizou-se cinco tratamentos representados por: controle irrigado (sem restrição hídrica); e os demais sob restrição hídrica sendo: controle seco, inoculação das sementes com *A. brasilense*, aplicação foliar de *A. brasilense*, aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK). A imposição do déficit hídrico ocorreu no florescimento pleno e a reidratação ocorreu quando pelo menos um tratamento apresentava assimilação líquida de CO<sub>2</sub> próximo a zero. As avaliações foram realizadas diariamente e após a reidratação determinando-se: teor relativo de água (TRA), umidade gravimétrica do solo, assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), transpiração (E); condutância estomática (gs), concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), eficiência no uso da água (WUE) e eficiência de carboxilação (Fc). No déficit hídrico severo avaliou-se a fluorescência da clorofila, e no momento da maturação o número de vagens e grãos por vagem, massa de 100 grãos e produção. O TRA apresentou maiores valores para AX+GA+CK e *A. brasilense* via sementes. Nas trocas gasosas a aplicação foliar de *A. brasilense* auxiliou na manutenção de 'A' e elevou 'WUE'. Na fluorescência da clorofila observou-se apenas efeito do déficit hídrico. Desta forma, a aplicação de *A. brasilense* via foliar ou semente e AX+GA+CK amenizaram as perdas em produção. Conclui-se que *A. brasilense* via semente ou foliar e reguladores vegetais mitigam as perdas em produção em função da deficiência hídrica.

**Palavras-chaves:** Trocas gasosas; Fluorescência da clorofila a; Estresse abióticos; Relações hídricas

**Abstract:** the objective was to evaluate the photosynthetic and productive responses of the soybean crop when inoculated with *A. brasilense* via seed and foliar spray and plant regulators via foliar spray when submitted to severe drought in the flowering period. For this it was used with five treatments represented by: irrigated control (without drought); and the others under drought: dry control, inoculation of seeds with *A. brasilense*, foliar spray application of *A. brasilense*, foliar spray application of auxin, gibberellin and cytokinin (AX+GA+CK). Imposition of the water deficit occurred at flowering period and rehydration occurred when at least one treatment had a net assimilation of CO<sub>2</sub> near to zero. The daily and post-rehydration evaluations consisted

of: relative water content (RWC), soil gravimetric moisture, net assimilation of CO<sub>2</sub> (*A*), transpiration (*E*); stomata closure (*g*<sub>s</sub>), internal CO<sub>2</sub> concentration (*C*<sub>i</sub>), water use efficiency (*WUE*) and carboxylation efficiency (*F<sub>c</sub>*). In the severe drought the chlorophyll fluorescence was evaluated, and in the moment of maturation the number of pods and grains per pod, mass of 100 grains and production. The RWC presented higher values for AX+GA+CK and *A. brasilense* via seeds. In the gas exchanges the foliar spray application of *A. brasilense* assisted in the maintenance of '*A*' and raised '*WUE*'. In the chlorophyll fluorescence, only the drought was observed. In this way, *A. brasilense* via foliar spray or seed and AX+GA+CK reduced production losses. It is concluded that *A. brasilense* via seed or foliar spray and plant regulators alleviate losses in production due to drought.

**Keywords:** Gas exchange; Fluorescence of chlorophyll a; Abiotic stress; Water relations

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é a principal oleaginosa cultivada no mundo, com uma produção estimada de 347,88 milhões de toneladas (USDA, 2017), o Brasil representa uma parte importante nesse montante, representando aproximadamente 30,75% da produção mundial da commodity (CONAB, 2017).

A soja é uma planta classificada como C<sub>3</sub>, apresentando baixa eficiência na utilização do carbono durante o processo fotossintético, desta forma necessita manter os estômatos abertos, o que favorece a perda de água pelo processo de transpiração vegetal. Devido a esta condição a soja apresenta uma baixa eficiência na utilização da água (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Em estudos comparativos entre plantas de soja (C<sub>3</sub>) e milho (C<sub>4</sub>), é demonstrado que as taxas fotossintéticas são próximas em condições de campo, contudo a soja apresentava transpiração de 8,816 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> frente a 4,673 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> do milho, o que resultou em uma eficiência no uso da água de 3,71 mg g<sup>-1</sup>, 50,4% inferior à planta C<sub>4</sub> (YU; WANG; ZHUANG, 2004). Assim a demanda hídrica em condições de campo no Brasil varia entre 450 a 800 mm durante o ciclo, com maior necessidade entre o florescimento e enchimento de grão (GAVA et al., 2015; SOUZA et al., 2016), sendo relatado que no período de maior demanda hídrica necessidade de até 7,4 mm dia<sup>-1</sup>. A ocorrência de restrição hídrica no florescimento acarreta em redução na

produtividade da cultura (FIOREZE et al., 2013; GAVA et al., 2015). A menor produtividade na ocorrência de limitação hídrica no florescimento, resulta do abortamento floral e conseqüentemente menor formação de vagens, sendo demonstrado abortamento floral de 14,7%, devido ao déficit hídrico (GAVA et al., 2016), e em estudo entre cultivares obteve-se valores entre 20% a 60% (KOKUBUN; SHIMADA; TAKAHASHI, 2001). Assim, são encontrados reduções variadas na produtividade. Quando se considera déficit hídrico não letal, Sadeghipour e Abbasi (2012), demonstraram valores médios de redução na produção entre 24% a 50%.

A principal forma de se elevar a tolerância a deficiência hídrica em plantas, está na seleção de genótipos resistentes (NASCIMENTO et al., 2011), contudo a longo prazo. Para respostas a curto prazo, são estudadas opções como o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (DIMKPA; WEINAND; ASCH, 2009; VURUKONDA et al., 2016) e reguladores vegetais (FAROOQ et al., 2009).

Dentre as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), são amplamente estudados aquelas pertencentes a espécie *Azospirillum brasilense*, essa bactéria produz e disponibiliza para plantas reguladores vegetais, destacando-se a auxina, na forma de ácido índol-acético (KUSS et al., 2007). Quando a aplicação ocorre via foliar o meio de cultura onde essa bactéria se desenvolve contém reguladores vegetais (PERRIG et al., 2007) que interferem no desenvolvimento vegetal. Em braquiária sob déficit hídrico são demonstrados efeitos benéficos do *A. brasilense* sobre a atividade antioxidante (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016) e nas trocas gasosas (BULEGON et al., 2017a), onde a aplicação foliar de *A. brasilense* minimizou na planta os efeitos do déficit hídrico, elevando as trocas gasosas e auxiliando na remoção de espécies reativas de oxigênio. Na cultura da soja, a inoculação via semente com *A. brasilense* promoveu ganhos a cultura da soja quando comparado a plantas não inoculadas, em diferentes regimes hídricos (SADEGHIPOUR; ABBASI, 2012).

Os regulares vegetais, são substâncias sintéticas que aplicadas nos vegetais incrementam os níveis endógenos do hormônio e atuam no desenvolvimento vegetal. No presente estudo foi utilizado como regulador uma mistura contendo auxina, giberelina e citocinina. Incrementos nos níveis de auxinas (PERES; ZSÖGÖN; KERBAUY, 2009), citocinina (WERNER et al., 2010) e giberelina (COLEBROOK et al., 2014) em plantas sob condições de déficit hídrico auxiliam no desenvolvimento vegetal. Segundo Farooq et al. (2016), estas substâncias atuam a níveis celulares,

estimulando desenvolvimento radicular, manutenção das trocas gasosas e incrementos na atividade antioxidante, em condições de déficit hídrico. Nesse sentido é demonstrado que o uso de cinetina elevou o teor relativo de água (TRA) em folhas de soja sob deficiência hídrica (FIOREZE et al., 2013). Vieira et al. (2013), demonstraram que a presença de auxina nos tecidos vegetais auxiliou na manutenção do TRA, sendo utilizado para classificar cultivares de soja com maiores teores de auxina, em grupos tolerantes ao déficit hídrico.

Considerando que a deficiência hídrica provoca perdas significativas na soja, a aplicação de tratamentos que a curto prazo auxiliam as plantas a tolerar a falta de água, amenizando perdas na produção são de grande importância. O uso da BPCV *A. brasilense* e dos reguladores vegetais se mostram como opções promissoras na cultura da soja, pois agem em rotas fisiológicas fundamentais que representam respostas rápidas a deficiência hídrica.

Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar as respostas fotossintéticas e produtiva da cultura da soja, quando inoculada com *A. brasilense* via semente e foliar e reguladores vegetais via foliar, quando submetida a déficit hídrico severo no período de florescimento.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, do tipo teto em forma de arco, coberto com filme de polietileno difusor de baixa densidade, com 150  $\mu\text{m}$  espessura e proteção anti-UV, com laterais protegida com tela branca de 40% sombreamento, sendo durante a condução a casa de vegetação apresentou temperatura média de 28,8 °C, umidade relativa média de 71,84% e ponto de orvalho médio de 20,8 °C, no período de 12 de novembro de 2016 a 10 de março 2017.

Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade nominal de 12 litros, que receberam como substrato solo proveniente do horizonte A de LATOSSOLO VERMELHO Eutróferrico (SANTOS et al., 2013). O solo apresentava as seguintes características químicas: saturação de bases de 62,68%, pH de 5,67, teor de matéria orgânica de 5,47 g  $\text{dm}^{-3}$ , teor de P de 2,07 mg  $\text{dm}^{-3}$  e K de 0,18 cmol<sub>c</sub>  $\text{dm}^{-3}$ , teor de argila, silte e areia de 578, 348,58 e 3,42 g  $\text{kg}^{-1}$ , respectivamente, não sendo necessária a correção, com calcário. Realizou-se fertilização com 150 mg  $\text{dm}^3$  de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio) e 300 mg  $\text{dm}^3$  de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples). A população

natural de bactérias diazotróficas, determinada pelo método do número mais provável, era de  $7,5 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup> solo.

Foi adotado um delineamento em blocos casualizados, com 5 tratamentos e cinco repetições, sendo conduzido em três triplicadas: uma destinada a caracterização biométrica das plantas; uma para as avaliações destrutivas de umidade gravimétrica do solo e teor relativo de água; e por fim uma destinadas as avaliações de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e ao final do ciclo componentes de produção. Os tratamentos foram representados por: controle irrigado (sem restrição hídrica); controle seco (com restrição hídrica), inoculação das sementes com *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK), com restrição hídrica.

Para a realização do experimento foram utilizadas sementes de soja cultivar NA 5909® com hábito de crescimento indeterminado, porte médio e ciclo variando de 100 a 120 dias, sendo conduzidas duas plantas por vasos. Todos os tratamentos receberam inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* via solo através da pulverização nas covas onde foram depositadas as sementes com 600 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante líquido (padrão comercial), contendo as semias 5079 e 5080 e concentração de  $5 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>, com volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>.

A inoculação das sementes com *A. brasilense* estirpes AbV5 + AbV6 foi realizada na dose de 100 mL de inoculante (padrão comercial  $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) para cada 50 kg sementes, as quais foram homogeneizadas e mantidas à sombra por cerca de 30 minutos.

Quando as plantas atingiram o estágio fenológico V<sub>6</sub>, correspondendo a 45 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a aplicação foliar dos tratamentos. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado com CO<sub>2</sub>, dotado de uma barra de 3 m de largura com seis pontas tipo leque (Magno 11002 ADGA), pressão de trabalho de 2,2 bar, vazão de 200 L ha<sup>-1</sup> e altura de aplicação de 0,5 m acima do ápice das plantas.

Para o tratamento com regulador vegetal foi utilizada uma mistura entre auxina, giberelina e citocinina na dose de 0,025 g ha<sup>-1</sup> de Ácido 4-indol-3-ilbutírico, 0,025 g ha<sup>-1</sup> de Ácido giberélico e 0,045 g ha<sup>-1</sup> de Cinetina, pelo uso do produto comercial Stimulate®. Para a aplicação foliar de *A. brasilense* foi utilizado uma dose de 500 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante comercial a base de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 e AbV6 na concentração de  $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>.

As plantas foram constantemente monitoradas, para garantir adequado desenvolvimento, não sendo realizada aplicação de nutrientes minerais durante a condução do ensaio, para a manutenção do status hídrico vegetal os vasos foram irrigados diariamente, até o momento da imposição do déficit hídrico.

Quando as plantas alcançaram o estágio fenológico R<sub>2</sub>, florescimento pleno, foi realizada a imposição do déficit hídrico. Para isso todos os vasos foram previamente irrigados até alcançarem a capacidade de campo. Os tratamentos destinados ao déficit hídrico tiveram sua irrigação suspensa sendo mantidos em restrição hídrica até o momento em que as plantas em pelo menos um tratamento alcançou taxa fotossintética próxima a zero. A partir desse momento as plantas foram reidratadas, sendo os vasos irrigados até alcançarem a capacidade de campo. A reidratação foi avaliada até o momento que as plantas recuperassem sua taxa fotossintética próxima a condição inicial. Nos tratamentos sem restrição hídrica os vasos foram irrigados periodicamente com suprimento adequado de água.

A classificação dos estádios do déficit hídrico em plantas hidratadas (antes do déficit hídrico e após a reidratação) e em déficit hídrico severo, foi estabelecida seguindo o critério da condutância estomática ( $g_s$ ) para plantas C<sub>3</sub>, onde plantas hidratadas apresentam  $g_s \geq 0,2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e plantas em déficit hídrico severo apresentam  $g_s \leq 0,1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (FLEXAS et al., 2004).

Antes da imposição do déficit hídrico as plantas referentes a triplica destinada a caracterização biométrica, foram seccionadas rente ao solo e adicionadas em sacos de papel kraft. O sistema radicular foi amostrado através da limpeza em água corrente e posteriormente adicionados em sacos de papel kraft. A parte aérea e o sistema radicular foram levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar por 65 °C por 72 horas, e posteriormente tiveram suas massas determinadas em balança de precisão, determinando a massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e a massa seca total de planta pelo somatório de ambas.

A umidade gravimétrica foi avaliada em pré-dawn durante a imposição do déficit hídrico retirando-se uma amostra do perfil do solo contido em cada vaso, que foi pesada no momento da coleta, depois foram levadas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 105°C, por 24 horas, sendo posteriormente pesadas o solo seco.

A determinação do TRA foi realizada em pré-dawn durante a imposição do déficit hídrico coletando-se amostras foliares de 1,5 cm<sup>2</sup> as quais foram pesadas no momento da coleta, sendo posteriormente colocadas em placas de petri com água destilada, e levadas para câmara de germinação do tipo B.O.D. por seis horas a 25°C para ocorrer a saturação das amostras foliares. Os discos tiveram sua superfície secas e pesadas para obter a massa fresca turgida e posteriormente levados a estufa de circulação forçada de ar a 65°C até obterem peso constante, para a determinação da massa seca (SLAVIK 1974).

Para a determinação das trocas gasosas, previamente a imposição do déficit hídrico foram identificadas duas folhas completamente desenvolvidas, fotossinteticamente ativas e sem lesões aparentes, localizadas no terço médio onde procedeu-se as leituras diariamente. As leituras foram realizadas utilizando-se o equipamento IRGA (*Infra Red Gas Analyser*) modelo LI-6400XT (*Licor Inc. Lincoln, NE*), pela manhã entre 09h00min e 11h00min utilizando teor de CO<sub>2</sub> de 400 μmol mol<sup>-1</sup>, e fluxo de fótons fotossinteticamente ativo de 1200 μmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Determinou-se a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ('A'), taxa de transpiração da folha ('E'); condutância estomática ('gs'), concentração interna de CO<sub>2</sub> ('Ci'), além das seguintes relações: 'WUE' = 'A'/'E' e 'Fc' = 'A'/'Ci' (ZHANG et al., 2001), em que 'WUE' corresponde à eficiência do uso de água e 'Fc' é a eficiência instantânea de carboxilação.

No momento do déficit hídrico severo foi realizada a análises de fluorescência da clorofila através do método do pulso de saturação (SCHREIBER; BILGER; NEUBAUER, 1994) em folhas no escuro, com leitura realizada durante a madrugada, sendo obtidos os valores de fluorescência inicial (Fo), máxima (Fm) e eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm). Na presença de radiação solar, foi determinada a eficiência quântica efetiva do PSII (ΦPSII), a eficiência máxima do PSII (Fv'/Fm') e o coeficiente de extinção fotoquímico (qP).

Ao final do ciclo produtivo foram determinados o número de vagens por plantas, pela contagem manual do total de vagens presente nas plantas. Após procedeu-se a colheita manual de todas as vagens, e a partir da escolha aleatória de 10 vagens determinou-se o número de grãos por vagem, em seguida as vagens foram debulhadas e determinou-se a produção por planta. Por fim, foi determinada a massa de cem grãos, pela contagem de quatro amostras de 100 grãos as quais eram

contadas, pesadas e retornavam para o total da amostra, sendo homogeneizadas para realizar uma nova contagem, devido ao pequeno volume de grãos.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F e quando significativos tiveram suas médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do software Sisvar. Após as médias foram submetidas a análise de correlação de Pearson, com auxílio do programa Genes.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da imposição do déficit hídrico, as plantas de soja não apresentavam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para o acúmulo de massa seca de raiz, parte aérea e total (Tabela 17).

A ausência de diferenças no acúmulo de massa seca previamente a imposição do déficit hídrico é importante para evidenciar que as respostas obtidas não foram influenciadas por diferenças impostas pelos tratamentos no desenvolvimento vegetal, visto que plantas com maior acúmulo de massa seca demandam maior quantidade de água, para manutenção da atividade fisiológica e dos órgãos vegetais.

**Tabela 17:** Caracterização de plantas de soja antes da imposição do déficit hídrico em plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

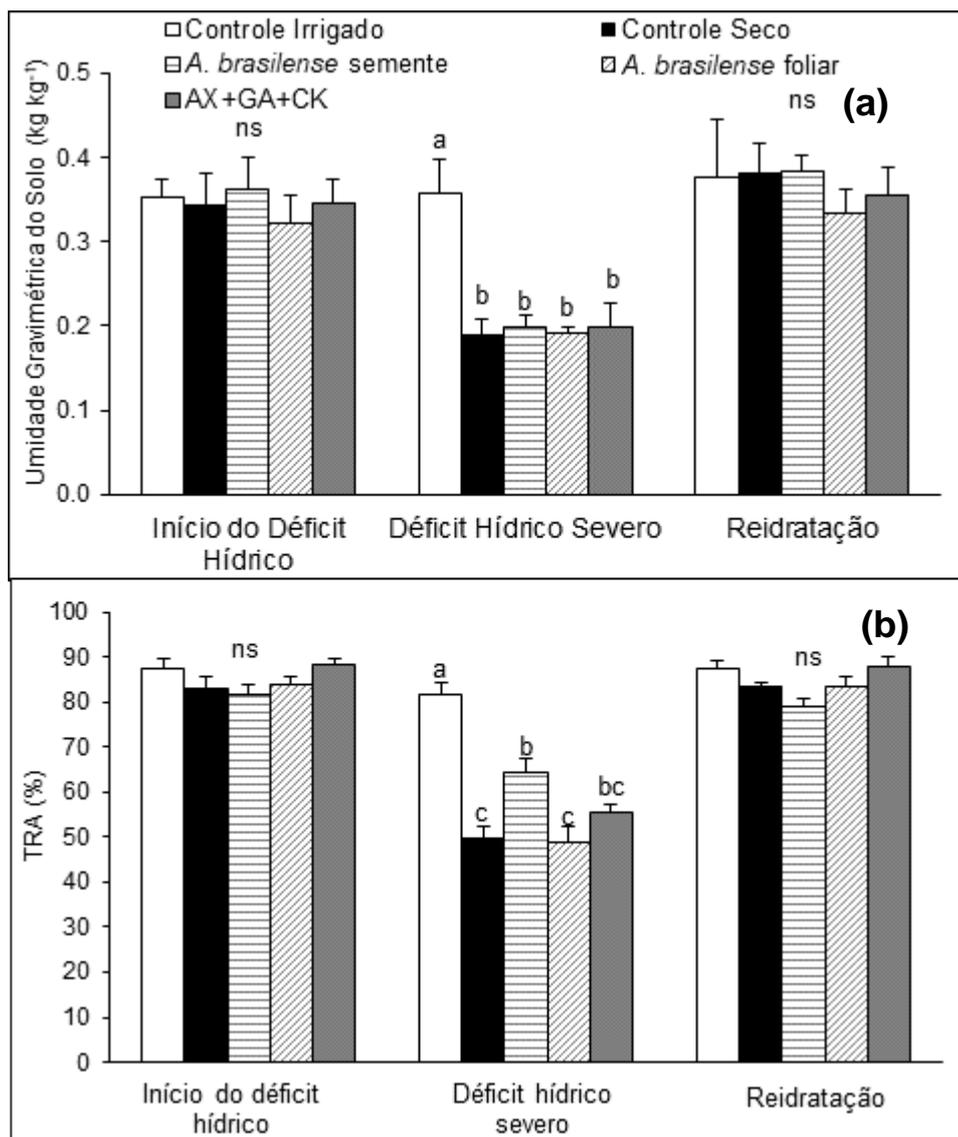
Tratamentos	MSR	MSPA	MStotal
	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>
Controle Irrigado	9,70 $\pm$ 1,65	22,86 $\pm$ 1,80	32,56 $\pm$ 2,95
Controle Seco	10,63 $\pm$ 1,05	24,84 $\pm$ 0,98	35,47 $\pm$ 1,93
<i>A. brasilense</i> semente	10,63 $\pm$ 1,59	22,39 $\pm$ 2,16	33,02 $\pm$ 3,18
<i>A. brasilense</i> foliar	9,83 $\pm$ 1,08	21,35 $\pm$ 1,88	31,18 $\pm$ 2,96
AX+GA+CK	8,47 $\pm$ 1,55	23,25 $\pm$ 1,63	31,73 $\pm$ 2,31
Valores de F calculado			
Tratamento	1,15 <sup>ns</sup>	1,39 <sup>ns</sup>	0,99 <sup>ns</sup>
CV (%)	16,72	9,43	10,17

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade;  $\pm$  indicam o erro padrão da média para  $n = 5$ .  
Nota: MSR: massa seca de raiz; MSPA: massa seca de parte aérea; MStotal: massa seca total.

Para a umidade gravimétrica do solo foi observado diferença significativa, apenas no momento do déficit hídrico severo, onde os vasos das plantas irrigadas

apresentavam maior média, em relação aqueles em restrição hídrica, não sendo observadas diferenças entre os tratamentos em restrição hídrica (Figura 13a).

O teor relativo de água (TRA) respondeu de forma similar a umidade do solo, onde apenas em condições de déficit hídrico severo foram observadas diferenças significativas. Nesse momento, a maior média ocorreu no controle irrigado, com TRA superior a 80%. Ao se considerar os tratamentos sob restrição hídrica a menor média foi obtida no controle seco e *A. brasilense* foliar com TRA de 47,78% e 49,05%, respectivamente, ressalta-se que ambos não diferiram estatisticamente da aplicação foliar de AX+GA+CK que obteve TRA de 55,48%. Por sua vez, a inoculação das sementes com *A. brasilense* demonstrou maior valor de TRA, sendo 35,12% e 31,62% superior a controle seco e *A. brasilense* foliar, respectivamente (Figura 13b). Após a reidratação as plantas recuperaram seu status hídrico foliar não havendo diferenças significativas entre os tratamentos.



**Figura 13:** Umidade gravimétrica do solo (a) e teor relativo de água (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para n=5.

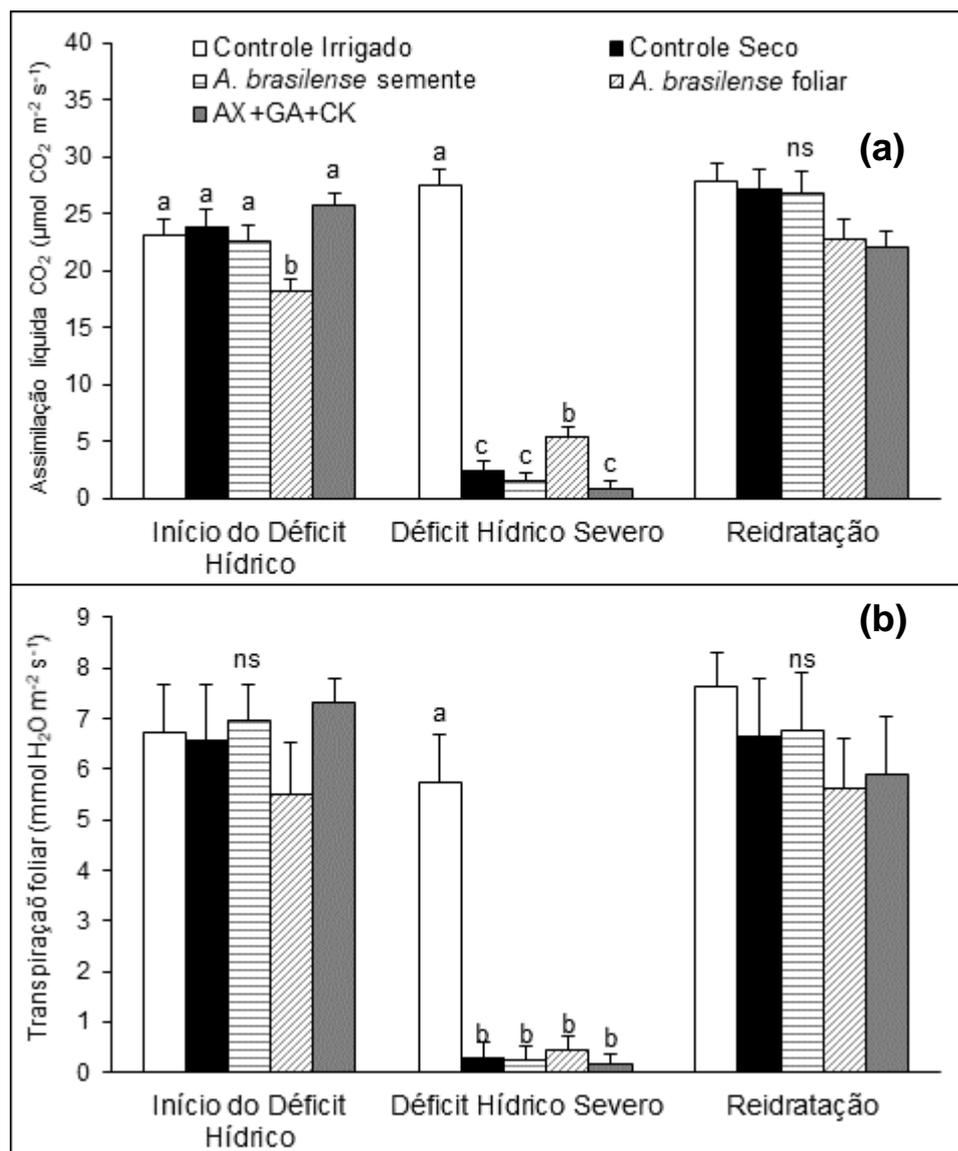
A ausência de diferenças para a umidade do solo e TRA nas plantas mantidas sobre restrição hídrica, evidencia que independente do tratamento aplicado a cultura da soja consome a fração de água livre disponível no solo de forma similar, em condições de deficiência hídrica. O TRA se mostra como uma importante característica em estudos envolvendo tolerância a deficiência hídrica, contudo isoladamente essa variável não representa com exatidão a eficiência dos tratamentos

em ensaios em condições de vasos, visto que os parâmetros fisiológicos como a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> não responder na mesma intensidade.

A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ('A'), explicou diferenças no início do déficit hídrico onde a aplicação foliar de *A. brasilense* apresentou a menor média, sendo essa inferior em 21,5% em relação ao controle irrigado. Na condição de déficit severo, a maior média foi encontrada no controle irrigado com valores de 27,57 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, os tratamentos em déficit hídrico apresentaram redução de 91,18%, 94,30%, 80,70% e 96,84% para controle seco, *A. brasilense* na semente, *A. brasilense* foliar e AX+GA+CK, respectivamente. Ao se considerar as plantas em restrição hídrica, os maiores valores de 'A' foram evidenciados na aplicação foliar de *A. brasilense* com 5,33 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> superando em 219,34%, 339,50% e 605,69% os tratamentos controle seco, *A. brasilense* na semente e AX+GA+CK, respectivamente (Figura 14a). Após a reidratação das plantas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, que recuperaram 'A' a valores próximos a condição inicial.

Corroborando com o presente, são evidenciados decréscimo no TRA e elevação de 'A', em estudos comparativos entre genótipos de soja tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico (HOSSAIN et al., 2014). A manutenção da atividade fisiológica, está ligada a 'gs' e em menor intensidade ao TRA, assim, as plantas que mantêm maior abertura estomática, apresentam maiores taxas fotossintéticas (FLEXAS et al., 2006a), a manutenção de maiores valores de 'gs' também resulta em maior atividade da Rubisco, devido não haver limitação do substrato (FLEXAS et al., 2006b).

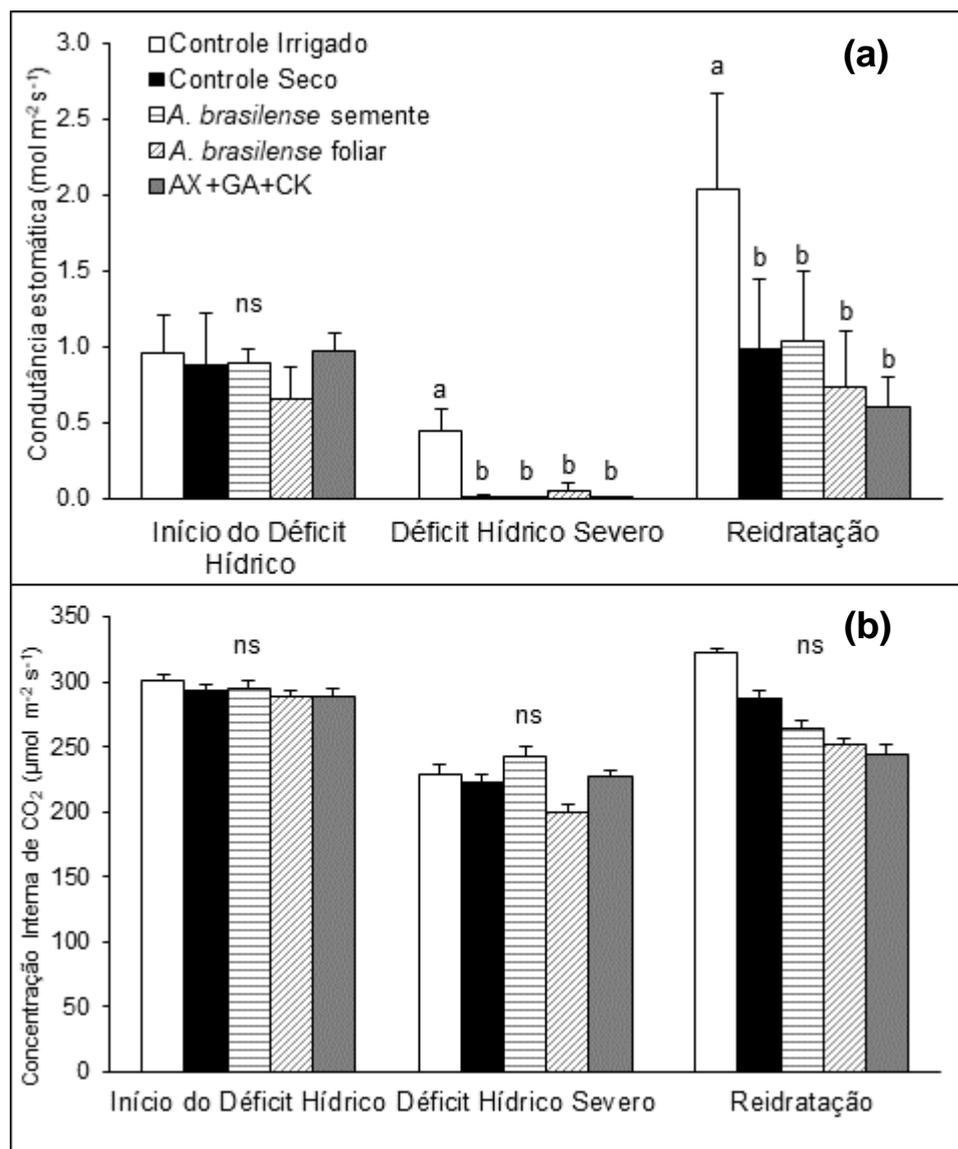
A taxa transpiratória ('E') e a condutância estomática ('gs') demonstraram comportamento semelhante entre si. Ambas as variáveis não apresentaram diferenças no início do déficit hídrico entre os tratamentos estudados. No momento do déficit severo maiores valores de 'E' e 'gs' foram obtidos nas plantas mantidas irrigadas (Figura 14a e 14b). Embora, sem diferenças significativas (p > 0,05), observa-se que a aplicação foliar de *A. brasilense* promoveu em valores absolutos maior 'E' e 'gs', esta condição possibilitou a obtenção da maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (Figura 13a).



**Figura 14:** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (a) e taxa de transpiração foliar (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para n=5.

Quando se observa a concentração interna de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos estudados, em nenhum dos estágios de déficit hídrico avaliados (Figura 15b).



**Figura 15:** Condutância estomática (a) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

ns: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para n=5.

A variação inicial encontrada para 'A' pode estar ligada a um efeito de sinalização provida pela aplicação de *A. brasilense*. Alguns trabalhos relatam que BPCV's exercem um efeito de sinalização (VURUKONDA et al., 2016), através da produção de compostos voláteis, devido as diferenças de potenciais que são gerados entre raiz e solo. Essa produção de compostos voláteis, resulta em sinais vegetais que induzem respostas fisiológicas, que reduzem os efeitos do déficit hídrico

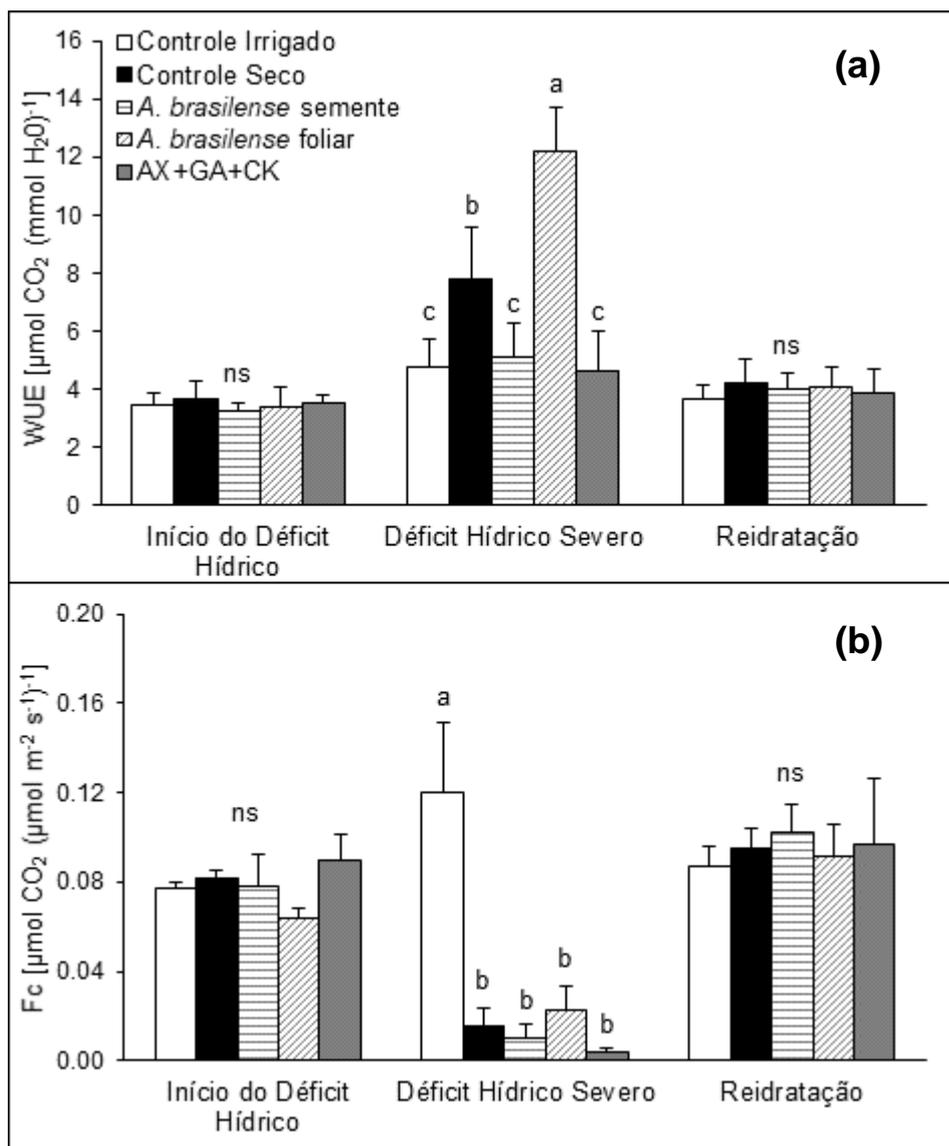
(HOLOPAINEN; GERSHENZON, 2010), entre esses sinalizadores destaca-se o ácido abscísico (ABA) e as auxinas. Esta condição ocorreu neste trabalho, onde após um dia da imposição do déficit hídrico (início do déficit hídrico), as plantas que receberam aplicação foliar de *A. brasilense* apresentam menores valores estatísticos de 'A' representando uma possível sinalização ao déficit hídrico.

Estudos com o desenvolvimento de *A. brasilense* em meio de cultura líquido, observaram presença de ácido abscísico (ABA) em uma concentração de 0,075  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (PERRIG et al., 2007). Em estudos com plantas de milho colonizadas com *A. brasilense* foram demonstrados redução nos níveis de estresse por deficiência hídrica, devido a produção de ABA pelas bactérias (COHEN et al., 2009), os mesmo relatam que os níveis de auxina também auxiliam tais respostas.

Nesse sentido destaca-se que a auxina é o principal hormônio sintetizado pela bactéria *A. brasilense*, sendo representado pelo ácido indol-ácetico (AIA). Trabalhos que estudaram a síntese de AIA em plantas com a inoculação com *A. brasilense* demonstraram essa condição (RADWAN; MOHAMED; REIS, 2004). Perrig et al., (2007), também citam que no meio de cultura onde a bactéria se desenvolve o AIA é o hormônio majoritário, alcançando concentração de até 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , ou seja, a aplicação foliar também poderia fornecer esse hormônio.

Resultados semelhantes ao presente são demonstrados em estudos com deficiência hídrica em plantas forrageiras com aplicação foliar no perfilhamento, demonstrou um efeito possível de sinalização, onde as plantas com *A. brasilense* tiveram fechamento dos seus estômatos com um dia de antecedência em relação ao controle, o que representou ganhos nas trocas gasosas quando o estresse hídrico antigo o nível severo (BULEGON et al., 2017a). Efeitos positivos sobre parâmetros fisiológicos, em plantas com inoculação de *A. brasilense* cultivadas sob deficiência hídrica são demonstrados em milho (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008; BANO et al., 2013), trigo (ARZANESH et al., 2011) e *Arabidopsis thaliana* (COHEN et al., 2015).

A eficiência no uso da água ('WUE') apresentou diferenças entre os tratamentos apenas quando as plantas se encontravam em deficiência hídrica severa, nesse momento a maior média foi obtida para a aplicação foliar de *A. brasilense* (Figura 16a).



**Figura 16:** Eficiência no uso da água (a) e eficiência instantânea de carboxilação (b) de plantas de soja em condições de déficit hídrico submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para  $n=5$ .

A eficiência instantânea de carboxilação ( $F_c$ ) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos no início do déficit hídrico e após a reidratação das plantas. No momento do déficit hídrico severo as plantas mantidas irrigadas apresentaram maior médias de  $F_c$ . Para as plantas mantidas em restrição hídrica não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 16b). Tal condição ocorre devido à redução de  $A$  nas plantas sob restrição hídrica onde

internamente a soja possuía substrato para a realização da fotossíntese (Figura 15b), mas a mesma estava limitada devido à restrição hídrica imposta.

Maiores valores de 'WUE' representam que a planta aproveitava melhor a água, possibilitando fixar mais CO<sub>2</sub> por unidade de água transpirada. A se eleva em condições de seca do solo, pois a planta passa a utilizar de forma mais eficiente a água contida nas células, devido ao fechamento estomático que limita as perdas de água por transpiração. Essa é uma adaptação fisiológica de rápida resposta, a fatores estressantes do ambiente. Nesse sentido, a 'WUE' é citada como parâmetro importante para classificar genótipos de soja como tolerantes ao déficit hídrico (HOSSAIN et al., 2014), sendo também utilizado para classificar genótipos tolerantes ao déficit hídrico em cevada (THAMEUR; LACHIHEB; FERCHICHI, 2012) e gramíneas forrageiras do gênero *Cynodon* spp. (ZHOU; LAMBRIDES; FUKAI, 2013). Em estudos realizados com *U. ruziziensis* foi demonstrado que a aplicação foliar de *A. brasilense* (300 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante padrão comercial) durante o perfilhamento da planta, elevou a 'WUE' em condições de déficit hídrico severo em casa de vegetação (BULEGON et al., 2017a).

Ao se considerar os resultados de trocas gasosas obtidos para a aplicação de regulador vegetal, visto o mesmo também conter na sua composição auxina, citocinina e giberelina, deveriam exercer efeitos semelhantes aos das BPCV. Contudo, tal condição não ocorreu nas trocas gasosas, promovendo médias semelhantes ao controle seco. Xia et al. (2015), em estudos com estresse salino, relatam que a mitigação dos efeitos estressantes por parte dos reguladores vegetais está ligada ao maior desenvolvimento vegetal, condição que reflete o ocorrido, visto nas plantas tratadas com regulador vegetal também verificado amenização das perdas em produção. Outra condição é que o principal hormônio relacionado a deficiência hídrica é o ABA (TARDIEU; PARENT; SIMONNEAU, 2010), além da elevação da concentração de etileno, que leva a queda da concentração de auxina, giberelina e citocinina em condições de deficiência hídrica (FAROOQ et al., 2016), desta forma, mesmo o fornecimento exógeno de reguladores vegetais, não foi suficiente para auxiliar o sistema fisiológico vegetal.

Os resultados obtidos após a reidratação as plantas evidenciam que essas recuperaram rapidamente sua condição inicial do ponto de vista fotossintético. Na reidratação é característico as plantas recuperarem rapidamente seu TRA, contudo alguns estudos demonstram um efeito residual do déficit hídrico que continua a limitar

a abertura estomática, condição observado no presente estudo para as plantas mantidas em restrição hídrica, devido aos compostos sintetizados para superar a ocorrência da falta de água.

A ocorrência da deficiência hídrica severa não influenciou as variáveis fluorescência mínima (Fo), e máxima (Fm), máxima eficiência quântica do fotossistema (Fv/Fm), eficiência máxima do PSII (Fv'/Fm'), entre os tratamentos avaliados seja mesmo para aquele mantido irrigado (Tabela 18). A ocorrência do déficit hídrico severo causou variações significativas ( $p \leq 0,05$ ) na eficiência quântica efetiva do PSII ( $\Phi$ PSII) e coeficiente de extinção fotoquímico (qP). Para essas variáveis a maior média foi observado para o controle irrigado, os demais tratamentos mantidos sob restrição hídrica não apresentaram variações significativas entre si. Os presentes resultados estão relacionados com a relação tempo e intensidade do estresse hídrico imposto, que possivelmente não foi suficiente para interferir no transporte eletrônico vegetal, corroborando com Chaves; Oliveira (2004b), que citam que quando a planta entra em condições estressantes a primeira variação ocorre em 'A' e 'gs', e a continuidade da condição leva a interferências no transporte eletrônico.

**Tabela 18:** Fluorescência da clorofila em folhas de soja em condições de déficit hídrico severo submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamentos	Fo	Fm	Fv/Fm	$\Phi$ PSII	Fv'/Fm'	qP
Controle Irrigado	144,50 $\pm$ 5,90	895,27 $\pm$ 13,52	0,840 $\pm$ 0,006	0,258 $\pm$ 0,01 a	0,552 $\pm$ 0,03	0,476 $\pm$ 0,03 a
Controle Seco	151,26 $\pm$ 5,25	901,01 $\pm$ 16,82	0,832 $\pm$ 0,004	0,116 $\pm$ 0,04 b	0,427 $\pm$ 0,01	0,272 $\pm$ 0,09 b
<i>A. brasilense</i> semente	149,66 $\pm$ 5,17	901,27 $\pm$ 14,72	0,834 $\pm$ 0,006	0,145 $\pm$ 0,07 b	0,451 $\pm$ 0,08	0,304 $\pm$ 0,09 b
<i>A. brasilense</i> foliar	152,70 $\pm$ 2,63	897,54 $\pm$ 19,13	0,830 $\pm$ 0,005	0,155 $\pm$ 0,03 b	0,473 $\pm$ 0,05	0,329 $\pm$ 0,05 b
AX+GA+CK	146,37 $\pm$ 4,85	899,86 $\pm$ 20,39	0,837 $\pm$ 0,004	0,138 $\pm$ 0,06 b	0,442 $\pm$ 0,06	0,302 $\pm$ 0,08 b
Valores de F calculado						
Tratamento	1,19 <sup>ns</sup>	0,046 <sup>ns</sup>	1,19 <sup>ns</sup>	4,66 <sup>**</sup>	2,77 <sup>ns</sup>	4,13 <sup>**</sup>
CV (%)	3,93	2,03	0,78	34,09	13,84	24,42

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.  $\pm$  indicam o erro padrão da média para n = 5. Letras semelhante minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade.

Como utilizou-se a 'A' e 'gs' como parâmetro para o nível de estresse a permanência da planta em condições estressantes não foram suficientes para interferir na fluorescência da clorofila, condição semelhante a obtida em soja cultivada sob

níveis de deficiência hídrica (CHAVARRIA et al., 2015). Para as variáveis  $\Phi$ PSII e qP, a redução nos valores evidenciam que a utilização fotoquímica da energia luminosa foi prejudicada apenas pela imposição da deficiência hídrica. Esses resultados são de acordo com os demonstrados em plantas de soja (OHASHI et al., 2006). Estudos envolvendo plantas  $C_3$  exemplificam reduções em  $\Phi$ PSII e qP com o avanço da deficiência hídrica (SHANGGUAN; SHAO; DYCKMANS, 2000; SHAHENSHAH; ISODA, 2010), relacionado a deficiência na dissipação do excesso luminoso pelos carotenoides durante a ocorrência da deficiência hídrica (MAGHSOUDI; EMAM; ASHRAF, 2015).

A incidência do déficit hídrico no florescimento resultou em diferenças significativas sobre as variáveis número de grãos por vagem e produção por planta ( $p \leq 0,05$ ) e não influenciou o número de vagens por planta e a massa de 100 grãos ( $p > 0,05$ ). Para o número de grãos por vagens a menor média ocorreu com a inoculação das sementes com *A. brasilense*, diferenciando apenas do controle irrigado e da aplicação foliar AX+GA+CK (Tabela 19).

**Tabela 19:** Componentes de produção e produtividade de soja em condições de déficit hídrico severo submetidas a diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

Tratamentos	Nº de vagens	Nº grãos vagem	M100	Produção
			g	(g planta <sup>-1</sup> )
Controle Irrigado	62,00 $\pm$ 5,25	2,74 $\pm$ 0,13 a	14,66 $\pm$ 1,31	20,84 $\pm$ 0,84 a
Controle Seco	52,93 $\pm$ 10,18	2,57 $\pm$ 0,12 ab	13,54 $\pm$ 2,66	14,93 $\pm$ 0,78 c
<i>A. brasilense</i> semente	57,56 $\pm$ 10,10	2,48 $\pm$ 0,21 b	13,68 $\pm$ 3,40	16,98 $\pm$ 1,42 bc
<i>A. brasilense</i> foliar	58,31 $\pm$ 7,08	2,66 $\pm$ 0,13 ab	14,32 $\pm$ 2,21	17,97 $\pm$ 0,40 b
AX+GA+CK	54,31 $\pm$ 8,09	2,72 $\pm$ 0,12 a	13,62 $\pm$ 0,88	17,79 $\pm$ 0,71 b
Valores de F calculado				
Tratamento	1,365 <sup>ns</sup>	3,77 <sup>**</sup>	2,41 <sup>ns</sup>	7,64 <sup>**</sup>
CV (%)	15,12	5,96	6,45	12,29

<sup>ns</sup> não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.  $\pm$  indicam o erro padrão da média para  $n = 5$ . Letras semelhante minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade.

Para a produção por planta a maior média foi observado para o controle irrigado, as médias intermediárias ocorreram nos tratamentos com aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK, enquanto a menor média deu-se no controle seco, a

inoculação das sementes com *A. brasilense* não diferenciou de nenhum dos tratamentos sob restrição hídrica. Ao se comparar os tratamentos sob restrição hídrica com o controle irrigado, foram obtidas redução da produção por planta de 28,36%, 18,52%, 13,77% e 14,63% para o controle seco, inoculação das sementes com *A. brasilense*, aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK, respectivamente (Tabela 19). Quando se compara, a aplicação foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK com o controle seco, esses o superaram em 20,36% e 19,15%, respectivamente, ou seja, a aplicação de foliar de *A. brasilense* e AX+GA+CK amenizou as perdas na produção das plantas.

Embora a aplicação de regulador vegetal não tenha influenciado pontualmente as trocas gasosas vegetais, o mesmo amenizou as perdas de produção provida pelo déficit hídrico. Esse efeito por parte da BPCV *A. brasilense* se dá devido aos fatores mencionados anteriormente, que levam a planta fechar seus estômatos de forma antecipada, mantendo taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> mais elevada na ocorrência da deficiência hídrica severa, evitando que a planta consuma reservas importantes para sua manutenção e não necessite abortar órgãos vegetais, principalmente folhas, tendo maior disponibilidades de fontes para a formação de grãos e posteriormente seu enchimento. A aplicação de *A. brasilense* também promove maior capacidade de translocação de fotoassimilados (DIDONET et al., 2000), o que pode explicar as menores perdas causados por esse tratamento.

Os estudos envolvendo reguladores vegetais aplicados via foliar, contudo sem a presença de deficiência hídrica, relatam incrementos na produtividade da cultura da soja, sendo essa condição relacionada principalmente aos seguintes fatores produtivos: maior número de nós o que aumenta o número de racemos e conseqüentemente maior número de flores e vagens (ALBRECHT et al., 2011). Nesse sentido são citados incrementos médios da aplicação de regulador vegetal via foliar de 23%, em relação a plantas testemunhas (BERTOLIN et al., 2010). Por sua vez, Moterle et al., (2008), inferiu que as condições ambientais adversas, são fundamentais para que os reguladores vegetais elevem sua eficácia, condição demonstrada no presente estudo.

Visto a produção por planta ser a variável agrônômica de maior interesse, foi determinado o coeficiente de correlação entre as variáveis avaliadas e produção. Nesse sentido foram verificados correlação positivas significativas para produção e

umidade do solo, 'A', 'gs', 'E', 'Fc',  $\Phi$ PSII, Fv'/Fm', qP e número de vagens por planta. Também se obteve correlação negativa significativa para Fm (Tabela 20).

**Tabela 20:** Correlação entre trocas gasosas, fluorescência da clorofila a no momento do déficit hídrico severo e componentes de produção com a produção de plantas de soja sob diferentes tratamentos com diferentes tratamentos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

		Valores de correlação de Pearson							
Variáveis	TRA	US	A	gs	E	WUE	Fc	Ci	Fo
Produção	0,776	0,838**	0,832**	0,846**	0,829**	-0,033	0,809**	0,015	-0,692

		Valores de correlação de Pearson						
Variáveis	Fm	Fv/Fm	$\Phi$ PSII	Fv'/Fm'	qP	NVP	NGV	P100
Produção	-0,887*	0,703	0,928*	0,924*	0,926*	0,879*	0,688	-0,121

\* e \*\* indicam significância de 5% e 10% respectivamente da correlação de Pearson pelo teste t.

As correlações obtidas evidenciam que o uso da aplicação foliar de *A. brasilense* eleva significativamente um parâmetro que se correlaciona diretamente com a manutenção da produção por planta, a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>. Nesse sentido são evidenciados que a manutenção de maior atividade fisiológica durante o déficit hídrico eleva os componentes de produção da soja (CATUCHI et al., 2011). As correlações obtidas exemplificam que as respostas obtidas pela inoculação das sementes com *A. brasilense* e aplicação foliar de regulador vegetal está relacionado ao TRA e a fatores não avaliados nesse estudo, corroborando com Fioreze et al., (2011) que citam que o TRA é fundamental na manutenção da produção por planta.

Embora a 'WUE' seja uma variável de suma importância, não se correlacionou significativamente com a produção por planta, essa condição pode ser explicada pois a soja naturalmente apresenta uma eficiência do uso da água baixa (YU; WANG; ZHUANG, 2004). A ausência de correlação significativa também pode ser explicada pois apenas a aplicação foliar de *A. brasilense* resultou em elevação na 'WUE' entre os tratamentos estudados.

Diante do exposto, considerando a fisiologia da soja o uso da aplicação de *A. brasilense* via foliar auxilia a planta de soja a tolerar o déficit hídrico minimizando a redução da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> o que eleva a eficiência na utilização da água disponível, durante a ocorrência da deficiência hídrica, amenizando as perdas em produção por planta. Por sua vez o uso da inoculação das sementes de soja com

*A. brasilense* e a aplicação foliar do regulador vegetal AX+GA+CK embora não influenciaram na fisiologia da soja no momento das avaliações, também reduzem as perdas em produção por planta.

#### 4. CONCLUSÃO

A aplicação foliar de *A. brasilense* interfere nas trocas gasosas da cultura da soja em florescimento durante a ocorrência de deficiência hídrica severa, enquanto a inoculação das sementes com *A. brasilense* e a aplicação de reguladores vegetais não interferem nas trocas gasosas.

O uso da bactéria promotora de crescimento vegetal *A. brasilense* via foliar e a aplicação de reguladores vegetais mitigam as perdas em produção causadas pela ocorrência da deficiência hídrica no período de florescimento da soja.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, A. P.; RICCI, T. T. Manejo de biorregulador nos componentes de produção e desempenho das plantas de soja. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 6, p. 865–876, 2011.

ARZANESH, M. H.; ALIKHANI, H. A.; KHAVAZI, K.; RAHIMIAN, H. A.; MIRANSARI, M. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 197–205, 2011.

BANO, Q.; ILYAS, N.; BANO, A.; ZAFAR, N.; AKRAM, A.; HASSAN, F. U. L. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 13–20, 2013.

BERTOLIN, D. C.; SÁ, M. E.; ARF, O.; FURLANI JUNIOR, E.; COLOMBO, A. S.; CARVALHO, F. L. B. M. de. Aumento da produtividade de soja com a aplicação de bioestimulantes. **Bragantia**, v. 69, n. 2, p. 339–347, 2010.

BULEGON, L. G.; BATTISTUS, A. G.; GUIMARÃES, V. F.; INAKAKI, A. M.; OFFEMANN, L. C.; SOUZA, A. K. P.; OLIVEIRA, P. S. R. Physiological responses of *Urochloa ruziziensis* inoculated with *Azospirillum brasilense* to severe drought and rehydration conditions. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 10, p. 1283–

1289, 2017.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, set. 2016.

CATUCHI, T. A.; VÍTOLO, H. F.; BERTOLLI, S. C.; SOUZA, G. M. Tolerance to water deficiency between two soybean cultivars : transgenic versus conventional. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 373–378, 2011.

CHAVARRIA, G.; DURIGON, M. R.; KLEIN, V. A.; KLEBER, H. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387–1393, 2015.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2365–2384, 2004.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 97–103, 2008.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PONTIN, M.; BERLI, F. J.; MORENO, D.; BOCCANLANDRO, H.; TRAVAGLIA, C. N.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v. 153, n. 1, p. 79–90, 2015.

COHEN, A. C.; TRAVAGLIA, C. N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, v. 87, n. 5, p. 455–462, 2009.

COLEBROOK, E. H.; THOMAS, S. G.; PHILLIPS, A. L.; HEDDEN, P. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 1, p. 67–75, 2014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, 2017.

DIDONET, A. D.; LIMA, O. D. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 401–411, 2000.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant – rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Planta, Cell & Environment**, v. 32, n. 3, p. 1682–1694, 2009.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; BARTHAKUR, S.; BAROOWA, B.; BHARADWAJ, N.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, K. H. M. Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 2, p. 1–22, 2016.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 29, n. 1, p. 185–212, 2009.

FIOREZE, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 58, n. 3, p. 342–349, 2011.

FIOREZE, S. L.; RODRIGUES, J. D.; CARNEIRO, J. P. C.; SILVA, A. D. A.; LIMA, M. B. Fisiologia e produção da soja tratada com cinetina e cálcio sob deficit hídrico e sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 11, p. 1432–1439, 2013.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALME, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 1, p. 343–352, 2006a.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C<sub>3</sub> plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 1, p. 269–279, 2004.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; HENKLE, M.; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, S.; MEDRANO, H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO<sub>2</sub> concentration. **New Phytologist**, v. 172, n. 1, p. 73–82, 2006b.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; ALMEIDA, D. M.; FREITAS, P. S. L.; REZENDE, R. Estratégias de manejo de déficit hídrico na irrigação da cultura da soja. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 10, n. 3, p. 305–315, 2016.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; JOSE, J. V.; FRAGA Jr, E. F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de**

**Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 6, p. 349–359, 2015.

HOLOPAINEN, J. K.; GERSHENZON, J. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 176–184, 2010.

HOSSAIN, M. M.; LIU, X.; QI, X.; LAM, H.-M.; ZHANG, J. Differences between soybean genotypes in physiological response to sequential soil drying and rewetting. **The Crop Journal**, v. 15, n. 5, p. 1–15, 2014.

KOKUBUN, M.; SHIMADA, S.; TAKAHASHI, M. Flower abortion caused by preanthesis water deficit is not attributed to impairment of pollen in soybean. **Crop Science**, v. 41, n. 5, p. 1517–1521, 2001.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459–1465, 2007.

MAGHSOUDI, K.; EMAM, Y.; ASHRAF, M. Influence of foliar application of silicon on chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and growth in water-stressed wheat cultivars differing in drought tolerance. **Turkish Journal of Botany**, v. 39, n. 4, p. 625–634, 2015.

MOTERLE, L. M.; DOS SANTOS, R. F.; E BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; BARBOSA, M. C. Efeito da aplicação de biorregulador no desempenho agrônômico e produtividade da soja. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 30, n. 5 p. 701–709, 2008.

NASCIMENTO, S. P.; BASTOS, E. A.; ARAÚJO, E. C. E.; FREIRE FILHO, F. R.; SILVA, E. M. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 853–860, 2011.

OHASHI, Y.; NAKAYAMA, N.; SANEOKA, H.; FUJITA, K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 1, p. 138–141, 2006.

PERES, L. E. P.; ZSÖGÖN, A.; KERBAUY, G. B. Abscisic acid and auxin accumulation in *Catsetum fimbriatum* roots growing in vitro with high sucrose and mannitol content. **Biologia Plantarum**, v. 53, n. 3, p. 560–564, 2009.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for

inoculant formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 1143–1150, 2007.

RADWAN, T. E. S. E. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 987–994, out. 2004.

SADEGHIPOUR, O.; ABBASI, S. Soybean response to drought and seed inoculation. **World Applied Sciences Journal**, v. 17, n. 1, p. 55–60, 2012.

SANTOS, H. G.; ALMEIDA, J. A.; OLIVEIRA, J. B.; LUMBRERAS, J. F.; ANJOS, L. H. C.; COELHO, M. R.; JACONIME, P. K. titos; CUNHA, T. J. F.; OLIVERIA, V. Á. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília/Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; NEUBAUER, C. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: **Ecophysiology of Photosynthesis**. Springer Study Edition, v. 100. Springer, Berlin, 1994. p. 49–70.

SHAHENSHAH; ISODA, A. Effects of water stress on leaf temperature and chlorophyll fluorescence parameters in cotton and peanut. **Plant Production Science**, v. 13, n. 3, p. 269–278, 2010.

SHANGGUAN, Z.; SHAO, M.; DYCKMANS, J. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. **Journal of Plant Physiology**, v. 156, n. 1, p. 46–51, 2000.

SLAVIK, B. **Methods of studying plant water relations**. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1974.

SOUZA, P. J. O. P.; ORTEGA-FARIAS, S.; ROCHA, E. J. P.; SOUSA, A. M. L.; SOUZA, E. B. Consumo hídrico da soja no nordeste paraense. **Irriga**, v. Edição Esp, p. 218–231, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artemed, 2013.

TARDIEU, F.; PARENT, B.; SIMONNEAU, T. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? **Plant, cell & environment**, v. 33, n. 4, p. 636–47, 2010.

THAMEUR, A.; LACHIHEB, B.; FERCHICHI, A. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. **Journal of Environmental Management**, v. 113, n. 3, p. 495–500, 2012.

USDA. **World agricultural supply and demand estimates**. Washington D. C.: United States Department of Agriculture, 2017.

VIEIRA, F. C. F.; SANTOS JUNIOR, C. D.; NOGUEIRA, A. P. O.; DIAS, A. C. C.; HAMAWAKI, O. T.; BONETTI, A. M. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por peg 6000. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 3, p. 543–552, 2013.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WERNER, T.; NEHNEVAJOVA, E.; KÖLLMER, I.; NOVÁK, O.; STRNAD, M.; KRÄMER, U.; SCHMÜLLING, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and Tobacco. **The Plant Cell**, v. 22, n. 12, p. 1–17, 2010.

XIA, X.; ZHOU, Y.; SHI, K.; ZHOU, J.; FOYER, C. H.; YU, J. Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 10, p. 2839–2856, 2015.

YU, G. R.; WANG, Q.-F.; ZHUANG, J. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. **Journal of plant physiology**, v. 161, n. 3, p. 303–318, 2004.

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K.; CHEN, L. Temperature dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO<sub>2</sub> assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. **Photosynthetica**, v. 39, n. 3, p. 383–388, 2001.

ZHOU, Y.; LAMBRIDES, C. J.; FUKAI, S. Drought resistance of bermudagrass (*Cynodon* spp.) ecotypes collected from different climatic zones. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, n. 1, p. 22–29, 2013.

**CAPÍTULO VI**

*Azospirillum brasilense* **OU REGULADORES VEGETAIS NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE SOJA SUBMETIDA A UM CURTO E SEVERO DÉFICIT HÍDRICO NO FLORESCIMENTO**

*Azospirillum brasilense* **OR PLANTS REGULATORS IN THE ENZYMATIC ACTIVITY OF SOYBEANS SUBMITTED TO A SHORT AND SEVERE WATER DEFICIT IN FLOWERING**

**Resumo:** objetivou-se avaliar a atividade antioxidante e os teores de pigmentos foliares de soja em resposta à inoculação via semente ou foliar de *Azospirillum brasilense* ou aplicação foliar de reguladores vegetais, quando induzido um déficit hídrico rápido e severo no florescimento da cultura. Para isso utilizou-se cinco tratamentos: controle irrigado (sem restrição hídrica); controle seco, inoculação das sementes com *A. brasilense*, aplicação foliar de *A. brasilense*, aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK) sob restrição hídrica. A imposição do déficit hídrico ocorreu no florescimento pleno, com as avaliações realizadas no início do déficit hídrico, em déficit hídrico severo, em déficit hídrico severo ao meio-dia e na reidratação das plantas, determinando-se o conteúdo de malondialdeído (MDA), teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), proteínas solúveis, atividade da Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidases (POD) e Catalase (CAT) e o conteúdo de clorofila total e carotenoides. O uso de *A. brasilense* ou de reguladores vegetais via foliar demonstram potencial em mitigar os efeitos do déficit hídrico, pois reduziram os níveis de MDA ao meio-dia, além de elevar os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que atuam como sinalizadores de incidência de estresse e elevou a atividade da POD ao amanhecer em déficit hídrico severo. A aplicação foliar de *A. brasilense* também protegeu os pigmentos fotossintéticos da degradação provida pela ocorrência de deficiência hídrica. Portanto, o uso de *A. brasilense* e reguladores vegetais, atuam amenizando os efeitos causados pelo déficit hídrico em plantas de soja através de estímulos no sistema antioxidativo prevenindo a peroxidação de lipídeos.

**Palavras chaves:** Superóxido Dismutase. Peroxidase. Catalase. Clorofila. Carotenoides.

**Abstract:** objective was to evaluate the antioxidant activity and soybean leaf pigments in response to foliar spray or seed inoculation of *Azospirillum brasilense* or foliar spray application of plant regulators, when induced a fast and severe drought in the flowering period of the crop. For this were use five treatments: irrigated control (without drought; drought control; seed inoculation with *A. brasilense*; foliar spray application *A. brasilense*; foliar spray application with auxin, gibberellin and cytokinin (AX+GA+CK) with drought. The drought was imposed in full flowering, with the evaluations made at the beginning of the drought, severe drought, severe drought at noon and rehydration of the plants, determining the content malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide content (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), soluble proteins, activity Superoxide Dismutase (SOD), Peroxidases

(POD) and Catalase (CAT) and total chlorophyll content and carotenoids. The use of *A. brasilense* or foliar spray plant regulators demonstrates the potential to mitigate the effects of drought, since they reduce the levels of MDA at noon, as well as raise the levels of  $H_2O_2$ , which act as a sign of stress incidence and the POD activity at dawn in severe drought. The foliar spray application of *A. brasilense* also protected the photosynthetic pigments from the degradation provided by the occurrence of drought. Therefore, the use of *A. brasilense* and plant regulators, act to soften the effects caused by the drought in soybean plants through stimuli in the antioxidative system preventing the lipid peroxidation.

**Keywords:** Superoxide Dismutase. Peroxidase. Catalase. Chlorophyll. Carotenoids.

## 1. INTRODUÇÃO

A ocorrência da deficiência hídrica desencadeia nas plantas uma série de respostas fisiológicas, bioquímicas e estruturais para minimizar os efeitos negativos causados (CHAVES; OLIVEIRA, 2004b). Durante a deficiência hídrica tem-se dentre outras, o aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) devido à sobra de oxigênio molecular ( $O_2$ ) na respiração celular, principalmente nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomas (BARBOSA et al., 2014). Para superar os danos causados pelas ERO's os vegetais possuem uma série de enzimas que compõem o sistema antioxidativo, com função de remover ERO's a níveis celulares evitando a peroxidação de lipídeos e proteínas, que ocasionam a morte celular.

No sistema antioxidativo destacam-se as enzimas Superóxido dismutase (SOD), Peroxidases (POD) e Catalases (CAT). A SOD é a primeira linha de defesa contra ERO's e tem como função dismutar o radical aniônico superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular ( $H_2O_2 + O_2$ ), sendo que o  $H_2O_2$  posteriormente será catabolizado pela ação da POD e CAT em  $H_2O + O_2$  (SHARMA et al., 2012; BARBOSA et al., 2014).

Como mencionado, em condições de deficiência hídrica tem-se aumento na produção de ERO's, assim, incremento na atividade das enzimas ligadas ao sistema antioxidativo são reportados como indicadores de tolerância à deficiência hídrica na cultura da soja (ZAKIKHANI et al., 2012; ZOZ et al., 2013). Nesse sentido, busca-se, a curto prazo, tecnologias que atuem elevando a atividade dessas enzimas, para que a remoção de ERO's seja maximizada e conseqüentemente os danos celulares reduzidos.

Dentre essas, destacam-se as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) e a aplicação exógena de reguladores vegetais. Quando se considera as BPCV, tem-se destaque os estudos com a espécie *Azospirillum brasilense*, sendo que essa eleva a atividade enzimática pela produção de compostos voláteis sinalizadores da deficiência hídrica (VURUKONDA et al., 2016), estimulam à produção de hormônios vegetais (KAUSHAL; WANI, 2016), ou ainda induzem a produção de enzimas removedoras de ERO's (NGUMBI; KLOEPPER, 2016).

Em soja a inoculação das sementes ou a aplicação foliar de *A. brasilense* elevam a atividade enzimática (ZAKIKHANI et al., 2012). Por sua vez, os reguladores vegetais possuem ação análoga as BPCV, sendo reportados na literatura, para as cultura da soja e do milho, incrementos na atividade enzimática em plantas tratadas com essas substâncias, sob condições de deficiência hídrica (VASCONCELOS et al., 2009).

Neste contexto, objetivou-se avaliar a atividade antioxidante e os teores de pigmentos foliares da soja em resposta à inoculação das sementes, aplicação foliar com *Azospirillum brasilense* ou aplicação foliar de reguladores vegetais, quando induzido um déficit hídrico rápido e severo, no florescimento da cultura.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, com teto em forma de arco, coberto com filme de polietileno difusor de baixa densidade, com 150  $\mu\text{m}$  espessura e proteção anti-UV, com laterais protegida de tela branca 40% sombreamento. Durante a condução, a casa de vegetação apresentou temperatura média de 28,8 °C, umidade relativa média de 71,84% e temperatura do ponto de orvalho média de 20,8 °C, no período de 12 de novembro de 2016 a 10 de março 2017.

Foram utilizados vasos de polietileno com capacidade nominal de 12 litros, que receberam como substrato solo proveniente do horizonte A de LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico. O solo apresentava as seguintes características químicas: saturação de bases de 62,68%, pH de 5,67, teor de matéria orgânica de 5,47 g  $\text{dm}^{-3}$ , teor de P de 2,07 mg  $\text{dm}^{-3}$  e K de 0,18  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ , teor de argila, silte e areia de 578, 348,58 e 3,42 g  $\text{kg}^{-1}$ , respectivamente, não sendo necessária a correção, com calcário. Realizou-se fertilização com 150 mg  $\text{dm}^3$  de  $\text{K}_2\text{O}$  (cloreto de potássio) e 300 mg  $\text{dm}^3$

de  $P_2O_5$  (superfosfato simples). A população natural de bactérias diazotróficas, determinada pelo método do número mais provável, era de  $7,5 \times 10^4$  UFC  $g^{-1}$  solo.

Foi adotado um delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram representados por: controle irrigado (sem restrição hídrica); controle seco (com restrição hídrica), inoculação das sementes com *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de *A. brasilense* com restrição hídrica, aplicação foliar de auxina, giberelina e citocinina (AX+GA+CK), com restrição hídrica.

Para a realização do experimento foram utilizadas sementes de soja cultivar NA 5909<sup>®</sup> com hábito de crescimento indeterminado, porte médio e ciclo variando de 100 a 120 dias, sendo conduzidas duas plantas por vasos. Todos os tratamentos receberam inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* via solo, através da pulverização nas covas onde foram depositadas as sementes, com 600 mL  $ha^{-1}$  de inoculante líquido (padrão comercial), contendo as estirpes semia 5079 e 5080 na concentração de  $5 \times 10^9$  UFC  $mL^{-1}$ , com volume de calda de 200 L  $ha^{-1}$ .

A inoculação das sementes com *A. brasilense*, estirpes AbV5 + AbV6, foi realizada na dose de 100 mL de inoculante (padrão comercial  $2 \times 10^8$  UFC  $mL^{-1}$ ) para cada 50 kg sementes, as quais foram homogeneizadas e mantidas à sombra por cerca de 30 minutos, procedendo-se então a semeadura.

Quando as plantas atingiram o estágio fenológico  $V_6$ , correspondendo a 45 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a aplicação foliar dos tratamentos. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado com  $CO_2$ , dotado de uma barra de 3 m de largura com seis pontas tipo leque (Magno 11002 ADGA), pressão de trabalho de 2,2 bar, vazão de 200 L  $ha^{-1}$  e altura de aplicação de 0,5 m acima do ápice das plantas.

Para o tratamento com reguladores vegetais foi utilizada uma mistura entre auxina, giberelina e citocinina na dose de 0,025 g  $ha^{-1}$  de Ácido 4-indol-3-ilbutírico, 0,025 g  $ha^{-1}$  de Ácido giberélico e 0,045 g  $ha^{-1}$  de Cinetina, pelo uso do produto comercial Stimulate<sup>®</sup>. Para a aplicação foliar de *A. brasilense* foi utilizado uma dose de 500 mL  $ha^{-1}$  de inoculante comercial a base de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 e AbV6 com concentração de  $2 \times 10^8$  UFC  $mL^{-1}$ .

As plantas foram constantemente monitoradas, para garantir adequado desenvolvimento, não sendo realizada aplicação de nutrientes minerais em cobertura durante a condução do ensaio. Para a manutenção do *status* hídrico vegetal

satisfatório, os vasos foram irrigados diariamente, até o momento da imposição do déficit hídrico.

Quando as plantas alcançaram o estágio fenológico R<sub>2</sub>, florescimento pleno, foi realizada a imposição do déficit hídrico. Para isso todos os vasos foram previamente irrigados até alcançarem a capacidade de campo. Os tratamentos destinados ao déficit hídrico tiveram sua irrigação suspensa sendo mantidos em restrição hídrica até o momento em que as plantas, em pelo menos um tratamento, alcançou taxa fotossintética líquida próxima a zero, sendo determinado através do monitoramento diário com auxílio do equipamento Infrared Gas Analyser (IRGA), determinando-se também a condutância estomática. A partir desse momento as plantas foram reidratadas, sendo os vasos irrigados até alcançarem a capacidade de campo. A reidratação foi avaliada até o momento que as plantas recuperaram sua taxa fotossintética próxima à condição inicial. No tratamento sem restrição hídrica os vasos foram irrigados periodicamente com suprimento adequado de água.

A classificação dos estádios do déficit hídrico em plantas hidratadas (antes do déficit hídrico e após a reidratação) e em déficit hídrico severo, foi estabelecida seguindo o critério da condutância estomática ( $gs'$ ) para plantas C<sub>3</sub>, onde plantas hidratadas apresentam  $gs \geq 0,2 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e plantas em déficit hídrico severo apresentam  $gs' \leq 0,1 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (dados não mostrados) (FLEXAS et al., 2004).

Amostra frescas de folhas de soja foram coletadas próximo ao amanhecer no início do déficit hídrico, em déficit hídrico severo, e na reidratação, sendo realizada também a coleta de segmentos foliares em condições de déficit hídrico severo ao meio-dia as quais foram armazenadas em temperatura de - 80 °C, e utilizadas de acordo com as metodologias descritas a seguir, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.

Para determinação da peroxidação lipídica e o concentração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), utilizou-se 0,25 g de amostra fresca, a qual foi macerada em 4 mL de solução tampão de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% (p/v), após o extrato foi centrifugado a 12.000 g durante 15 minutos a 4 °C, tendo o sobrenadante coletado.

Para a peroxidação lipídica, adotou-se o método do acúmulo de aldeído malônico (BUEGE; AUST, 1978). Para isso utilizou 0,25 mL do sobrenadante, acrescido de 3,0 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) em TCA 20% (p/v). Em seguida as amostras foram incubadas a 95 °C em banho maria por 30 minutos. A paralisação da reação ocorreu através de banho de gelo. As leituras foram

realizadas em absorvância de 535 nm e 600 nm, isolando-se interferentes, determinando o complexado de cor avermelhada de baixa massa molar como o malondialdeído (MDA), sendo utilizando o coeficiente de extinção molar de 156 mM cm<sup>-1</sup>, e a concentração final expressa em µmol de MDA g<sup>-1</sup> massa fresca<sup>-1</sup>.

Para a concentração de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), foi utilizado o método baseado no iodeto de potássio (ALEXIEVA et al., 2001). Para isso utilizou-se 0,05 mL do preparo enzimático, acrescido de 0,950 mL de solução tampão fosfato 10 mM (pH 7,0) e 2 mL de solução de iodeto de potássio 1 M. As amostras foram mantidas em câmara escura por 1 hora e posteriormente realizada a 390 nm. A concentração final de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi calculada com base em curva de calibração de 0 a 100 µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, e a concentração final expressa em µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> massa fresca<sup>-1</sup>

Para determinação do teor de proteína solúvel e atividade das enzimas antioxidativas utilizou-se 0,5 gramas da amostra fresca, a qual foi macerada em solução tampão fosfato de potássio 50 mM acrescentando-se polivinil pirrolidona (PVP) e submetido à centrifugação a 20.000 g durante 20 min para homogeneização. A determinação do teor de proteínas solúveis foi realizada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), em leitura em espectrofotômetro a 595 nm.

A determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), foi realizada pela capacidade da enzima em inibir a redução do NBT (nitroblue tetrazolium) por radicais superóxido, com leitura a 560 nm (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). A reação foi iniciada pela iluminação de uma lâmpada de 15 W, e iluminado o meio durante 15 minutos, a 25 °C. Uma unidade de atividade SOD (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para causar a inibição de 50% da taxa de fotorredução (NBT), e os resultados expressos em U SOD mg de proteína.

A atividade da peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) foi determinada a 30°C, através do método do espectrofotométrico direto, baseado na oxidação do guaiacol (HAMMERSCHMIDT; NUCKLES; KUĆ, 1982), com leituras a 470 nm durante dois minutos, com intervalo de leitura de 15 segundos. A produção de tetraguaicol foi determinado pelo coeficiente de extinção molar de 26,6 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, e expresso em µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min g<sup>-1</sup> prot<sup>-1</sup>.

Para a determinação da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) utilizou-se o monitoramento do decréscimo da absorvância, determinando a variação da absorção do peróxido de hidrogênio (HAVIR; MCHALE, 1987), com leitura a 240 nm, por 80

segundos. O consumo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi calculado utilizando o coeficiente de extinção molar de 39,4 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, expressa em μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min g<sup>-1</sup> prot<sup>-1</sup>.

Para a determinação dos pigmentos foliares coletou-se segmentos foliares com massa fresca de 0,5 g, coletados previamente ao início do déficit hídrico, na ocorrência da deficiência hídrica severa e na reidratação das plantas foram acondicionados em frascos recobertos com papel alumínio para evitar a entrada de luz e receberam 20 mL de solução de acetona 80% e acondicionados sob refrigeração e ausência de luz por 72 horas. Em seguida procedeu-se a leitura em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, utilizando-se os seguintes comprimentos de onda: clorofila *a* 665 nm, clorofila *b* 649 nm, e posteriormente foi realizada a soma de ambas para determinação do conteúdo de clorofila total. O conteúdo de carotenoides totais foi determinado à 480 nm (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001), sendo ambos expressos em mg g<sup>-1</sup> de matéria fresca<sup>-1</sup>.

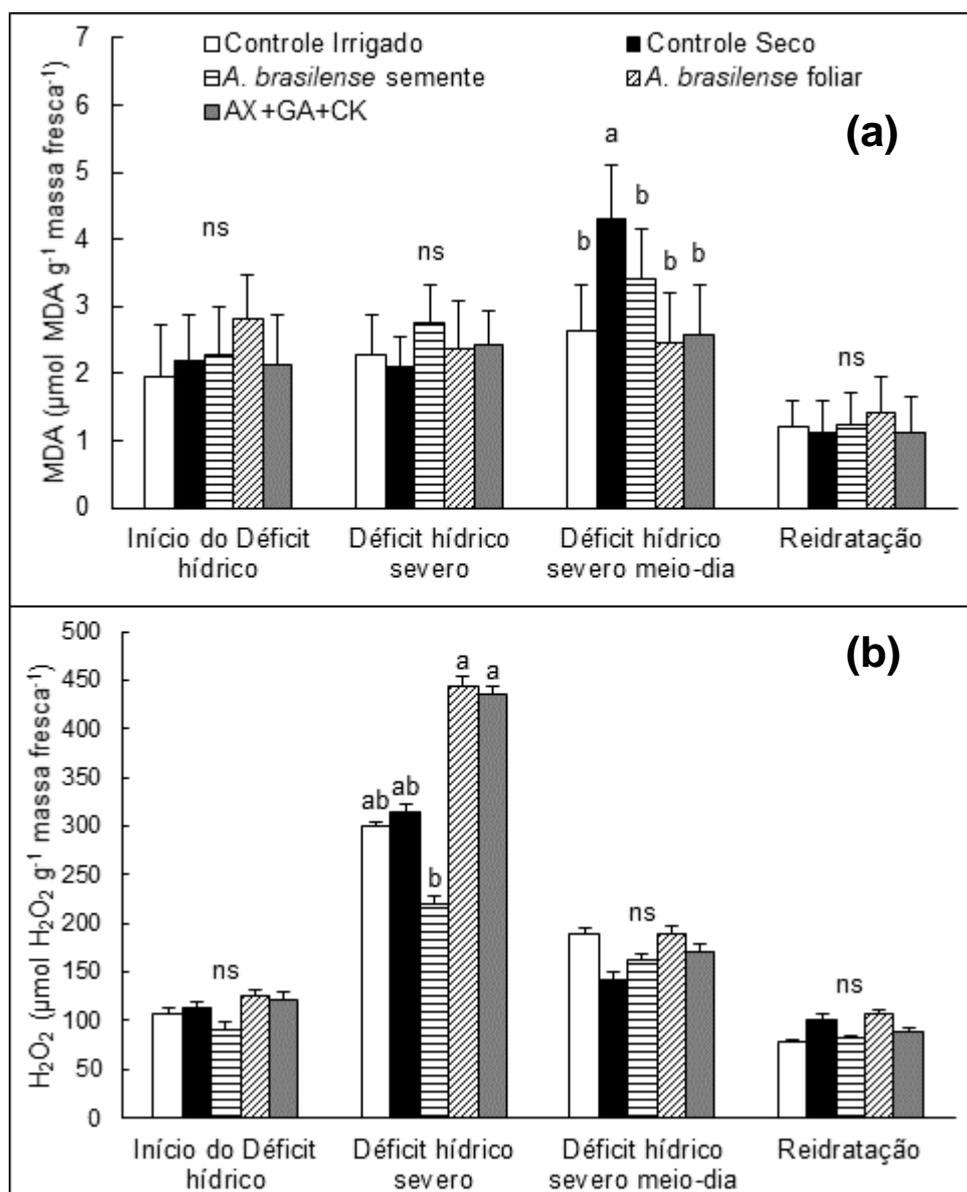
Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativo tiveram suas médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do software Sisvar.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se observar os resultados obtidos para a peroxidação lipídica, via malondialdeído (MDA) constatou-se ausência de diferença para as avaliações realizadas no início do déficit hídrico, em déficit hídrico severo e na reidratação. Em déficit hídrico severo ao meio-dia, observou maior concentração de MDA no tratamento controle seco, superando em 64,1% o controle irrigado. Quando se observa os demais tratamentos em deficiência hídrica ambos não diferiram do controle irrigado, sendo que a inoculação de *A. brasilense* nas sementes, *A. brasilense* via foliar e AX+GA+CK via foliar expressaram uma redução do MDA em 26,1%, 75,5% e 67,3%, comparado ao controle seco, respectivamente (Figura 17a).

Os maiores níveis de MDA obtidos ao meio-dia remetem a associação do estresse hídrico ao alto déficit de pressão de vapor. No controle seco as plantas apresentaram maiores níveis de dano celular em relação aos demais tratamentos estudados, evidenciando a capacidade de mitigação dos efeitos do déficit hídrico por parte dos tratamentos com *A. brasilense* e reguladores vegetais. Nesse sentido, estudos envolvendo cultivares de soja tolerantes e suscetíveis à seca demonstram que

as cultivares suscetíveis apresentam maiores danos celulares, representado por elevação do MDA (MESQUITA, 2010; SILVA, 2017).



**Figura 17:** Acúmulo de malondialdeído - MDA (a) e conteúdo de peróxido de hidrogênio –  $\text{H}_2\text{O}_2$  (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

ns: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para  $n=5$ .

Quando se considera a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nos tecidos foliares, foi constatado ausência de diferença significativa para a avaliação no início do déficit hídrico, em déficit hídrico severo ao meio-dia e na reidratação das plantas. Na

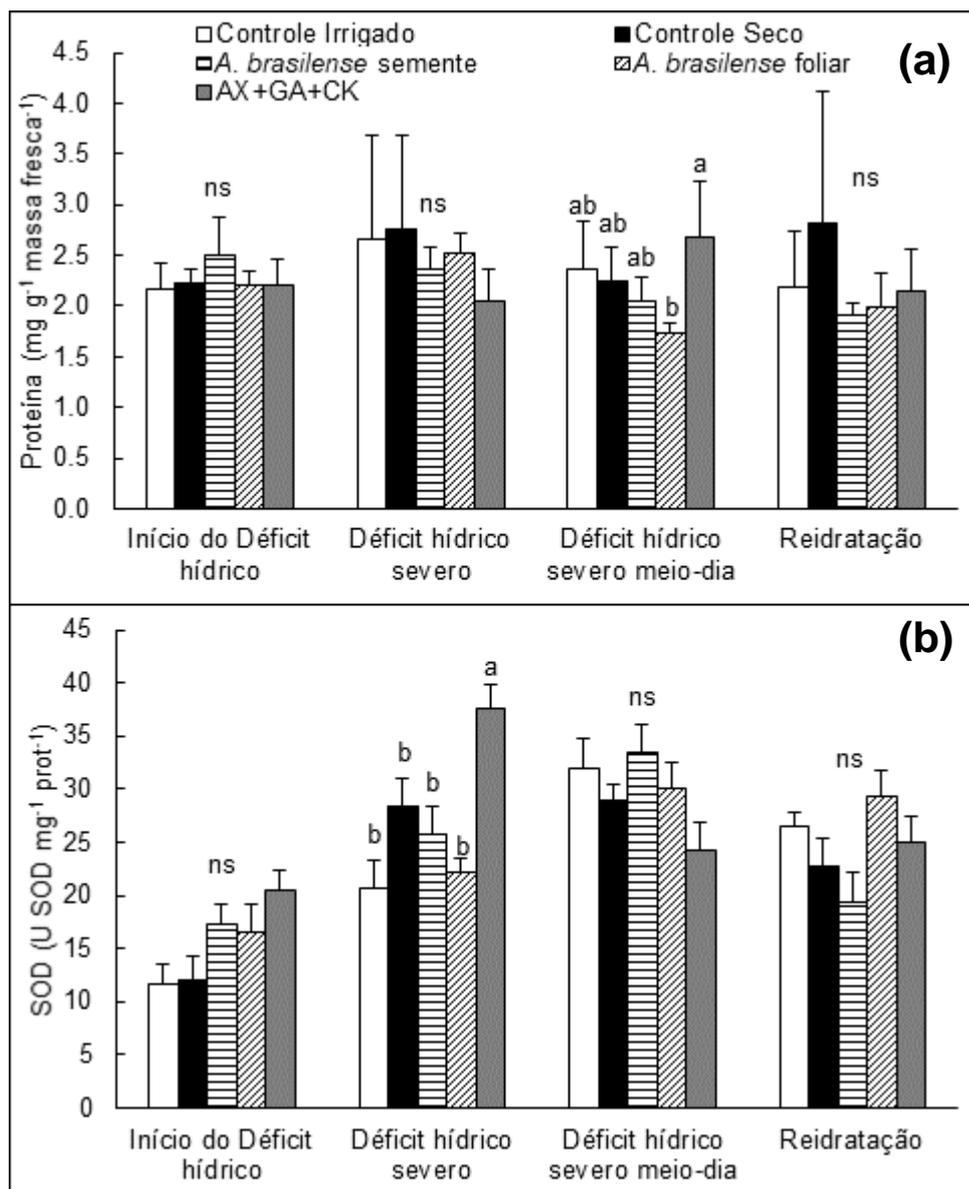
avaliação realizada em déficit hídrico severo, observou-se diferenças significativas sendo a menor média obtida na inoculação de *A. brasilense* via semente em relação a inoculação de *A. brasilense* e AX+GA+CK via foliar. Os tratamentos, controle irrigado e controle seco não diferenciaram de nenhum dos tratamentos estudados (Figura 17b).

O acúmulo de  $H_2O_2$  pode remeter a condições benéficas ou indesejáveis: podem atuar como sinalizadores da ocorrência de estresses ou causar danos celulares, respectivamente (MARTINDALE; HOLBROOK, 2002; BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014; CHOUDHURY et al., 2017). Contudo, não se tem informações sobre qual o nível de  $H_2O_2$  é prejudicial à planta e qual nível atua como sinalizador (HANCOCK; DESIKAN; NEILL, 2001). Nesse sentido, Choudhury et al. (2017), citam que enquanto a planta possuir energia metabólica suficiente para remover o  $H_2O_2$ , essa molécula atua como sinalizadora e quando a energia metabólica passa a ser limitada, o  $H_2O_2$  passa a ter ação prejudicial sobre as células.

Assim, como os danos celulares nos tratamentos com *A. brasilense* via foliar e AX+GA+CK, expressos em MDA (Figura 17a) em déficit severo ao meio dia foram semelhantes ao do controle irrigado, a elevação do  $H_2O_2$  sugere uma sinalização, possivelmente ligado com a abertura e fechamento estomático. Terzi et al. (2014), citam que a elevação do nível de  $H_2O_2$  ocasionou fechamento estomático no milho, resultando em maior aproveitamento da água disponível no tecido vegetal. Deve-se considerar ainda que para AX+GA+CK o incremento de  $H_2O_2$  pode-se relacionar com atividade da SOD (Figura 18b).

O teor de proteínas solúveis não apresentou variações significativas no início do déficit hídrico, em déficit hídrico severo e na reidratação das plantas em função dos tratamentos (Figura 18a). Em déficit hídrico severo ao meio-dia, observou-se que as plantas que receberam aplicação foliar de *A. brasilense* apresentaram média inferior em 35,1%, em relação à aplicação de AX+GA+CK.

Autores estudando deficiência hídrica no feijoeiro citam que o aumento da concentração de proteínas solúveis está relacionado com o ajuste osmótico evitando perdas excessivas de água (SANTOS; LIMA; MORGADO, 2010). No tratamento AX+GA+CK o aumento da concentração de proteínas solúveis pode estar relacionado à minimização da perda de água em condições de déficit hídrico. Essa resposta pode ser atribuída ao regulador vegetal cinetina, sendo relatado que o mesmo promove a elevação do potencial osmótico nas células (MEREWITZ et al., 2012).



**Figura 18:** Conteúdo de proteínas solúveis (a) e atividade da Superóxido Dismutase – SOD (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para n=5.

A queda nos teores de proteínas solúveis nas folhas observados ao meio-dia em relação às determinações realizadas ao amanhecer, exceto para AX+GA+CK, deve-se provavelmente à ocorrência da oxidação das proteínas (GILL; TUTEJA, 2010; SLAMA et al., 2015). A oxidação das proteínas é uma das primeiras respostas do aparato bioquímico, devido a produção de ERO's, correspondendo cerca de 68% do

total de moléculas peroxidadas por ERO's (RINALDUCCI; MURGIANO; ZOLLA, 2008).

A atividade da Superóxido Dismutase (SOD), não foi alterada no início da deficiência hídrica em função dos tratamentos impostos. Em déficit hídrico severo, verificou-se maior atividade da SOD para as plantas que receberam aplicação foliar de AX+GA+CK, sendo 44,9%, 24,2%, 31,6% e 40,9% superior em relação às plantas controle irrigado, controle seco, *A. brasilense* na semente e *A. brasilense* via foliar, respectivamente (Figura 18b).

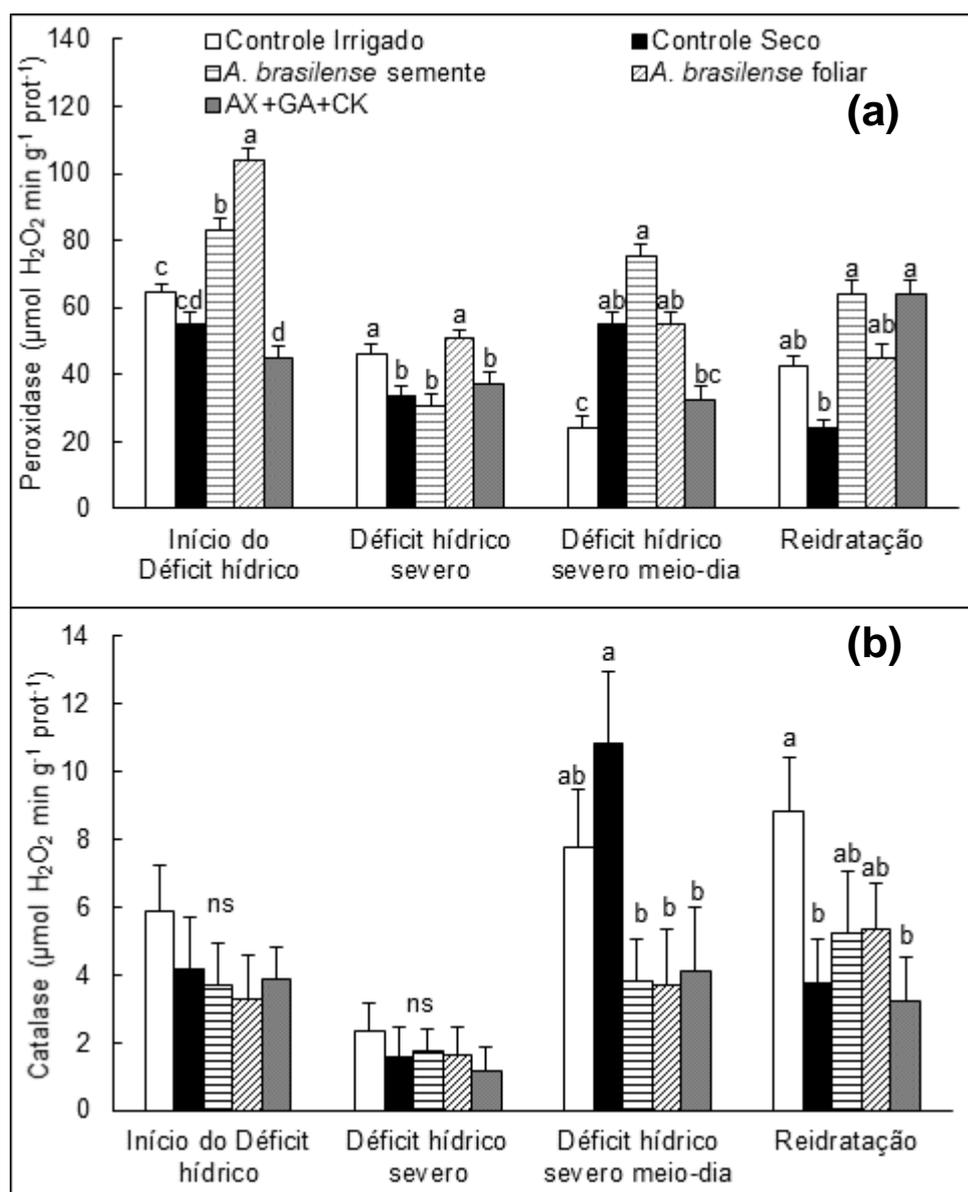
Embora não tenha apresentado diferença significativa, em deficiência hídrica severa ao meio-dia todos os tratamentos elevaram a atividade da SOD, exceção de AX+GA+CK, que teve sua atividade reduzida em relação a avaliação ao amanhecer. Na reidratação, os tratamentos não se diferenciaram sugerindo uma estabilização da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) (Figura 18b).

Variações na atividade da SOD são amplamente relatadas em estudos que envolvem deficiência hídrica em diferentes espécies vegetais (SUN et al., 2013; AIMAR et al., 2014; LI et al., 2015a). Essa condição ocorre, pois, a SOD é a enzima responsável por dismutar ERO's de maior nível de dano celular como  $O_2^{\cdot-}$  à  $H_2O_2 + O_2$ , que posteriormente será catalisado pela POD e CAT. O aumento da atividade da SOD com aplicação de AX+GA+CK em deficiência severa pode estar relacionado à recuperação do estresse sofrido durante o período diurno em função da alta demanda evapotranspiratória e deficiência hídrica no solo

Os resultados obtidos no presente estudo, corroboram com os demonstrados em soja em condição de deficiência hídrica onde a aplicação de reguladores vegetais incrementa a atividade da SOD (VASCONCELOS et al., 2009). É relatado que incrementos no nível de auxina auxiliam as plantas a tolerar a deficiência hídrica (KHAN et al., 2007; SHI et al., 2014). Entretanto, esperava-se comportamento similar nos tratamentos com *A. brasilense*, visto essa fornecer auxinas às plantas, seja por estímulo a síntese (RADWAN; MOHAMED; REIS, 2005) ou via meio de cultura (PERRIG et al., 2007). Todavia, segundo Iqbal et al. (2011) as giberelinas têm maior ação sob o sistema antioxidante vegetal. Em soja submetida a estresse abiótico por toxidez de níquel, foi verificado que a aplicação de giberelina estimulou a atividade antioxidante vegetal, auxiliando a planta a tolerar a condição estressante (SAEIDI-SAR et al., 2007).

Para a atividade da Peroxidase (POD), foi evidenciado diferenças significativas para todas as avaliações realizadas. No início do déficit hídrico, maior atividade da POD deu-se com aplicação foliar de *A. brasilense*, seguida da inoculação das sementes com *A. brasilense* que superaram o controle irrigado em 38% e 22,4%, respectivamente. Neste momento, a menor atividade da POD foi obtida na aplicação foliar de AX+GA+CK com redução de 30,2% em relação ao controle irrigado. Em deficiência hídrica severa, maiores médias foram observadas no controle irrigado e na aplicação foliar de *A. brasilense* (Figura 3a).

No déficit hídrico severo ao meio-dia, menor atividade da POD ocorreu no controle irrigado que não diferenciou da AX+GA+CK, os demais tratamentos sob restrição hídrica apresentaram médias superiores. A aplicação foliar de AX+GA+CK, demonstrou redução de 41%, 57% e 41% comparado ao controle seco, inoculação das sementes com *A. brasilense* e aplicação foliar de *A. brasilense*, respectivamente (Figura 19a). Na reidratação nenhum dos tratamentos em restrição hídrica diferenciou-se do controle irrigado. Todavia, o controle seco apresentou-se 43,5% inferior ao controle irrigado e 62,2% inferior a aplicação de AX+GA+CK e inoculação das sementes com *A. brasilense*.



**Figura 19:** Atividade da Peroxidase -POD (a) e atividade da Catalase – CAT (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para  $n=5$ .

A atividade da Catalase (CAT) no início do déficit hídrico e no déficit hídrico severo não apresentavam variações significativas entre os tratamentos estudados. Na deficiência hídrica severa ao meio-dia, ambos os controles: seco e irrigado, elevaram a atividade da CAT, enquanto, o uso de *A. brasilense* ou regulador vegetal, demonstraram elevação em menor proporção. Nesse momento, o controle seco

superou em 65%, 66% e 61,9% a inoculação das sementes com *A. brasilense*, aplicação foliar de *A. brasilense* e aplicação de AX+GA+CK, respectivamente (Figura 19b). Na reidratação, o controle irrigado continuou apresentando maior média, contudo semelhante à ambos os tratamentos que receberam *A. brasilense*. Dentre os tratamentos que foram mantidos em restrição hídrica não observou-se diferenças estatísticas, sendo as variações apenas absolutas, onde o controle seco e aplicação de AX+GA+CK apresentaram menores atividades da CAT.

A maior atividade da POD em relação a CAT em todos os dias de avaliação deve-se a geração espontânea de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que não depende exclusivamente da atividade da SOD (BARBOSA et al., 2014). A maior atividade da POD em soja indica maior tolerância a deficiência hídrica, sendo citado que cultivares com menor atividade da POD em deficiência hídrica severa, correspondem a plantas com menor resistência a deficiência hídrica (ZOZ et al., 2013).

A maior atividade da CAT obtida na deficiência ao meio-dia trata-se de uma condição natural da planta, a CAT atua de forma mais eficiente que a POD na remoção de ERO's, além de atuar a níveis de peroxissomos, onde a peroxidação lipídica é mais danosa (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). A elevação da CAT no controle irrigado é de difícil explicação, podendo representar que plantas de soja hidratadas necessitam utilizar a CAT de forma mais eficiente para remover ERO's geradas durante o dia devido ao elevado déficit de pressão de vapor, remetendo a menor peroxidação lipídica (Figura 17a). Os resultados por parte do uso de *A. brasilense* durante a reidratação confirmam a condição observada na POD, onde o uso de BPCV trazem resultados positivos para a cultura da soja submetida a deficiência hídrica. O presente resultado corrobora o obtido em soja com tratamentos semelhantes onde o uso de *A. brasilense* elevava a CAT (ZAKIKHANI et al., 2012).

Vários trabalhos envolvendo BPCV relatam incrementos no sistema enzimático de remoção de ERO's em plantas quando cultivado em condições de deficiência hídrica (RODRIGEZ-SALAZAR et al., 2009; BANO et al., 2013; COHEN et al., 2015). Vurukonda et al. (2016), em sua revisão relata que o incremento da atividade das enzimas antioxidativas representa tolerância a deficiência hídrica, sendo essa condição ligada a compostos voláteis que sinalizam a ocorrência do estresse hídrico. Kaushal e Wani (2016), também relatam maior capacidade de ação do sistema antioxidativo quando as plantas são tratadas com BPCV, sendo que os mesmos atribuem essa condição aos hormônios vegetais que essas bactérias produzem e/ou

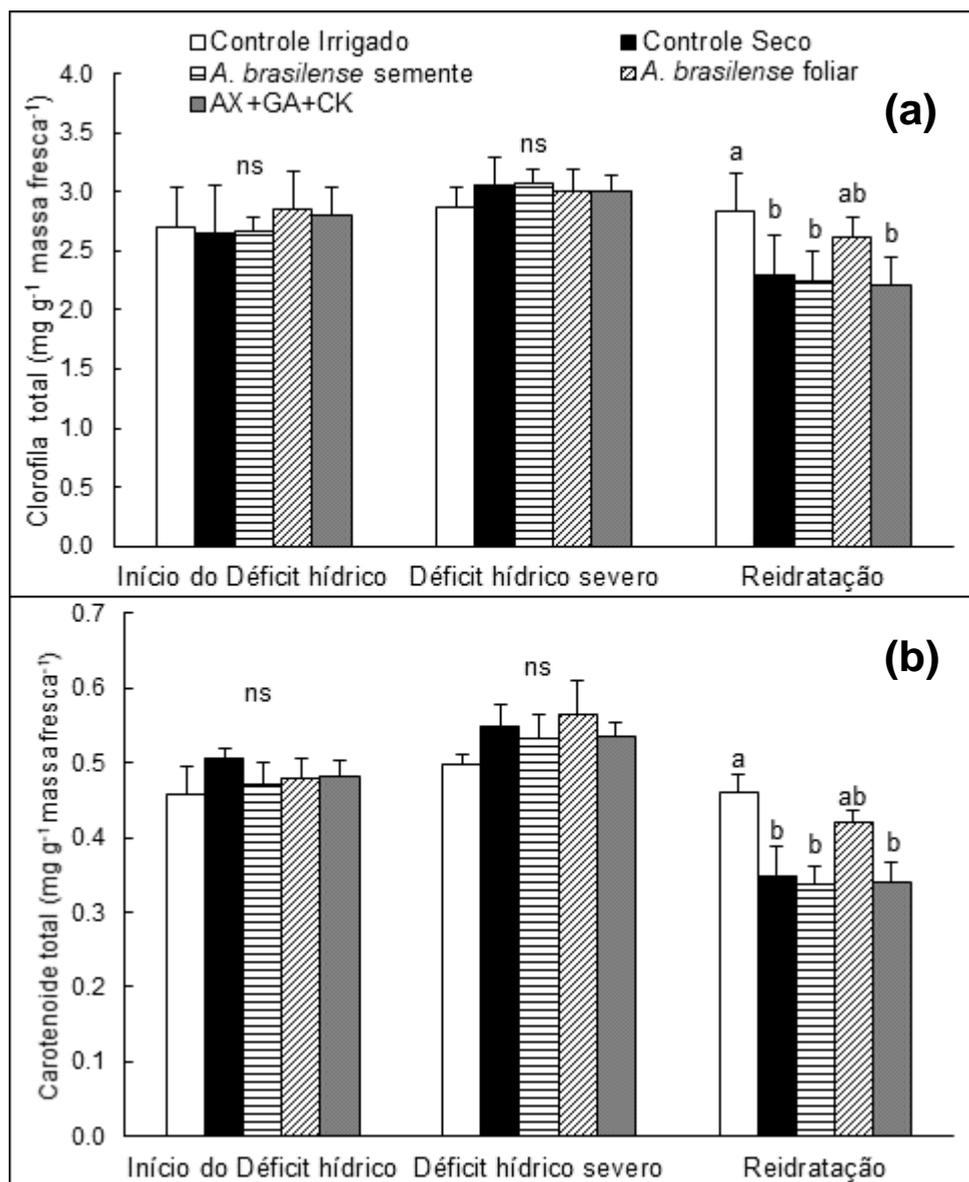
estimulam nas plantas. Por sua vez, Ngumbi e Kloepper (2016), citam que essa condição ocorre pela maior produção de enzimas removedoras de ERO's, mas que vários fatores ainda devem ser elucidados para o melhor entendimento dos estímulos no sistema antioxidativo.

Assim, pode-se inferir que a aplicação de *A. brasilense* via foliar ou via semente, bem como a aplicação de regulador vegetal auxiliam na tolerância da deficiência hídrica seja durante sua ocorrência com destaque para o uso da BPCV ou na recuperação das plantas no momento da reidratação.

Ao se observar os pigmentos fotossintéticos clorofila total e carotenoides totais, ambos apresentaram comportamento semelhante. Para as avaliações realizadas no início do déficit hídrico e no déficit hídrico severo não foram observadas diferenças entre os tratamentos para o conteúdo de clorofila total (Figura 20a) e o conteúdo de carotenoides totais (Figura 20b).

Quando se analisou o teor de pigmentos na reidratação, em ambos os parâmetros avaliados a maior média foi obtida no controle irrigado, superando os tratamentos mantidos em restrição hídrica, com exceção da aplicação foliar de *A. brasilense*, sendo que o controle irrigado apresentou conteúdo de clorofila total de 26,1% e de carotenoides total de 34,25% superior à média entre os tratamentos sob deficiência hídrica. Para os tratamentos mantidos em deficiência hídrica não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos estudados.

A degradação de pigmentos fotossintéticos em plantas sobre condição de deficiência hídrica ocorre pela produção de ERO's associado a foto-inibição, somado a redução da divisão celular e inibição da biossíntese de novas moléculas (STREIT et al., 2005; ANJUM et al., 2015). Nesse sentido, genótipos com maior tolerância a deficiência hídrica apresentam menor degradação das clorofila (WERNER et al., 2010; JIN et al., 2015). Estudos envolvendo cultivares de cana-de-açúcar classificaram aqueles com menor degradação dos pigmentos fotossintéticos clorofila e carotenoides, após ocorrência da deficiência hídrica, com maior tolerância ao estresse hídrico (SILVA et al., 2014).



**Figura 20:** Conteúdo clorofila total (a) e de carotenoides total (b) em folhas de soja, submetidas ao déficit hídrico rápido e severo no florescimento com aplicação de bactérias promotoras de crescimento vegetal ou regulador vegetal, Marechal Cândido Rondon, 2016.

<sup>ns</sup>: não significativo; \*\* médias seguidas das mesmas letras minúsculas indicam ausência de diferença significativa entre os tratamentos. Barras verticais indicam o erro padrão da média para n=5.

Os resultados obtidos no presente estudo em condições de estresse hídrico, se assemelham com os demonstrado em soja cultivada sob níveis de potencial água no solo (CHAVARRIA et al., 2015). A menor degradação de clorofila total no momento da reidratação obtida na aplicação foliar de *A. brasilense* pode ser associada aos efeitos do *A. brasilense* nas moléculas de clorofilas, sendo conhecido e destacado três efeitos diretos nas clorofilas: estímulos na produção de moléculas de clorofilas em plantas

(BASHAN et al., 2006), degradação retardada das moléculas de clorofilas pelo efeito “stay green” (QUADROS et al., 2014) , além da proteção de degradação dos pigmentos ligada a redução da síntese de etileno (GLICK, 2014).

A elevação do teor de carotenoides é benéfica para a planta, pois, auxilia na manutenção das clorofilas sequestrando oxigênio singlet ( $O_2$ ), além de atuar na dissipação do excesso de energia luminosa, que associados a deficiência hídrica elevam a degradação de clorofila (GILL; TUTEJA, 2010). Outra condição, para os maiores valores obtidos de clorofilas pode estar ligada ao aumento da atividade enzimática reduzindo os efeitos da peroxidação das moléculas, devido à POD atuar de forma mais efetiva nos cloroplastos (HUSEYNOVA, 2012).

Em estudos próximo ao presente, com *Urochloa ruziziensis* foi evidenciado que a aplicação foliar de *A. brasilense* incrementou os níveis de clorofila *a* e *b* em condições de deficiência hídrica (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016), sendo que os autores atribuíram essa resposta ao aumento no teor de carotenoides, fato esse que também ocorreu no presente estudo. Jin et al. (2015), relatam que a deficiência hídrica inibe a síntese de clorofila, bem como em deficiência severa a mesma foi degradada. Os mesmos autores concluíram que plantas com maior teor de clorofila na reidratação, remete a plantas com maior capacidade de recuperação do aparato fotossintético.

Embora, os efeitos do *A. brasilense* ou dos reguladores vegetais não foram demonstrados claramente em relação a atividade enzimática, fica evidenciado sua ação na mitigação de danos celulares (Figura 17a), efeito de sinalização por parte da produção de  $H_2O_2$  (Figura 17b), bem como a proteção de degradação de clorofila e carotenoides (Figura 20a e 20b), ambos ligados a atividade do sistema enzimático. As plantas tratadas com *A. brasilense* ou regulador vegetal promoveram menores perdas em produção final, quando comparado ao controle irrigado (dados não mostrados), sendo observado perdas de 27,1% para o controle seco, enquanto a inoculação das sementes com *A. brasilense*, aplicação foliar de *A. brasilense* e aplicação foliar de AX+GA+CK apresentaram perdas de 18,5%, 13,77% e 14,63%, respectivamente, comparado ao controle irrigado, ou seja, todos os tratamentos amenizaram os efeitos da deficiência hídrica reduzindo a peroxidação lipídica através de sinalizações e estímulos ao sistema antioxidativo, com maior destaque para a aplicação foliar de *A. brasilense* e a mistura de reguladores vegetais auxina, giberelina e citocinina.

O uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal aplicada via foliar ou de reguladores vegetais apresentam potencial em amenizar na planta de soja os efeitos negativos causados pelas espécies reativas de oxigênio em consequência de um déficit hídrico rápido e severo no florescimento. Contudo, novos estudos devem ser realizados para evidenciar claramente a rota metabólica que esses tratamentos atuam.

#### 4. CONCLUSÃO

O uso de *A. brasilense* ou reguladores vegetais via foliar reduzem os efeitos oxidativos proveniente da incidência de déficit hídrico em plantas de soja, minimizando a peroxidação de lipídeos.

O uso da inoculação foliar de *A. brasilense* auxilia na manutenção dos pigmentos fotossintéticos em folhas de soja após a ocorrência da deficiência hídrica.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIMAR, D.; CALAFAT, M.; ANDRADE, A. M.; CARASSAY, L.; BOUTEAU, F.; ABDALA, G.; MOLAS, M. L. Drought effects on the early development stages of *Panicum virgatum* L.: Cultivar differences. **Biomass and Bioenergy**, v. 66, n. 7, p. 49–59, 2014.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001.
- ANJUM, N. A.; SOFO, A.; SCOPA, A.; ROYCHOUDHURY, A.; GILL, S. S.; IQBAL, M.; LUKATKIN, A. S.; PEREIRA, E.; DUARTE, A. C.; AHMAD, I. Lipids and proteins - major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 6, p. 4099–4121, 2015.
- BANO, Q.; ILYAS, N.; BANO, A.; ZAFAR, N.; AKRAM, A.; HASSAN, F. U. L. Effect of Azospirillum inoculation on maize (*Zea mays* L.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 13–20, 2013.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 453–460, 2014.

- BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, n. 4, p. 279–285, 2006.
- BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 5, p. 1229–1240, 2014.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, maio 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. In: FLESICHER, S.; PACKER, L. (Ed.). **Methods in Enzymology**. 1. ed. New York: Academic Press, 1978. 52p. 302–310.
- BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.
- CHAVARRIA, G.; DURIGON, M. R.; KLEIN, V. A.; KLEBER, H. Restrição fotossintética de plantas de soja sob variação de disponibilidade hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1387–1393, 2015.
- CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2365–2384, 2004.
- CHOUDHURY, F. K.; RIVERO, R. M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. **The Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 856–867, 2017.
- COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PONTIN, M.; BERLI, F. J.; MORENO, D.; BOCCANLANDRO, H.; TRAVAGLIA, C. N.; PICCOLI, P. N. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v. 153, n. 1, p. 79–90, 2015.
- FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C<sub>3</sub> plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 1, p. 269–279, 2004.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2014.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73–82, 1982.

HANCOCK, J. T.; DESIKAN, R.; NEILL, S. J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. **Biochemical Society Transactions**, v. 29, n. 2, p. 345–349, 2001.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–5, 1987.

HUSEYNOVA, I. M. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. **Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics**, v. 1817, n. 8, p. 1516–1523, 2012.

IQBAL, N.; NAZAR, R.; KHAN, M. I. R.; MASOOD, A.; KHAN, N. A. Role of gibberellins in regulation of source- sink relations under optimal and limiting environmental conditions. **Current Science**, v. 100, n. 7, p. 998–1007, 2011.

JIN, R.; SHI, H.; HAN, C.; ZHONG, B.; WANG, Q.; CHAN, Z. Physiological changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) after progressive drought stress and rehydration. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 215–221, 2015.

KAUSHAL, M.; WANI, S. P. Rhizobacterial-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 68–78, 2016.

KHAN, N. A.; SINGH, S.; NAZAR, R.; LONE, P. M. The Source-Sink Relationship in Mustard. **Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 10–18, 2007.

LI, C.; LI, C. Y.; ZHANG, R. Q.; LIANG, W.; KANG, X. L.; JIA, Y.; LIAO, Y. C. Effects of drought on the morphological and physicochemical characteristics of starch granules in different elite wheat varieties. **Journal of Cereal Science**, v. 66, n. 11, p. 66–73, 2015.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Hoboken, NJ, USA, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

MARTINDALE, J. L.; HOLBROOK, N. J. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival. **Journal of Cellular Physiology**, v. 192, n. 1, p. 1–15, 2002.

MEREWITZ, E. B.; DU, H.; YU, W.; LIU, Y.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 3, p. 1315–1328, 2012.

MESQUITA, R. O. **Caracterização fisiológica e análise proteômica diferencial de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico**. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, 2010.

NGUMBI, E.; KLOEPPER, J. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. **Applied Soil Ecology**, v. 105, n. 9, p. 109–125, 2016.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 1143–50, 2007.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; OLIVEIRA CAMARGO, F. A. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209–218, 2014.

RADWAN, T. E. S. E. I. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 997–1004, 2005.

RINALDUCCI, S.; MURGIANO, L.; ZOLLA, L. Redox proteomics: Basic principles and future perspectives for the detection of protein oxidation in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 14, p. 3781–3801, 2008.

RODRIGEZ-SALAZAR, J.; SUÁREZ, R.; CABELLERO-MELLADO, J.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. **Microbiological Letters**, v. 296, n. 1, p. 52–59, 2009.

SAEIDI-SAR, S.; KHAVARI-NEJAD, R. A.; FAHIMI, H.; GHORBANLI, M.; MAJD, A. Interactive effects of gibberellin A<sub>3</sub> and ascorbic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Glycine max* seedlings under nickel stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 54, n. 1, p. 74–79, 2007.

SANTOS, C. F.; LIMA, G. P. P.; MORGADO, L. B. Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia**, v. 33, n. 1, p. 34–44, 2010.

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

SHI, H.; CHEN, L.; YE, T.; LIU, X.; DING, K.; CHAN, Z. Modulation of auxin content in *Arabidopsis* confers improved drought stress resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 82, n. 9, p. 209–217, 2014.

SILVA, C. A. **Alterações fisiológicas e morfoanatômicas induzidas pelo déficit hídrico em duas cultivares de soja**. 44 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, 2017.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice Spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience journal**, v. 30, n. 1, p. 173–181, 2014.

SLAMA, I.; M'RABET, R.; KSOURI, R.; TALBI, O.; DEBEZ, A.; ABDELLEY, C. Water deficit stress applied only or combined with salinity affects physiological parameters and antioxidant capacity in *Sesuvium portulacastrum*. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 213, n. 1, p. 69–76, 2015.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As

Clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005.

SUN, J.; GU, J.; ZENG, J.; HAN, S.; SONG, A.; CHEN, F.; FANG, W.; JIANG, J.; CHEN, S. Changes in leaf morphology, antioxidant activity and photosynthesis capacity in two different drought-tolerant cultivars of chrysanthemum during and after water stress. **Scientia Horticulturae**, v. 161, n. 9, p. 249–258, 2013.

TERZI, R.; KADIOGLU, A.; KALAYCIOGLU, E.; SAGLAM, A. Hydrogen peroxide pretreatment induces osmotic stress tolerance by influencing osmolyte and abscisic acid levels in maize leaves. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 559–565, 2014.

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

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13–24, 2016.

WERNER, T.; NEHNEVAJOVA, E.; KÖLLMER, I.; NOVÁK, O.; STRNAD, M.; KRÄMER, U.; SCHMÜLLING, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in Arabidopsis and Tobacco. **The Plant Cell**, v. 22, n. 12, p. 1–17, 2010.

ZAKIKHANI, H.; ARDAKANI, M. R.; REJALI, F.; GHOLAMHOSEINI, M.; JOGHAN, A. K.; DOLATABADIAN, A. Influence of diazotrophic bacteria on antioxidant enzymes and some biochemical characteristics of soybean subjected to water stress. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, n. 11, p. 1828–1835, 2012.

ZOZ, T.; STEINER, F.; GUIMARÃES, V. F.; CASTAGNARA, D. D.; MEINERZ, C. C.; FEY, R. Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. **Bioscience journal**, v. 29, n. Supplement 1, p. 1664–1671, 2013.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de herbicidas foi uma condição que garantiu o avanço da agricultura e atualmente se mostra como um fator de fundamental importância dentro dos sistemas produtivos, devido a possibilidade de controle das plantas daninhas em diferentes fases vegetais, de forma rápida e com maior rendimento operacional. Todavia, os herbicidas, por atuarem em rotas fisiológicas e bioquímicas essenciais para crescimento e desenvolvimento vegetal, podem, mesmo quando seletivos, causar injúrias as culturas de interesse, devido à intoxicação das plantas.

Os herbicidas inibidores da biossíntese dos carotenoides são importantes em culturas como o milho, pois controlam plantas daninhas da família Poaceae. A seletividade desses herbicidas à cultura do milho deve-se à inativação da molécula herbicida ou compartimentalização da mesma no vacúolo. Todavia, alguns efeitos da intoxicação são observados principalmente durante o desenvolvimento inicial da cultura do milho, como evidenciados na presente tese.

Quando a aplicação do mesotriona no milho foi realizada observou-se intoxicações das folhas novas. Em consequência da intoxicação detectou-se redução da assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática e da taxa de transpiração. Em consequência dessas reduções constatou-se menor taxa de fotossíntese máxima, quando se elevou a densidade de fluxo e fótons fotossinteticamente ativos em plantas de milho tratadas com mesotriona.

Tais repostas devem-se ao fato que a intoxicação leva à redução da síntese de carotenoides nas folhas novas e conseqüentemente a fotooxidação da clorofila. A menor síntese de clorofila nessas folhas reduz o potencial fotossintético quando comparado a folhas saudáveis, o que é confirmado pela elevação dos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a*. Em resposta as variações das trocas gasosas, a planta eleva a atividade das enzimas do sistema oxidativo para a remoção das espécies reativas de oxigênio, para que os danos celulares sejam minimizados. Tais efeitos ocorreram na planta de milho um dia após a aplicação (DAA) do mesotriona e permaneceram até os 7 DAA, sendo eliminados aos 14 DAA, não comprometendo a produtividade final da cultura.

Vistos os efeitos da intoxicação de mesotriona no desenvolvimento inicial da cultura do milho, os tratamentos utilizados neste estudo inoculação de *Azospirillum*

*brasiliense* via semente ou via foliar e aplicação foliar de regulador vegetal não foram eficientes e tampouco resultaram em aumento na produtividade da cultura do milho.

Entretanto, reduzir os efeitos da intoxicação é desejável, sendo que novos estudos devem ser desenvolvidos com as bactérias promotoras de crescimento vegetal e os reguladores vegetais, pois os mesmos podem mitigar tais efeitos, como explanado no decorrer da presente tese por outros autores em herbicidas com diferentes mecanismos de ação. Neste contexto, novas formas de aplicação das bactérias promotoras de crescimento vegetal e dos reguladores podem ser estudadas. Dentre essas podem se destacar a aplicação de forma antecipada ou posterior a aplicação do mesotriona, ou mesmo combinando ambos para que os efeitos de mitigação sejam maximizados.

Todavia, quando se considera os efeitos do déficit hídrico na cultura da soja os tratamentos com a inoculação de *A. brasiliense* e aplicação foliar de regulador vegetal contendo auxina, citocininas e giberelinas, se mostraram eficientes em promover a mitigação dos danos decorrentes da deficiência hídrica.

A ocorrência de deficiência hídrica é um dos principais problemas enfrentados na agricultura comercial, principalmente em regiões onde os cultivos majoritariamente dependem das precipitações pluviométricas para o suprimento da água necessária para o crescimento e desenvolvimento vegetal.

O déficit hídrico causa uma série de respostas vegetais que refletem em menor crescimento e desenvolvimento. Entre esses, destaca-se o fechamento estomático, que reduz a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e menor síntese de fotoassimilados, demandando a utilização de assimilados acumulados previamente a ocorrência do estresse. Ainda, tem-se o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio e da peroxidação lipídica, necessitando maior atividade do sistema antioxidante e conseqüentemente maior gasto energético. Todavia, como mencionado, durante a incidência do estresse hídrico a produção de compostos energéticos é reduzida, sendo necessário a utilização de compostos previamente produzidos e acumulados, o que culmina no abortamento de órgãos vegetais, que inicia-se pelas folhas mais velhas, ou seja, do terço inferior, e da continuidade do estresse por maiores períodos ocorre abortamento de estruturas reprodutivas.

O uso de técnicas como a inoculação de *A. brasiliense* maximiza uma série de respostas nas plantas que mitigam os efeitos da deficiência hídrica. Pode-se citar a produção de hormônios vegetais, promoção de crescimento radicular, incremento na

atividade antioxidante e aumento da atividade da enzima ACC deaminase, além de favorecer menor perda de água pelo fechamento estomático e menor degradação das moléculas de clorofila. Como grande parte desses efeitos são ligados aos hormônios vegetais excretados pelas bactérias, os reguladores vegetais exercem efeitos semelhantes na fisiologia e bioquímica vegetal, resultando na mitigação dos efeitos advindos da deficiência hídrica.

Na presente tese uma série de respostas positivas por parte da bactéria promotora de crescimento vegetal *A. brasilense* e dos reguladores vegetais foram apresentadas, o que resultou em mitigação nas perdas em produção por planta ao final do ciclo produtivo da soja, sendo essa a variável de principal importância, quando considera-se o cultivo em condições de campo.

As tecnologias empregadas como tratamentos foram capazes de mitigar os danos nas trocas gasosas da soja, tanto em condições de luminosidade ambiente, como em condições de fornecimento artificial de diferentes densidades de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, o que levou as plantas inoculadas com *A. brasilense* ou pulverizadas com regulador vegetal apresentarem maiores taxas fotossintéticas máximas e maior capacidade de utilização da energia luminosa disponível. Essa condição, está diretamente ligada à maior eficiência no uso da água apresentada por parte das plantas que inoculadas com *A. brasilense* ou pulverizadas com regulador vegetal.

Ainda pode-se relacionar tais efeitos ao aumento da atividade das enzimas do sistema antioxidante vegetal em função dos tratamentos, que resultaram em redução da peroxidação de lipídeos possibilitando a manutenção das atividades fisiológicas das plantas.

Destaca-se também uma possível sinalização por parte dos tratamentos, que elevaram o teor de peróxido de hidrogênio nos tecidos vegetais. Tal, elevação representa um efeito de sinalização e que a enzima Superóxido dismutase está sendo eficaz em dismutar as espécies reativas de maior grau oxidativo.

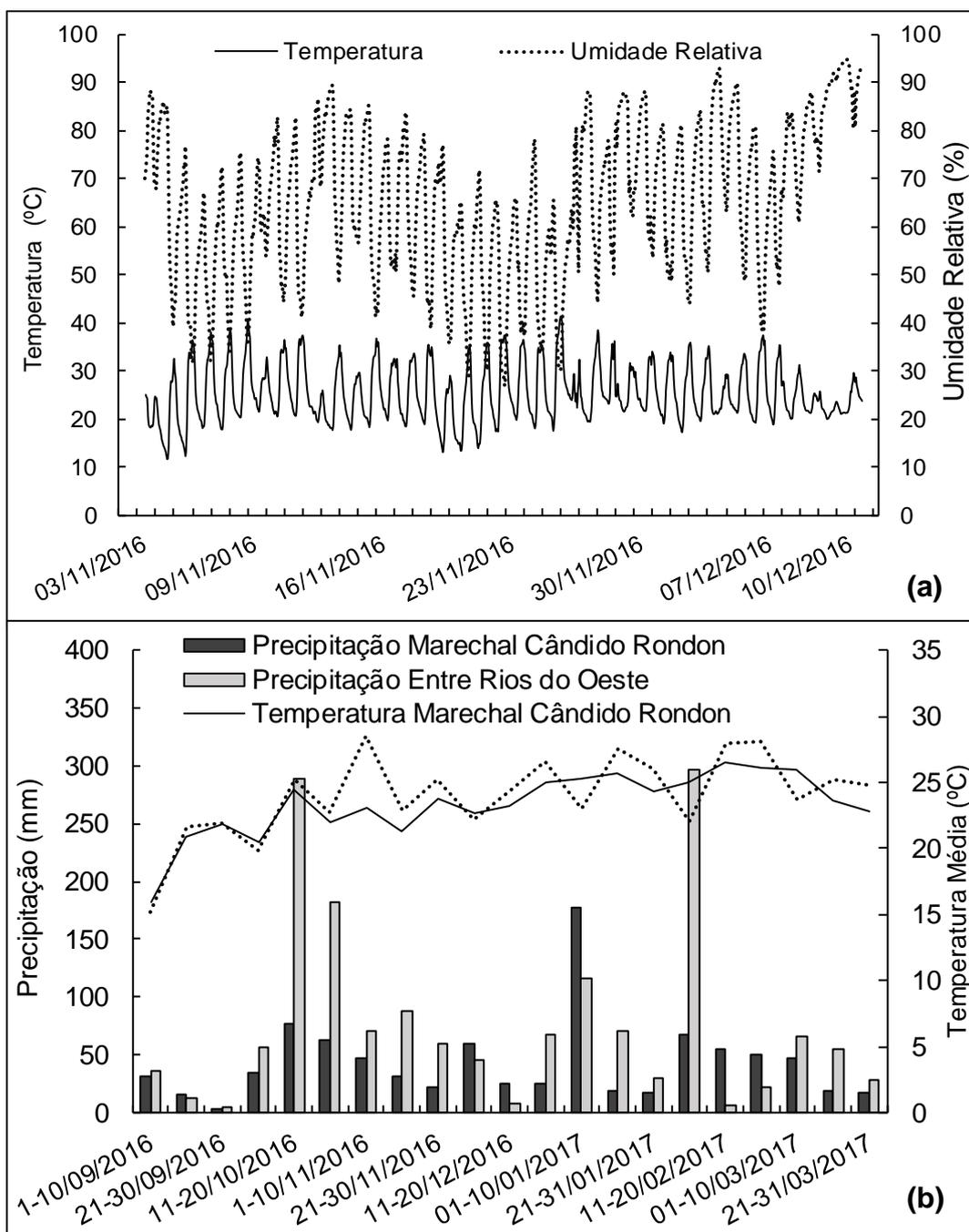
A presente tese foi eficiente em evidenciar várias respostas positivas em relação aos tratamentos com *A. brasilense* e regulador vegetal contendo auxina, citocininas e giberelina e deixa em aberto uma série de possibilidades de estudos futuros relacionados ao tema. Pode-se citar estudos como a associação entre bactérias promotoras e reguladores vegetais; aplicação dos mesmos e imposição da deficiência hídrica em diferentes fases do desenvolvimento vegetal; avaliação de

outras variáveis como teor de ósmolitos, prolina e hormônios nos tecidos vegetais; e principalmente a realização de ensaios em condições de campo, para avaliar se as respostas verificadas em casa de vegetação se confirmam em condições de campo.

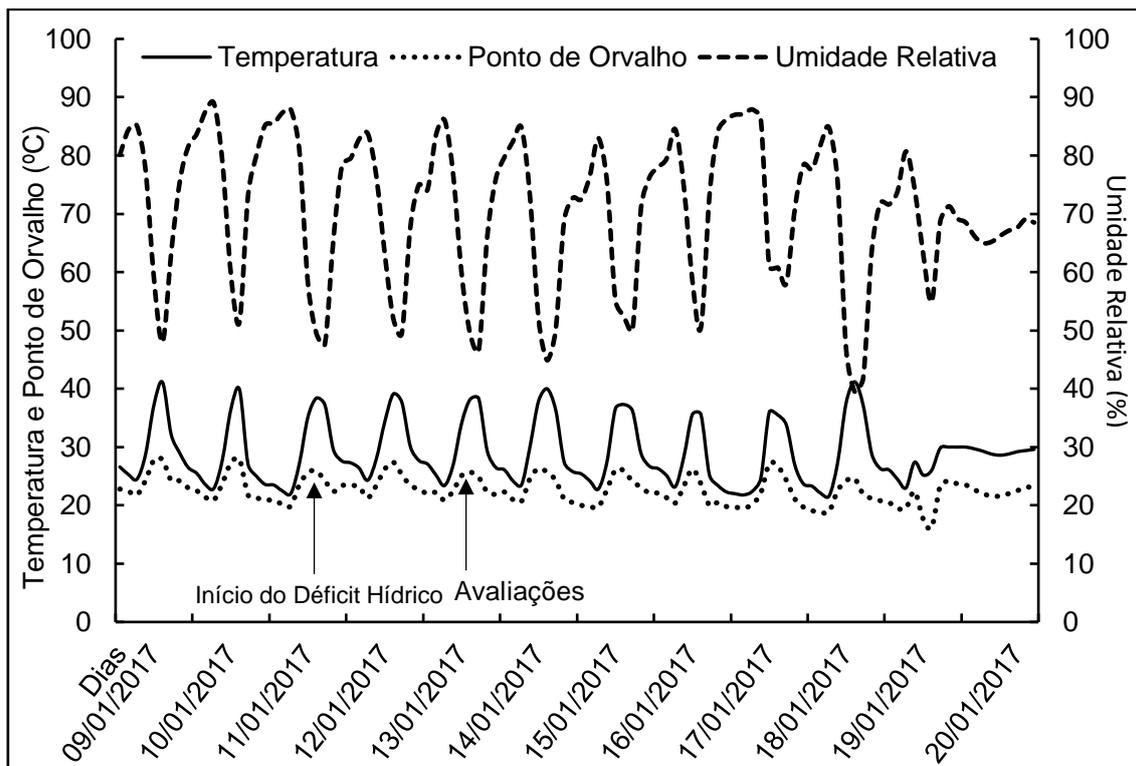
Destaca-se então que todos os tratamentos testados foram capazes de mitigar as perdas em produção por planta, entretanto, as aplicações foliares de regulador vegetal ou de *A. brasilense* no estágio V<sub>6</sub> da soja, tiveram maior destaque em mitigar os efeitos da deficiência hídrica, pois elevaram vários parâmetros citados anteriormente.

Em resumo pode-se relatar que o uso da bactéria promotora de crescimento vegetal *A. brasilense* ou de regulador vegetal composto por auxina, giberelina e citocinina, não são eficazes em mitigar os danos provenientes da intoxicação do herbicida inibidor da síntese de carotenoide mesotriona durante o desenvolvimento inicial da cultura do milho bem como não incrementam a produtividade da cultura. Todavia, quando os mesmos são aplicados em plantas de soja, mitigam os danos provenientes da deficiência hídrica, com maior destaque quando aplicados via foliar no estágio V<sub>6</sub> da soja.

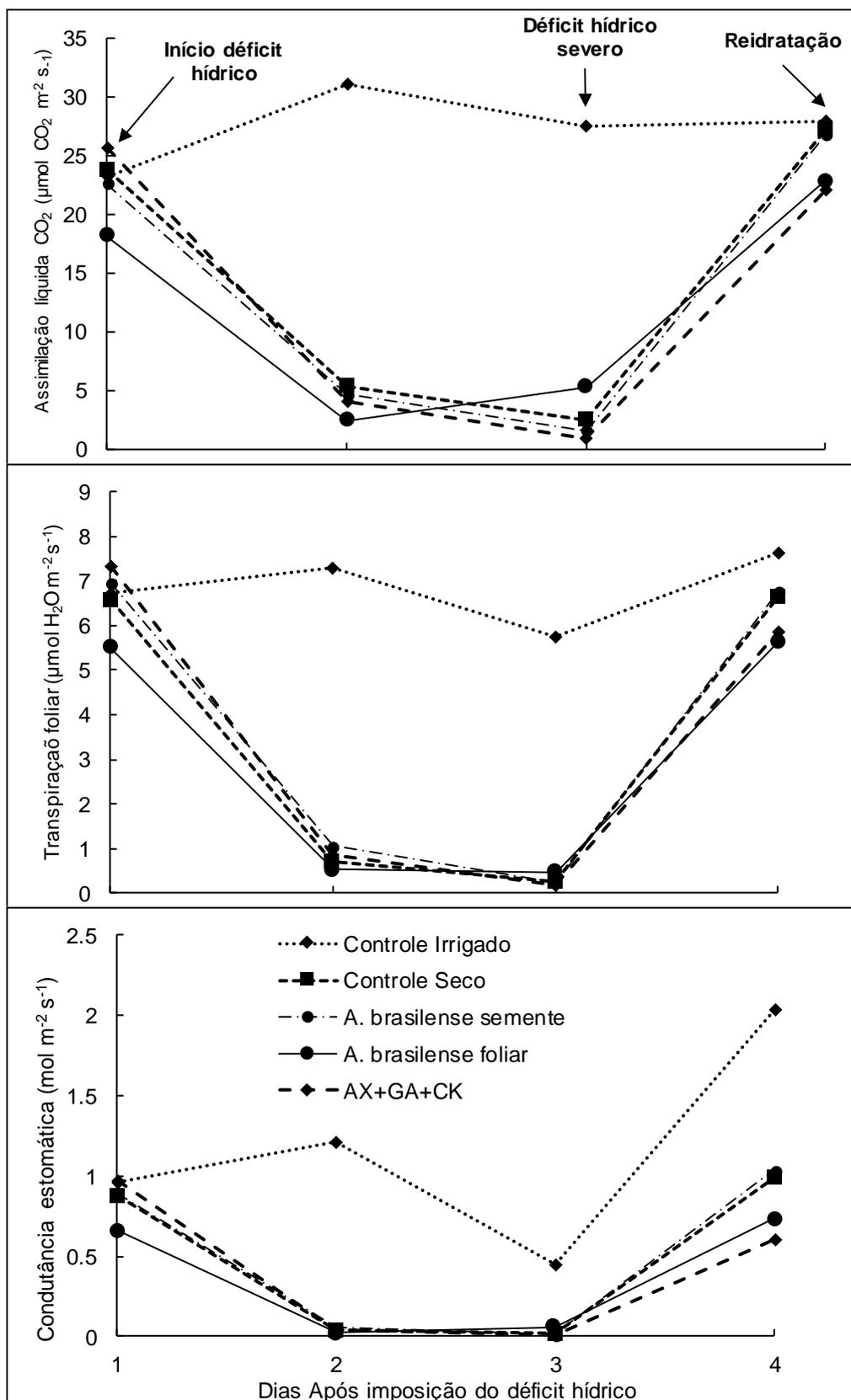
## ANEXOS



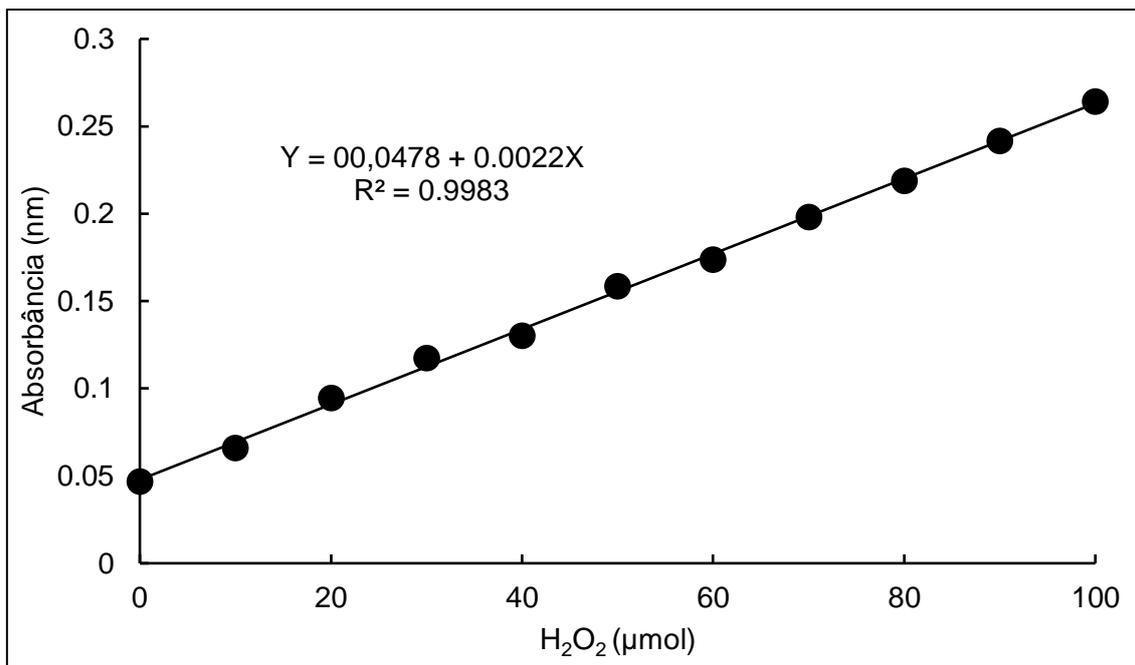
**Anexo 1:** Temperatura e umidade do ar internas a casa de vegetação durante a condução do experimento em Marechal Cândido Rondon - PR (a) e Temperatura, precipitação e umidade do ar em condições de campo (b) em Marechal Cândido Rondon e Entre Rios do Oeste, 2016/2017.



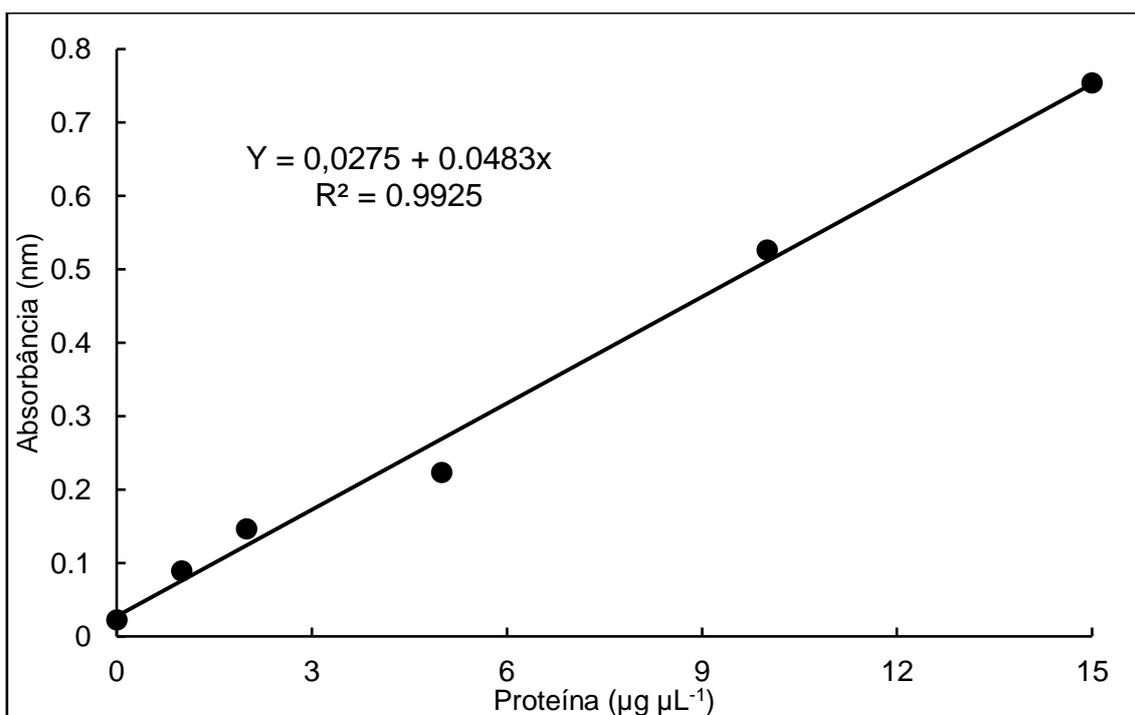
**Anexo 2:** Temperatura, ponto de orvalho e umidade relativa do ar interno na casa de vegetação na fase de imposição do déficit hídrico e avaliações.



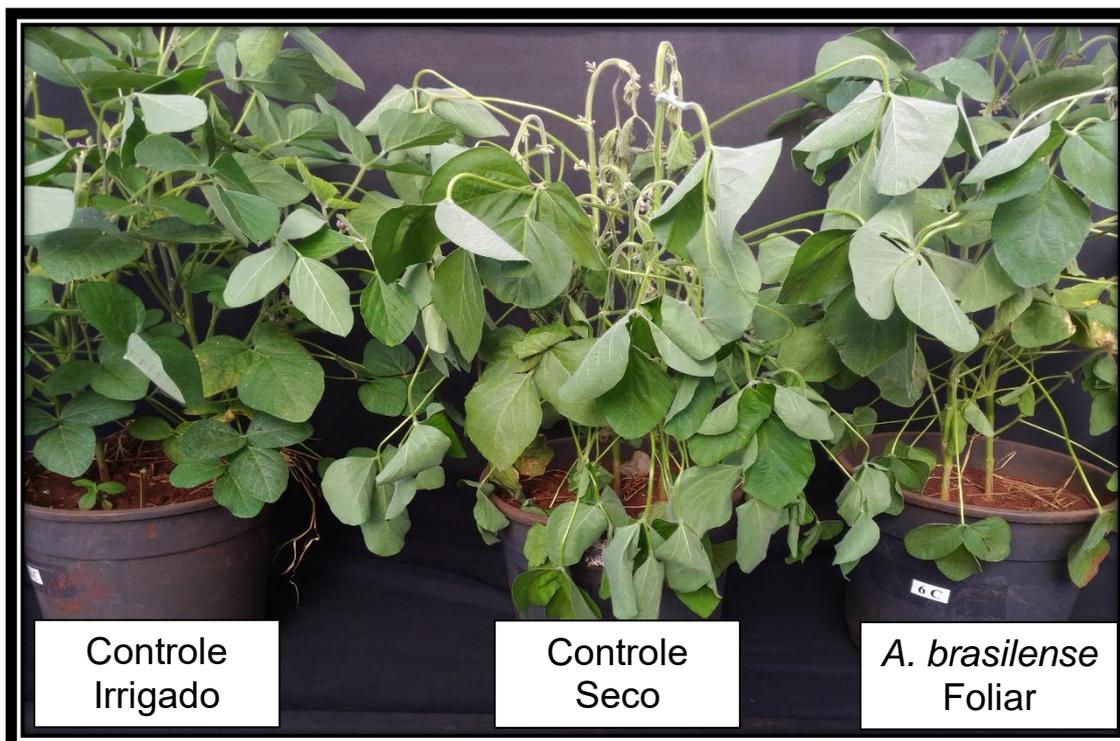
**Anexo 3:** Trocas gasosas diárias avaliadas em plantas de soja após a imposição do déficit hídrico.



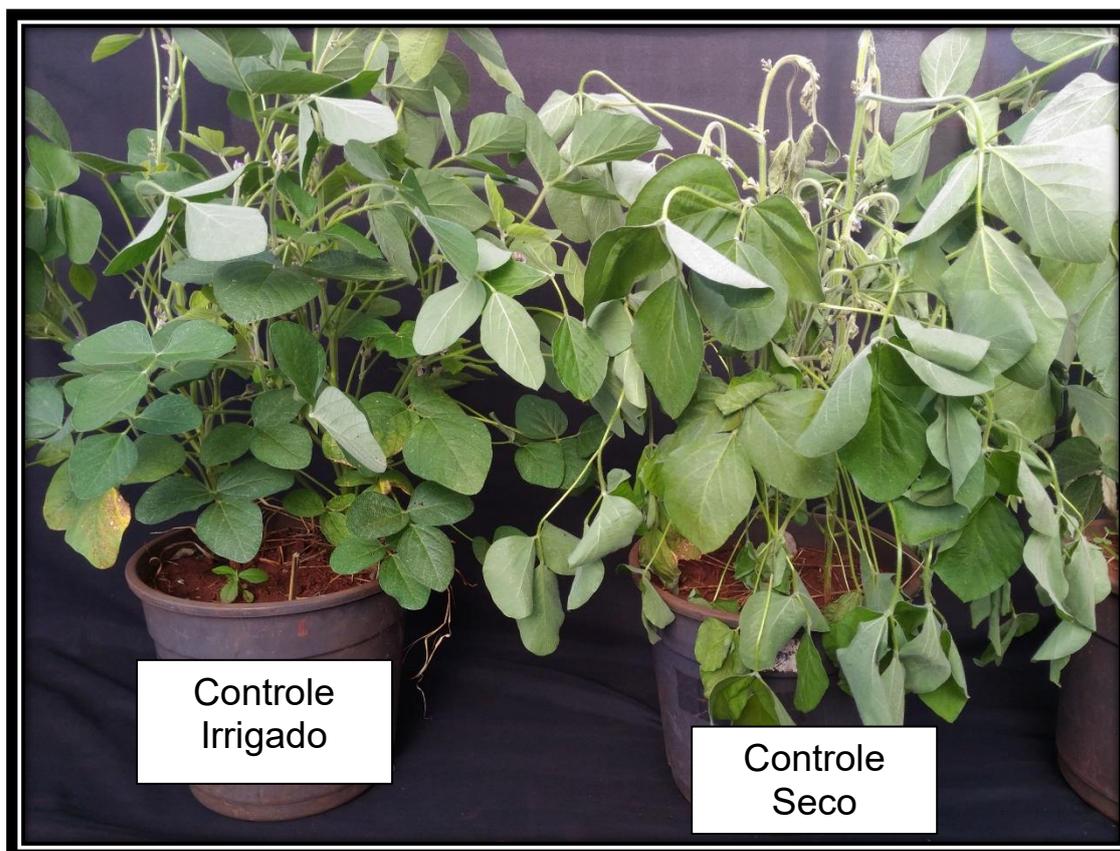
**Anexo 4:** Curva de calibração elaborada e utilizada para determinação do teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em folhas de soja submetidas a deficiência hídrica.



**Anexo 5:** Curva de calibração elaborada e utilizada para determinação do teor de proteínas solúveis em folhas de soja submetidas a deficiência hídrica.



**Anexo 6:** Visão geral das plantas após a imposição da deficiência hídrica no florescimento pleno da soja.



**Anexo 7:** Comparação entre as plantas ausentes de deficiência hídrica e com presença de deficiência hídrica no florescimento pleno da soja.