

Influência do déficit hídrico sobre alguns parâmetros agronômicos em cultivares e linhagens de soja

BARBOSA, D. A.¹; OLIVEIRA, T. B. M.²; MATSUO, D. T.²; PLATH, C. H.²; NICOLINO FILHO, C. J.²; FERREIRA, L. C.³; ALVES, V. S.⁴; OLIVEIRA, M. C. N.⁵; MERTZ-HENNING, L. M.⁵; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.⁵; NEPOMUCENO, A. L.⁵; FARIAS, J. R. B.⁵; NEUMAIER, N.⁵ ¹Universidade Estadual do Norte do Paraná- Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Universidade Norte do Paraná - Bolsista Embrapa, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁴Pesquisador, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Cornélio Procópio, Paraná. ⁵Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. e-mail: danielbar14@hotmail.com

Introdução

A disponibilidade hídrica é considerada o fator climático de maior efeito sobre a produtividade agrícola (FIOREZE et al., 2011). Na cultura da soja, diversos estudos comprovam que o período reprodutivo é o mais sensível ao déficit hídrico. No entanto, não há consenso entre os autores quanto ao(s) estágio(s) mais crítico(s) à baixa umidade do solo. Por sua vez, a necessidade de água na cultura da soja aumenta conforme o desenvolvimento da planta, atingindo o máximo no florescimento-enchimento de grãos e decrescendo posteriormente. Déficits hídricos expressivos durante tais estágios provocam alterações fisiológicas nas plantas, causando queda prematura de folhas

e flores e abortamento de vagens, além de reduzir a produtividade de grãos (FIETZ; URCHEI, 2002).

O elemento responsivo à desidratação *cis*-atuante (DRE), identificado em *Arabidopsis thaliana*, encontra-se envolvido na expressão gênica ABA-independente sob condições de seca, baixas temperaturas e alta salinidade (NORDIN; HEINO; PALVA, 1991; YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 1993; IWASAKI et al., 1997). Os genes de ligação ao DRE - DREB1 e DREB2 - são fatores de transcrição (FTs) que se ligam à região promotora de genes responsivos à desidratação tais como o *rd29A*, desta forma induzindo sua expressão em resposta a diferentes estresses abióticos (SHEN; JENSEN; BOHNERT, 1997; STOCKINGER; GILMOUR; THOMASHOW, 1997; BHATNAGAR-MATHUR et al., 2007). Neste sentido, a inserção do FT *AtDREB1A* sob o controle do promotor estresse-induzido *rd29A* aumentou com sucesso a tolerância à seca em *Arabidopsis thaliana* (GILMOUR et al., 1998), tabaco (KASUGA et al., 2004), arroz (ITO et al., 2006), milho (QIN et al., 2007), trigo (GAO et al., 2009) amendoim (BHATNAGAR-MATHUR et al., 2007; VADEZ et al., 2013) e soja (LI et al., 2005; POLIZEL et al., 2011).

Além do gene *DREB1*, outro fator de transcrição da família DREB, o gene *DREB2A* vem sendo utilizado na obtenção de plantas mais tolerantes à seca, salinidade e calor (SAKUMA et al., 2006; QIN et al., 2007; CHEN et al., 2007). Entretanto, os melhores resultados têm sido obtidos com a construção *DREB2 CA* que possui deleções específicas na região codante que codifica para a proteína DREB2 eliminando efeitos deletérios que normalmente ocorrem quando a proteína é expressa em altos níveis (QIN et al., 2007; CHEN et al., 2007; SAKUMA et al., 2006; SCHRAMM et al., 2008).

Assim, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho das cultivares de soja BR 16 e Embrapa 48 e das linhagens transgênicas P58 DREB1A, P2193 DREB2A e 09D-0077 (cruzamento BR16 x P58 DREB1A), em resposta à quatro condições de disponibilidade hídrica sob condições de campo.

Material e Métodos

O experimento foi implantado no dia 05 de novembro de 2012 e conduzido nos campos experimentais da Embrapa Soja, localizada no município de Londrina-PR, durante a safra 2012/13. As condições de cultivo seguiram as recomendações da Embrapa Soja, sendo utilizado o espaçamento de 0,5 m entre linhas. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, com quatro blocos. Nas parcelas, foram distribuídas quatro condições hídricas, correspondentes ao ambiente descoberto irrigado (DI, água de precipitação + irrigação quando necessário), descoberto não-irrigado (DNI, água de precipitação) e dois ambientes mantidos sob coberturas móveis (*rain out shelters*) programadas para fechar na presença de chuva ($\pm 0,02$ mm) a fim de simular condições de seca e induzir déficit hídrico nas plantas no período vegetativo (EV) e no reprodutivo (ER). No EV, a ausência de água teve início no estádio V4, aos 30 dias após a semeadura (DAS), e as plantas voltaram a receber água de precipitação a partir do estádio R2 (52 DAS). No ER, as plantas deixaram de receber água de precipitação a partir do estádio R2 até a colheita. Nas subparcelas, foram distribuídas duas cultivares de soja convencionais, BR 16 e Embrapa 48, consideradas sensível e tolerante ao estresse hídrico, respectivamente (OYA et al., 2004), além das linhagens P58 DREB1A, P2193 DREB2A e 09D-0077 (cruzamento BR16 x P58 DREB1A), como isolinhas da cultivar BR 16. As linhagens P58 e 09D-0077 são geneticamente modificadas com a construção *rd29:AtDREB1*, enquanto que a linhagem P2193 com a construção *rd29:AtDREB2 CA*.

No período de colheita em R8, foram avaliados o número e matéria seca total (g) de vagens por planta, bem como a matéria seca total (g) de sementes por planta, o peso (g) de 100 grãos e o rendimento (kg ha⁻¹). Os resíduos apresentaram distribuição normal e atenderam aos demais pressupostos da análise de variância (ANOVA). Desta forma, os dados foram submetidos à ANOVA e às comparações múltiplas de médias realizadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

A cultivar Embrapa 48 apresentou o maior número total de vagens por planta no DI (Figura 1A) em relação às demais condições hídricas. Entretanto, não foram detectadas diferenças entre os genótipos/linhagens sob EV e ER. Além disso, não houve diferenças entre a cultivar BR 16 e as linhagens transgênicas sob as diferentes condições hídricas, exceto os menores valores detectados para o cruzamento 09D-0077 sob DNI. Sob EV e ER, os menores valores foram detectados nas cultivares convencionais BR16 e Embrapa 48 e na linhagem DREB2A em relação aos valores obtidos sob DNI e DI. Tal comportamento pode ser devido ao fato de que o déficit hídrico pode resultar em aborto de flores e vagens (EMBRAPA SOJA, 2000; SILVA; CANTERI; SILVA, 2013), o que no presente estudo pode ter ocorrido em função do uso das coberturas móveis. Com relação à matéria seca total de vagens por planta (Figura 1B), também não foram detectadas diferenças entre os genótipos/linhagens sob EV e ER. Em adição, não houve diferenças entre a cultivar BR 16 e as linhagens transgênicas sob EV, ER e DI, enquanto menores valores foram detectados nas linhagens DREB1A e 09D-0077 e na cultivar Embrapa 48 sob DNI. Esperavam-se maiores valores para as linhagens transgênicas em relação à BR 16 sob EV e ER, uma vez que a seca acentuada durante a fase final de floração e na formação das vagens pode causar abortamento de quase todas as flores restantes e vagens recém-formadas e a falta de carga nas plantas pode provocar uma segunda florada, normalmente infértil, resultando em retenção foliar pela ausência de demanda pelos produtos da fotossíntese (EMBRAPA SOJA, 2000; SILVA; CANTERI; SILVA, 2013).

Maior matéria seca total de sementes por planta foi observada para a cultivar BR 16 sob DNI em relação aos demais genótipos/linhagens (Figura 1C). Por sua vez, não houve diferenças entre a cultivar BR 16 e as linhagens transgênicas sob EV, ER e DI. As cultivares Embrapa 48 e BR 16 bem como o cruzamento 09D-0077 apresentaram menores valores sob EV e ER em relação aos detectados sob DNI e DI. Esperavam-se maiores valores para as linhagens transgênicas em relação à BR 16, sob EV e ER, uma vez que o déficit hídrico durante o enchimento

de grãos é mais prejudicial do que durante a floração (FARIAS et al., 2001), tendo em vista que a cultivar BR 16 é sensível à seca (CASA-GRANDE et al., 2001; OYA et al., 2004; STOLF et al., 2009; BIANCO et al., 2013).

Detectou-se menor peso de 100 grãos na cultivar Embrapa 48 sob EV, DNI e DI em relação aos demais genótipos/linhagens (Figura 1D). A linhagem DREB1A apresentou menores valores sob EV, DNI e DI em relação à BR 16. O cruzamento 09D-0077 também apresentou menores valores que a BR 16 sob EV. Além disso, exceto a cultivar Embrapa 48, todos os genótipos/linhagens apresentaram menores valores sob ER. Tal fato pode ter sido devido ao déficit hídrico resultar em limitações à divisão e ao alongamento celular ou menor acúmulo de matéria seca em grãos em formação conforme a época de ocorrência (FAGERIA; BALIGAR; CLARK, 2006).

Com relação ao rendimento (Figura 2), não houve diferença entre os genótipos/linhagens nas condições hídricas DNI e DI. Sob ER, não houve diferença entre a cultivar BR 16 e as linhagens transgênicas. Além disso, menores valores foram detectados no cruzamento 09D-0077 em relação à BR 16 sob EV. Em todos os genótipos e linhagens, menores valores foram detectados sob ER em relação às demais condições hídricas. Esta redução no rendimento sob ER pode ter sido em função da menor atividade fotossintética da folha e menor remobilização de C e N para o grão (SOUZA; EGLI; BRUENING, 1997; BIANCO et al., 2013).

Deve ser ressaltado que a safra 2012/2013 caracterizou-se por períodos de precipitação intensa, com picos de 87,7 e 57 mm no primeiro e terceiro decêndios de novembro de 2012, respectivamente; 102,3 mm no terceiro decêndio de dezembro de 2012; 71,4 mm no segundo decêndio de janeiro de 2013; 117,1 mm no segundo decêndio de fevereiro de 2013 e 124,6 mm no segundo decêndio de março de 2013, já no período de colheita em R8 (05/03/13-03/04/13). Assim, tais períodos de precipitação intensa podem ter sido responsáveis pela ausência de diferenças estatísticas significan-

tes entre alguns resultados do presente estudo sob as condições DI e DNI (BIANCO et al., 2013). Mesmo com o uso de coberturas móveis, a alta precipitação pluviométrica ocorrida no período provocou uma baixa demanda evaporativa na atmosfera, com dias nublados e com alta umidade do ar.

Conclusões

- De maneira geral, na comparação entre as condições hídricas, o déficit hídrico induzido no período reprodutivo (ER) proporcionou pior desempenho dos genótipos e linhagens transgênicas, independentemente da presença dos FTs DREB, para os diferentes parâmetros agrônômicos avaliados;
- Sob condições de déficit hídrico no período vegetativo (EV) e reprodutivo (ER), de maneira geral não se observou melhor desempenho das linhagens transgênicas em relação à BR 16.
- A reduzida demanda evaporativa da atmosfera causada por dias nublados e temperaturas menores, além do excesso de umidade no solo, na safra 2012/13 pode ter dificultado a comparação entre os materiais estudados, o que pode ser constatado pela não observação de diferenças significativas entre o rendimento das linhagens P58, P2193 e 09D-0077 e o da cultivar BR16.

Referências

BHATNAGAR-MATHUR, P.; DEVI, M.J.; REDDY, D.S.; LAVANYA, M.; VADEZ, V.; SERRAJ, R.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHARMA, K.K. Stress-inducible expression of *At DREB1A* in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) increases transpiration efficiency underwater-limiting conditions. **Plant Cell Reports**, v.26, p.2071–2082, 2007.

BIANCO, L.F., TREVIZAN, F.H., NICOLINO FILHO, C.J., OLIVEIRA, T.B.M., NEIVERTH, W., CRUSIOL, L.G.T., RIO, A., SIBALDELLI, R.N.R., CARVALHO, J.F.C., FERREIRA, L.C., NEPOMUCENO,

A.L., NEUMAIER, N., FARIAS, J.R.B. Algumas características das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 em diferentes regimes hídricos. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 8., 2013, Londrina. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2013. p.135-139. (Embrapa Soja. Documentos, 339).

CASAGRANDE, E.C.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIER, N.; OYA, T.; PEDROSO, J.; MARTINS, P.K.; BRETON, M.C.; NEPOMUCENO, A.L. Differential gene expression in soybean during water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.168-184, 2001.

CHEN, M.; WANG, Q.Y.; CHENG, X.G.; XU, Z.S.; LI, L.C.; YE, X.G.; XIA, L.Q.; MA, Y.Z. *GmDREB2*, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.353, p.299-305, 2007.

EMBRAPA SOJA. **A cultura da soja no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 226p.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; CLARK, R.B. **Physiology of crop production**. New York: The Haworth, 2006. 345p.

FARIAS, J.R.B.; ASSAD, E.D.; ALMEIDA, I.R.; EVANGELISTA, B.A.; LAZZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A.L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.9, p.415-421, 2001.

FIETZ, C.R.; URCHEI, M.A. Deficiência hídrica da cultura da soja na região de Dourados, MS. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.6, p.262-265, 2002.

FIGUEIREDO, 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, p.342-349, 2011.

GAO, S.Q.; CHEN, M.; XIA, L.Q.; XIU, H.J.; XU, Z.S.; LI, L.C.; ZHAO, C.P.; CHENG, X.G.; MA, Y.Z. A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE binding transcription factor gene, *GhDREB*, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat. **Plant Cell Reports**, v.28, p.301–311, 2009.

GILMOUR, S.J.; ZARKA, D.G.; STOCKINGER, E.J.; SALAZAR, M.P.; HOUGHTON, J.M.; THOMASHOW, M.F. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression. **The Plant Journal**, v.16, p.433–443, 1998.

ITO, Y.; KATSURA, K.; MARUYAMA, K.; TAJI, T.; KOBAYASHI, M.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice. **Plant Cell Physiology**, v.47, p.141–153, 2006.

IWASAKI, T.; KIYOSUE, T.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. The dehydration-inducible *Rd17* (*Cor47*) gene and its promoter region in *Arabidopsis thaliana* (accession no. AB004872) (PGR 97-156). **Plant Physiology**, v.115, p.1287, 1997.

KASUGA, M.; MIURA, S.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.A. Combination of the *Arabidopsis* DREB1A gene and stress-inducible *rd29A* promoter improved drought- and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer. **Plant Cell Physiology**, v.45, p.346–350, 2004.

LI, X.P.; TIAN, A.G.; LUO, G.Z.; GONG, Z.Z.; ZHANG, J.S.; CHEN, S.Y. Soybean DRE-binding transcription factors that are responsive to abiotic stresses. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, p.1355-1362, 2005.

NORDIN, K.; HEINO, P.; PALVA, E.T. Separate signal pathways regulate the expression of a low-temperature-induced gene in

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. **Plant Molecular Biology**, v.115, p.875–879, 1991.

OYA, T.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J.R.B.; TOBITA, S.; ITO, O. Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars – evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v.7, p.129-137, 2004.

POLIZEL, A.M.; MEDRI, M.E.; NAKASHIMA, K.; YAMANAKA, N.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; MARIN, S.R.R.; ABDELNOOR, R.V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; FUGANTI, R.; RODRIGUES, F.A.; STOLF-MOREIRA, R.; BENEVENTI, M.A.; ROLLA, A.A.P.; NEUMAIER, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; CARVALHO, J.F.C.; NEPOMUCENO, A.L. Molecular, anatomical and physiological properties of a genetically modified soybean line transformed with *rd29A:AtDREB1A* for the improvement of drought tolerance. **Genetics and Molecular Research**, v.10, p.3641-3656, 2011.

QIN, F.; KAKIMOTO, M.; MARUYAMA, K.; OSAKABE, Y.; TRAN, L.S.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Regulation and functional analysis of *ZMDREB2A* in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. **The Plant Journal**, v.50, p.54-69, 2007.

SAKUMA, Y.; MARUYAMA, K.; QIN, F.; OSAKABE, Y.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Dual function of an *Arabidopsis* transcription factor *DREB2A* in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v.103, p.18822-18827, 2006.

SCHRAMM, F.; LARKINDALE, J.; KIEHLMANN, E.; ENGLISH, G.; VIERLING, E.; PASCAL, K.D. A cascade of transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, v.53, p.264-274, 2008.

SHEN, B.; JENSEN, R.G.; BOHNERT, H.J. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. **Plant Physiology**, v.113, p.1177-1183, 1997.

SILVA, A.J.; CANTERI, M.G.; SILVA, A.L. Haste verde e retenção foliar na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, v.39, p.151-156, 2013.

SOUZA, P.I.; EGLI, D.B.; BRUENING, W. Water stress during seed filling and leaf senescence in soybean. **Agronomy Journal**, v.89, p.807-812, 1997.

STOCKINGER, E.; GILMOUR, S.J.; THOMASHOW, M.F. *Arabidopsis thaliana* CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription response to low temperature and water deficit. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v.94, p.1035-1040, 1997.

STOLF, R.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A.; BOEGER, M.R.T.; DIAS, J.; LEMOS, N.G.; OLIVEIRA, M.C.N.; BROGIN, R.L.; YAMANAKA, N.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L. Morpho-anatomical and micromorphometrical evaluations in soybean genotypes during water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.1313-1331, 2009.

VADEZ, V.; RAO, J.S.; BHATNAGAR-MATHUR, P.; SHARMA, K.K. DREB1A promotes root development in deep soil layers and increases water extraction under water stress in groundnut. **Plant Biology**, v.15, p.45-52, 2013.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Characterization of the expression of a desiccation-responsive rd29 gene of *Arabidopsis*

thaliana and analysis of its promoter in transgenic plants. **Molecular and General Genetics**, v.236, p.331-340, 1993.

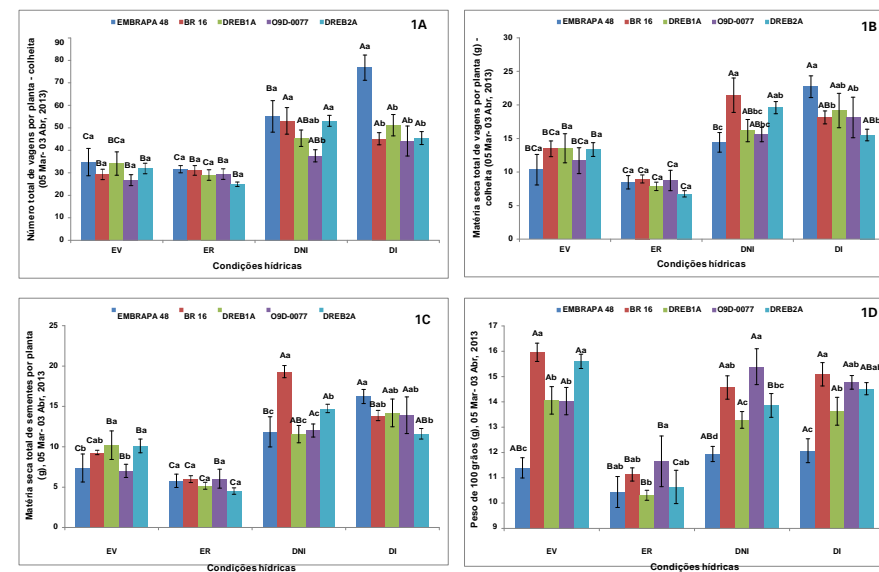


Figura 1. Número (A) e matéria seca (g) total (B) de vagens por planta, matéria seca (g) total de sementes por planta (C) e peso (g) de 100 grãos (D) nas cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 e nas linhagens P58 DREB1A, O9D-0077 e P2193 DREB2A. Colheitas realizadas entre 05 de março e 03 de abril de 2013. EV: estresse no período vegetativo; ER: estresse no período reprodutivo; DNI: descoberto não-irrigado; DI: descoberto irrigado. n = 4 ± erro padrão, valores médios de dez plantas por parcela. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas entre condições hídricas (dentro de cultivar/linhagem) e minúsculas entre cultivares/linhagens (dentro de condição hídrica) não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

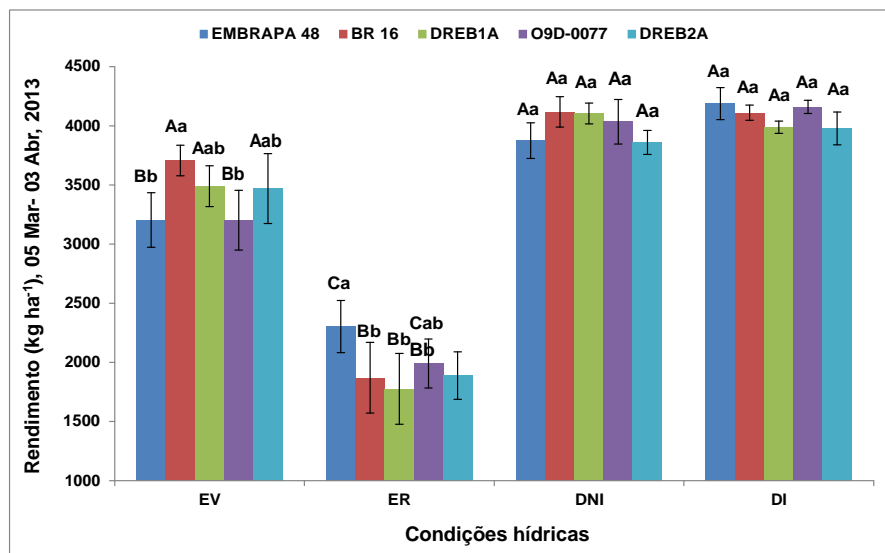


Figura 2. Rendimento (kg ha^{-1}) das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 e das linhagens P58 DREB1A, O9D-0077 e P2193 DREB2A. Colheitas realizadas entre 05 de março e 03 de abril de 2013. EV: estresse no período vegetativo; ER: estresse no período reprodutivo; DNI: descoberto não-irrigado; DI: descoberto irrigado. $n = 4 \pm$ erro padrão, valores médios de dez plantas por parcela. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas entre condições hídricas (dentro de cultivar/linhagem) e minúsculas entre cultivares/linhagens (dentro de condição hídrica) não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).