



**LUDMILA DA SILVA BASTOS**

**SUPLEMENTAÇÃO FOLIAR COM ZINCO COMO  
ESTRATÉGIA PARA ATENUAR OS EFEITOS DE DÉFICIT  
HÍDRICO EM SOJA (*Glycine max* L.)**

**LAVRAS-MG**

**2021**

**LUDMILA DA SILVA BASTOS**

**SUPLEMENTAÇÃO FOLIAR COM ZINCO COMO  
ESTRATÉGIA PARA ATENUAR OS EFEITOS DE DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA  
(*Glycine max* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Mestre

Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Coorientador

Dr. Franz Walter Rieger Hippler

**LAVRAS-MG**

**2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Bastos, Ludmila da Silva.

Suplementação foliar com zinco como estratégia para atenuar os  
efeitos de déficit hídrico em soja (*Glycine max* L.) / Ludmila da Silva  
Bastos. - 2021.

76 p.

Orientador(a): Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori.

Coorientador(a): Franz Walter Rieger Hippler.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras,  
2021.

Bibliografia.

1. Déficit Hídrico. 2. Zinco. 3. Adubação foliar. I. Marchiori, Paulo  
Eduardo Ribeiro. II. Hippler, Franz Walter Rieger. III. Título.

**LUDMILA DA SILVA BASTOS**

**SUPLEMENTAÇÃO FOLIAR COM ZINCO COMO  
ESTRATÉGIA PARA ATENUAR OS EFEITOS DE DÉFICIT HÍDRICO EM SOJA  
(*Glycine max* L.)  
LEAF SUPPLEMENTATION WITH ZINC AS A STRATEGY TO MITIGATE THE  
EFFECTS OF WATER DEFICIT IN SOYBEAN (*Glycine max* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Mestre

APROVADA em 16 de agosto de 2021

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori	UFLA
Prof. Dra. Neidiquele Maria Silveira	IAC
Prof. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos	UFLA
Dra. Lissa Vasconcellos Vilas Boas	UFLA

Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Coorientador

Dr. Franz Walter Rieger Hippler

**LAVRAS-MG**

**2021**

*Dedico esta a Deus e a meus pais.  
A eles devo tudo o que sou!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por ser proteção, luz e guia mediante as dificuldades da vida.

Ao meu protetor São Miguel, que mostrou sua presença de forma muito real em minha vida e me ajudou a sair de um momento muito difícil.

À minha família, pelo incentivo e apoio essenciais para a realização deste sonho.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa e oportunidade de estudo.

À Yara Fertilizantes pelo financiamento do trabalho.

Aos meus professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, por me guiarem na busca pelo conhecimento e pela dedicação em ensinarem.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori, pelos ensinamentos, confiança e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. Por ser tão paciente, compreender minhas inseguranças e medos. Sempre levarei para a vida como inspiração profissional e pessoal.

Ao meu coorientador, Franz Hippler por todo apoio, ensinamentos e disponibilidade durante a condução do trabalho. Que se mostrou um grande profissional e uma pessoa extremamente gentil, motivo de motivação para mim.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição intelectual.

À todos os Guanaxos pela amizade, suporte e ajuda para a realização deste trabalho, e por contribuírem de maneira imensurável para minha formação acadêmica e pessoal. Por me entenderem, me fazerem mais feliz e suportar junto comigo os momentos difíceis que passei durante o mestrado.

À todos os amigos da Fisiologia Vegetal e do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas pelo suporte, amizade e companheirismo.

À Universidade Federal de Lavras por todo suporte e oportunidade de ensino de qualidade.

À CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Salete e Joel, que sempre auxiliaram com muito carinho em todos os momentos que precisei da ajuda deles, indo além da obrigação profissional.

Ao amigo que o mestrado me deu, Paulo César, que foi essencial para o desenvolvimento do experimento, que foi meu apoio e que passou por todos os desafios para a condução do experimento comigo. Uma das pessoas com o melhor caráter que já conheci, com um grande coração e que merece tudo de melhor na vida.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão desta etapa, minha gratidão.

## RESUMO

A população global cresce exponencialmente e junto com ela a necessidade de aumentar a produção de alimentos. Dentro desse contexto, a produção de soja terá papel fundamental, uma vez que a soja é a principal fonte de proteína vegetal do mundo. Entretanto, o principal fator ambiental que afeta negativamente a produtividade de diversas culturas, incluindo a soja, é o déficit hídrico. Estratégias de manejo como a suplementação mineral vem sendo apontadas como uma forma de minimizar os efeitos deletérios do déficit hídrico. Dessa forma, objetivou-se avaliar a viabilidade da suplementação com o micronutriente Zn na atenuação dos efeitos deletérios causados pelo baixo conteúdo de água em soja (*Glycine max* L.). Para isso, foi conduzido um experimento com delineamento inteiramente casualizado, sob esquema fatorial 2x4, com 5 repetições. Os fatores de variação foram duas condições hídricas (irrigado e déficit hídrico) e quatro doses/fontes de Zn (300 mg Zn L<sup>-1</sup> e com 600 mg Zn L<sup>-1</sup>, utilizando como fonte ZnO; 300 mg Zn L<sup>-1</sup> sulfato de zinco PA e água no tratamento MOCK). Foram realizadas coletas para avaliação de parâmetros biométricos, bioquímicos e fotossintéticos no período de máximo estresse e 5 dias após reidratação. Além de componentes de produção ao final do experimento. O déficit hídrico reduziu os parâmetros de crescimento (altura, número de folhas e nós) no período de máximo estresse e produção, sendo que a suplementação com Zn não foi suficiente para minimizar as reduções. Após a reidratação a suplementação também não demonstrou ser suficiente para uma recuperação mais rápida das plantas. Mesmo assim, algumas alterações bioquímicas nas plantas suplementadas chamaram a atenção. Como o conteúdo de prolina no período de máximo estresse que foi cerca de seis vezes maior nas raízes de plantas tratadas com 600 mg Zn L<sup>-1</sup> quando comparadas com plantas irrigadas do mesmo tratamento. A fonte ZnSO<sub>4</sub> promoveu maior acúmulo de açúcares nas raízes das plantas em condição de déficit hídrico no período de máximo estresse, principalmente os solúveis. Em todas as concentrações e fonte de Zn, as folhas de plantas irrigadas apresentaram menor conteúdo de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se comparadas as sob déficit hídrico, exceto por aquelas que foram suplementadas com 600 mg Zn L<sup>-1</sup>, que não se diferiram das supridas com água. Dessa forma, no geral, pode ser observado que as plantas de soja sob déficit hídrico buscam estratégias para minimizar os efeitos do estresse hídrico frente as diferentes doses e fontes de Zn aplicadas. Apesar disso, o crescimento e a produção foram comprometidos, podendo ser justificado pela severidade do estresse aplicado e que provavelmente em um evento de seca menos severo, a suplementação com Zn, poderá ser benéfica para as plantas.

**Palavras-chave:** *Glycine max* L. Seca. Adubação foliar. Micronutriente.

## ABSTRACT

The global population grows exponentially and with it the need to increase food production. Within this context, soy production will play a fundamental role, since soy is the main source of vegetable protein in the world. However, the main environmental factor that negatively affects the productivity of several crops, including soybeans, is the water deficit. Management strategies such as mineral supplementation have been identified as a way to minimize the harmful effects of water deficit. Thus, the objective was to evaluate the viability of supplementation with the micronutrient Zn in attenuating the deleterious effects caused by the low water content in soybean (*Glycine max* L.). For this, an experiment was carried out with a completely randomized design, in a 2x4 factorial scheme, with 5 replications. The factors of variation were two water conditions (irrigated and water deficit) and four doses/sources of Zn (300 mg Zn L<sup>-1</sup> and with 600 mg Zn L<sup>-1</sup>, using ZnO as a source; 300 mg Zn L<sup>-1</sup> sulfate of zinc PA and water in MOCK treatment). Collections were carried out to assess biometric, biochemical and photosynthetic parameters during the period of maximum stress and 5 days after rehydration. In addition to production components at the end of the experiment. The water deficit reduced the growth parameters (height, number of leaves, and nodes) in the period of maximum stress and production, and supplementation with Zn was not enough to minimize such reductions. After rehydration, supplementation is also not sufficient for a faster recovery of the plants. Even so, some biochemical changes in the supplemented plants drew attention. As the proline content in the period of maximum stress was about 6 times higher in the roots of plants treated with 600 mg Zn L<sup>-1</sup> when compared to irrigated plants of the same treatment. The ZnSO<sub>4</sub> source promoted a greater accumulation of sugars in plant roots under water deficit conditions in the period of maximum stress, mainly soluble sugars. In all options and Zn source, as leaves of irrigated plants, lower MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content compared to those under water deficit, except for those that were supplemented with 600 mg Zn L<sup>-1</sup>, which did not differ from those supplied with water. Thus, in general, it can be observed that soybean plants under water deficit seek a strategy to minimize the effects of water stress against different doses and sources of applied Zn. Despite this, growth and production were compromised, which can be explained by the severity of the stress caused and that, probably, in a less severe drought event, supplementation with Zn can be beneficial to the plants.

**Keywords:** *Glycine max* L. Drought. Foliar fertilization. Micronutrient.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	2
2.1 Importância da cultura frente ao cenário agrícola futuro.....	2
2.2. Déficit hídrico e a suplementação com Zinco .....	2
2.3. Fertilizantes foliares fontes de zinco.....	6
3. HIPÓTESE .....	7
4. OBJETIVO GERAL.....	7
4.1. Objetivos específicos .....	7
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
5.1 Condução dos experimentos.....	7
5.2 Aspectos biométricos e componentes de produção.....	11
5.3. Potencial hídrico das folhas .....	11
5.4. Composição mineral dos tecidos vegetais.....	12
5.5. Avaliações das trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	12
5.6. Avaliação do metabolismo antioxidante.....	13
5.7. Peroxidação lipídica e conteúdo de peróxido de hidrogênio .....	13
5.8. Extrato proteico e atividade de enzimas do sistema antioxidante .....	13
5.9. Determinação da atividade da enzima Redutase do Nitrato .....	15
5.10. Determinação de carboidratos e aminoácidos .....	15
5.11. Conteúdo de prolina.....	15
5.12. Análise estatística .....	16
6. RESULTADOS.....	16
6.3. Avaliação do metabolismo antioxidante.....	23
6.4. Atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes .....	32
6.5. Conteúdo de proteína.....	33
6.6. Quantificação de açúcares .....	34
6.7. Quantificação de aminoácidos.....	38
6.8. Atividade Fotoquímica.....	40
6.9. Fotossíntese líquida da planta inteira.....	42
6.10. Componentes de produção .....	43
7. DISCUSSÃO .....	48
8. CONCLUSÕES .....	52
REFERÊNCIAS .....	54
ANEXO 1 .....	62
ANEXO 2 .....	63

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é a principal fonte de proteína vegetal do mundo (GRASSINI et al., 2021), representando 60% de toda proteína vegetal produzida globalmente (DA SILVA et al., 2021). Somado a isso e ao aumento estimado da população global de para 9,8 bilhões até 2050 (DESA, 2017), a produção de soja no Brasil ocupará papel de destaque para a segurança alimentar mundial, uma vez que o país é o maior produtor e exportador de soja do mundo (USDA, 2021).

No entanto, a redução da disponibilidade hídrica nos próximos anos vem sendo apontada como o principal desafio para a produção das culturas agrícolas em todo o mundo, incluindo a soja (ZHANG, 2011; PERDOMO et al., 2017). Visto que o déficit hídrico causa prejuízos ao crescimento das plantas (BERGAMASCHI et al., 2004; MORANDO et al., 2014) por meio de alterações, principalmente no metabolismo do carbono (LISAR et al., 2012, BERGAMASCHI & MATZENAUER, 2014), pois leva a diminuição da fotossíntese líquida, que conseqüentemente ocasiona mudanças no metabolismo de carboidratos e lipídeos e por tanto na síntese de proteínas (LIU et al., 2011; DEEBA et al., 2012; FILIPPOU et al., 2014; SINGH et al., 2015).

Diante disso a elaboração de estratégias que contribuam com a redução dos efeitos do déficit hídrico na cultura da soja é de grande importância, sendo a suplementação com nutrientes considerada a mais promissora (UAMIR HASSAN et al., 2020). Principalmente os micronutrientes, por serem são cofatores de diversas enzimas nas plantas, como enzimas antioxidantes, que atuam na proteção de moléculas contra os danos causados pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO's) quando as plantas estão passando por uma condição estressante (DIMKPA e BINDRABAN, 2016) (GILL e TUTEJA, 2010). Também estão envolvidos na síntese de solutos osmoprotetores, que são acumulados durante o estresse por déficit hídrico e que também diminuem os riscos de danos causados pela superprodução de ERO's, auxiliando na estabilidade de proteínas, além de regular o ajuste osmótico celular (KAUR e ASTHIR, 2015 (SINGH et al., 2015).

Dentre os micronutrientes, o Zinco (Zn) desempenha um papel importante na tolerância das plantas à seca, pois promove o aumento da estabilidade da membrana celular, o acúmulo de osmólitos, participa na regulação do metabolismo de carboidratos, além de ser componente de um grande número de enzimas (UMAIR HASSAN et al., 2020), dentre das quais cabe citar a isoforma da dismutase do superóxido a Cu/Zn-SOD (MOUSAVI et al., 2011), que participa na tolerância à múltiplos estresses em algumas culturas como o tabaco (BADAWI et al., 2004). Diante o exposto, testou-se a hipótese de que o uso da suplementação

com o micronutriente Zn é uma estratégia de manejo eficiente para promover um alívio do estresse por déficit hídrico na cultura da soja.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Importância da cultura frente ao cenário agrícola futuro**

A população mundial vem crescendo exponencialmente nos últimos anos e acredita-se que até 2050 ela aumente de 7,8 bilhões para 9,8 bilhões (DESA, 2017). Dentro desse contexto, a produção de soja terá papel importante por ser a principal fonte de proteína vegetal do mundo (GRASSINI et al., 2021), representando 60% de toda proteína produzida globalmente (DA SILVA et al., 2021).

A produção de soja no Brasil ocupa papel de destaque tanto dentro do cenário agrícola nacional quanto internacional e frente ao crescimento da população mundial, uma vez que o país é o maior produtor e exportador de soja do mundo, sendo que na safra 2020/21 foram cultivados cerca de 38,47 milhões de hectares, com produção estimada de 135,5 milhões de toneladas (CONAB, 2021; USDA, 2021).

Entretanto, um dos maiores desafios para a produção de soja nos próximos anos, serão as mudanças climáticas, sendo a seca um dos fatores abióticos que mais afeta a produtividade dessa cultura ao limitar seu crescimento e desenvolvimento (PERDOMO et al., 2017), representando grande risco para a segurança alimentar mundial (DA SILVA et al., 2021).

As variedades de soja utilizadas no Brasil, exigem de 450 a 800 mm de água para garantir ao final do ciclo uma produção adequada (EMBRAPA, 2020). Os estádios fenológicos de maior exigência hídrica são a fase germinação/emergência e floração/enchimento (MORANDO et al., 2014). No entanto, à medida que a planta se desenvolve, a necessidade hídrica aumenta, sendo que no período de florescimento e enchimento de grãos a necessidade é de 7 a 8 mm dia<sup>-1</sup> (FARIAS et al., 2007).

No entanto, essa disponibilidade hídrica adequada nem sempre pode ser garantida, uma vez que reduções nas precipitações têm sido observadas nas últimas décadas (SINGH et al., 2015). Estima-se que o aumento do estresse hídrico por déficit causará perdas de até 30% na produção agrícola global até 2025 (ZHANG, 2011).

### **2.2. Déficit hídrico e a suplementação com Zinco**

Algumas das alterações provocadas pelo déficit hídrico no metabolismo das plantas estão associadas com: diminuição na biossíntese de pigmentos fotossintéticos, menor

fotossíntese líquida, menor rendimento quântico efetivo do fotossistema II (PSII), taxas de transporte de elétrons reduzidas, variação nos padrões de síntese de proteínas, metabolismo de carboidratos e lipídeos e reações em cadeia promovidas pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO's) como o radical superóxido ( $O_2^-$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $OH^-$ ), que levam a danos em diversas moléculas (LIU et al. 2011; DEEBA et al. 2012; FILIPPOU et al. 2014; SINGH et al., 2015) (GILL e TUTEJA, 2010). Essas alterações em processos fisiológicos e bioquímicos, prejudica o crescimento e o desenvolvimento das plantas, culminando na redução da produtividade das culturas (UAMIR HASSAN et al., 2020).

Essa redução na produtividade das culturas em decorrência de uma menor disponibilidade hídrica será um dos principais problemas para a segurança alimentar nos próximos anos para diversas culturas (DA SILVA et al., 2021), dentre elas a soja que ocupa papel de destaque dentro desse cenário, uma vez que é a principal fonte de proteína do mundo (GRASSINI et al., 2021). Dessa forma, a elaboração de estratégias que contribuam com a redução dos efeitos do déficit hídrico nessa cultura é de grande importância. Dentre as estratégias possíveis, a considerada mais promissora é a suplementação com nutrientes (UAMIR HASSAN et al., 2020).

O papel dos micronutrientes no alívio de estresses abióticos, dentre eles a menor disponibilidade hídrica, já é bem conhecido, uma vez que a maioria deles são cofatores de diversas enzimas que participam de processos metabólicos importantes para as plantas como a DNA/RNA polimerases, enzimas envolvidas no metabolismo do Nitrogênio (N), enzimas do sistema antioxidante, desidrogenases, oxidases, ATPases (DIMKPA e BINDRABAN, 2016). Dessa forma, o manejo correto e no momento adequado de micronutrientes desempenha um papel fundamental para melhorar o desempenho de plantas frente estresses abióticos como a escassez hídrica (UAMIR HASSAN et al., 2020).

O zinco (Zn) é apontado por diversas pesquisas como um micronutriente que desempenha um papel importante na tolerância das plantas à seca por meio de diferentes mecanismos como: aumento da estabilidade da membrana celular, acúmulo de osmólitos, regulação do metabolismo de carboidratos (UAMIR HASSAN et al., 2020), lipídios e ácidos nucleicos, ativação de um grande número de enzimas, síntese de proteínas (HÄNSCH; MENDEL, 2009; MARSCHNER, 1995) e atuar na regulação da expressão de genes envolvidos na tolerância de estresses abióticos (CALMAK, 2000; HAFEEZ et al., 2013).

Sob déficit hídrico moderado ou pouco tempo de exposição ao estresse, a condutância estomática ( $g_s$ ) é um dos primeiros processos a serem afetados junto com o crescimento. As plantas regulam a abertura dos seus estômatos para evitarem a perda excessiva de água o que leva a uma diminuição na  $g_s$  e redução na taxa de transpiração ( $E$ ) em detrimento da difusão de  $CO_2$  para o interior do mesofilo foliar (URBAN et al., 2017).

A diminuição na concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ) por sua vez, compromete a atividade da enzima da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco) (DE SOUZA et al., 2013; URBAN et al., 2017). Caso ocorra uma redução da atividade carboxilase da Rubisco por um longo período, isso pode acarretar na inibição da oxidação das moléculas de NADPH na etapa bioquímica (DO ARAÚJO e DEMINICIS, 2009), o que leva a um sobrecarregamento do aparato fotoquímico, uma vez que não ocorre renovação de moléculas aceptoras de elétrons ( $NADP^+$ ). Dessa forma, o excesso de energia não utilizado pela via fotoquímica pode ser dissipada na forma de emissão de luz (fluorescência) ou calor (ZUREK et al., 2014) como primeiro mecanismo de defesa da planta.

No entanto, as formas de dissipação de energia no aparato fotoquímico podem não ser suficientes para aliviar o sobrecarregamento na membrana do tilacoide, ocorrendo a redução do  $O_2$  intracelular o que provoca a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) em excesso, (DE AZEVEDO NETO et al., 2006). Essas ERO's, formadas pela redução, transferência de elétrons ou transferência de energia do  $O_2$  (SINGH et al., 2015), causam reações em cadeia que podem provocar danos às macromoléculas como proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA (GILL e TUTEJA, 2010), culminando em um estresse secundário, que é o estresse oxidativo (SINGH et al., 2015). Um biomarcador para esse tipo de dano é malondialdeído (MDA), um produto secundário da reação do oxigênio com lipídios ou peroxidação lipídica, (AYALA et al., 2014).

Dentre as proteínas que podem ser danificadas pelas ERO's está a proteína D1 do fotossistema II (PSII), esse dano conduz a redução na eficiência quântica potencial do PSII (Fv/Fm). Prejuízos no PSII limitam o fluxo de elétrons do PSII para o PSI, diminuindo a síntese de ATP (FLEXAS e MEDRANO, 2002). Com a menor concentração de ATP que está sendo liberado no estroma o processo de renovação da molécula Ribulose 1,5 bifosfato (RuBP) também é afetado, gerando assim, um decréscimo na taxa fotossintética causada por limitações bioquímicas (FLEXAS e MEDRANO, 2002).

Em condição de déficit, o Zn dentro dos cloroplastos melhora as taxas fotossintéticas, justamente por atuar no reparo do PSII, transformando a proteína D1 foto-danificada, além de,

integrar a estrutura da Rubisco (WARAICH et al., 2011). Da mesma forma, o Zn participa na abertura estomática, ativação de enzimas como a anidrase carbônica e aplicações do elemento promovem aumentos no conteúdo de clorofila e com isso o melhor rendimento quântico (DEHNAVI e SHESHBAHRE, 2017).

O Zn também atua na proteção contra os efeitos deletérios do déficit hídrico, por sua capacidade de se manter estável em sistemas biológicos, e graças a essa propriedade, consegue proteger lipídios da membrana das ERO's e com isso diminuir o extravasamento de eletrólitos (SREENIVASULU et al., 2000; VALLEE e FALCHUK, 1993; UAMIR HASSAN et al., 2020). Além disso, o Zn, pode contribuir com a manutenção da permeabilidade da membrana, pela preservação da estrutura de macromoléculas e sistemas de transporte de íons e interage com proteínas de membrana (HAFEEZ et al., 2013), além de atuar na regulação da expressão de genes envolvidos na tolerância de estresses ambientais (CALMAK, 2000; HAFEEZ et al., 2013)

Junto a isso, suplementações deste elemento melhoram a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD) e a peroxidase (POD) que atuam na redução das ERO's, diminuindo os efeitos do estresse oxidativo e acúmulo de MDA (UAMIR HASSAN et al., 2020). Isso devido ao fato de que o Zn é cofator da isoforma Cu/Zn-SOD (MOUSAVI et al., 2007), que já tem como característica conhecida a participação na tolerância à múltiplos estresses em algumas culturas como o tabaco (BADAWI et al., 2004).

Outra importância do Zn no alívio do déficit hídrico é seu papel na síntese de proteínas e no metabolismo de carboidratos (MOUSAVI, 2011). A aplicação de Zn aumenta a expressão de proteínas dependentes de Zn que atuam no metabolismo de carboidratos, estimulando o acúmulo de açúcares solúveis e prolina em condições de menor disponibilidade hídrica (WU et al., 2015). Tanto a prolina quanto os açúcares solúveis acumulados, atuam na osmoproteção de células e moléculas (HASEGAWA et al., 2000). O Zn também melhora a síntese de aminoácidos, que são importantes na regulação da homeostase osmótica em condições de estresse (ZUSHI, 2005).

Uma forma imediata, mais barata, direcionada e que vem aumentando nos últimos anos para se fornecer micronutrientes é a fertilização foliar (RIOS et al., 2021). Pulverizações foliares de micronutrientes tem diversos benefícios, como evitar interação com o solo, aplicação no momento de alta demanda do nutriente pela planta e respostas mais rápidas (FERNÁNDEZ et al., 2013). Benefícios esses que muitas vezes fazem com que seja um método mais adequado do que o fornecimento via solo (STEWART et al., 2021).

### 2.3. Fertilizantes foliares fontes de zinco

Diversas fontes de micronutrientes foliares são utilizadas, algumas delas são solúveis em água como os quelatos, nitratos, sulfatos e cloretos, e outras são pouco solúveis ou insolúveis como os carbonatos, fosfatos e óxidos (ALCARDE E VALE, 2003). Uma das limitações dos fertilizantes foliares mais tradicionais, que utilizam fontes solúveis de nutrientes, é que quando aplicados em uma maior concentração podem causar queima nas folhas, por isso é necessário que muitas vezes se façam algumas aplicações ao longo do ciclo da cultura (LI et al., 2018).

As fontes insolúveis, por sua vez, quando produzidas pela moagem ultrafina até chegar a tamanhos nanométricos a partir de partículas de óxido ou de carbonatos, podem aumentar a absorção dos nutrientes (SERVIN et al., 2015). Sendo que as suspensões com nanopartículas de fontes pouco solúveis, por apresentarem uma absorção mais lenta, podem não apenas evitar que ocorra a queima mesmo apresentando alta concentração do nutriente (DRISSI et al., 2015; LI et al., 2018), mas também fornecer o Zn por mais tempo e de maneira gradual (LI et al., 2018).

Ainda não se tem total conhecimento de como ocorre a absorção do Zn foliar, no entanto, trabalhos que utilizaram ZnO e ZnSO<sub>4</sub> como fonte de Zn, mostram que independente da fonte, o Zn é principalmente absorvido na forma solúvel, Zn<sup>+</sup> (LI et al., 2018). Entretanto, existe uma hipótese atual, que diz que a penetração de nanopartículas ocorre pela abertura estomática, além de penetrar através da epiderme das folhas (MALHOTRA et al., 2020). Zhu et al. (2020) demonstrou que em trigo, nanopartículas de ZnO tem como via predominante para atravessar a epiderme das folhas, os estômatos. As nanopartículas acumulam e liberam os íons de Zn no apoplasto, tanto os íons como o ZnO são absorvidos pelas células do mesófilo e entram nas células vegetais (ZHU et al., 2020).

As nanopartículas demonstram ser uma boa opção para melhorar a nutrição das plantas e também reduzir danos de fatores ambientais adversos (LIU et al., 2015). Semida et al. (2021) demonstrou que a aplicação foliar de ZnO nanoparticulado auxilia no alívio dos efeitos do estresse hídrico em berinjelas cultivadas em solo salino, uma vez que promoveu melhorias no crescimento e na produção de frutos. Também foi observada a promoção de alívio em plantas de milho pela pulverização foliar de nanopartículas de ZnO, por melhorias na assimilação de carbono (SUN et al., 2021).

### **3. HIPÓTESE**

A aplicação foliar do micronutriente Zinco (Zn) alivia os efeitos causados pela baixa disponibilidade hídrica em plantas de soja por sua participação na ativação de enzimas do sistema antioxidante, acúmulo de solutos osmoprotetores e defesa do aparato fotossintético.

### **4. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a viabilidade da suplementação com Zinco (Zn) aplicados via foliar na redução dos efeitos deletérios causados pelo déficit hídrico em plantas de soja (*Glycine max* L.).

#### **4.1. Objetivos específicos**

- a. Analisar a influência de duas fontes e doses de Zn no crescimento, fotossíntese, metabolismo antioxidante e produção de plantas de soja sob déficit hídrico e reidratadas;
- b. Identificar se houve efeito benéfico pelas fontes ou doses de Zn frente aos danos causados pelo déficit hídrico;
- c. Verificar se as plantas que foram suplementadas com Zn tiveram uma recuperação mais rápida após a reidratação;
- d. Detectar alterações bioquímicas e metabólicas em folhas e raízes de plantas de soja e sob déficit hídrico e reidratadas;

### **5. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **5.1 Condução dos experimentos**

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4) com 5 repetições e duas plantas por repetição, sendo duas condições hídricas e quatro doses/fontes de Zn. Foram realizadas 3 coletas, durante a condução dos experimentos (Máximo estresse; Reidratação; Produção Final), num total de 120 vasos por experimento e desmontando 40 vasos por coleta. Durante



todo o período experimental, as condições de temperatura e umidade do ar foram monitoradas usando um termohigrômetro digital com *datalogger* da INSTRUTHERM® (modelo HT-500).

A cultivar utilizada foi a Monsoy 5917. Antes da semeadura, as sementes receberam cobalto e molibdênio (YaraVita® Teprosyn™ CoMo) e em seguida foram inoculadas com as estirpes SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*) e SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) para garantir a formação de nódulos nas raízes. Logo após, foram semeadas em vasos de 5 litros contendo um substrato composto pela mistura de solo e areia na proporção 2:1.

Previamente, após a mistura do solo com a areia proporção 2:1 (solo:areia) para melhorar as características de drenagem, foi feita uma amostragem para a determinação dos atributos químicos e da textura (Tabela 1) desse substrato no Laboratório de Análises de Solo do departamento de Ciência do Solo da UFLA.

Tabela 1 - Atributos químicos e textura do substrato.

<b>pH</b>	<b>K</b>	<b>P</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Al</b>	<b>H+Al</b>	<b>P - Rem</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Cu</b>	<b>B</b>	<b>S</b>
-	---- mg/dm <sup>3</sup> ----		---- cmolc/dm <sup>3</sup> ----				mg/L	----- mg/dm <sup>3</sup> -----					
6,4	11	0,05	0,6	0,2	0	1,3	14,3	0,6	61,2	12	1,1	0,05	9,5
<b>SB</b>	<b>t</b>	<b>T</b>	<b>m%</b>			<b>V</b>	<b>M.O.</b>	<b>Argila</b>	<b>Silte</b>	<b>Areia</b>			
	----- cmolc/dm <sup>3</sup> -----		----- % -----				dag/kg	----- dag/kg -----					
0,83	0,83	2,13	0			38,88	0,5	34	1	65			

K<sup>+</sup>: potássio; P: fósforo; Ca<sup>2+</sup>: cálcio; Mg<sup>2+</sup>: magnésio; Al<sup>3+</sup>: alumínio trocável; H+Al: acidez potencial; P-Rem: fósforo remanescente; Zn: zinco; Fe: ferro; Mn: manganês; Cu: cobre; B: boro; S: enxofre; SB: soma de bases; CTC(T): capacidade de troca catiônica total; CTC(t): capacidade de troca catiônica efetiva; V%: saturação por bases; m%: saturação por alumínio; MO: matéria orgânica. Fonte: Do Autor (2021).

O laboratório utiliza para a determinação de P, K, Fe, Zn, Mn e Cu o extrator Mehlich; para Ca, Mg e Al o extrator KCl (1 mol/L); H + Al<sup>+</sup> o extrator SMP; B o extrator é água quente e S o extrator fosfato monocálcio em ácido acético. Quanto ao pH é feito em água, KCl e CaCl<sub>2</sub> (relação 1:2,5) e a matéria orgânica por oxidação (Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 4N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10N).

Após os resultados dos atributos químicos do solo, foi feita a correção da fertilidade do solo segundo Malavolta, 1980 com adaptações de acordo com as exigências da cultura e cultivar. Aproximadamente trinta dias após a emergência das plântulas foram realizadas as aplicações foliares dos micronutrientes, até completo molhamento das plantas, correspondente a 20 mL de calda por vaso, e seguindo as doses propostas na tabela 2. As aplicações foram

feitas utilizando um pulverizador manual Tramontina® de compressão prévia, com capacidade para 2 litros.

Para garantir maior uniformização e padronização das aplicações, foi determinado qual o volume necessário para que cada planta recebesse a quantidade de calda recomendada de acordo com a bula do produto comercial utilizado e levando em consideração a densidade populacional das plantas. Para isso, considerou-se o volume máximo de calda recomendada (200 L de calda/ha) e as seguintes densidades populacionais 300.000 plantas/ha. Posteriormente, foi cronometrado o tempo que o pulverizador liberava em cada planta a quantidade de calda previamente determinada. Feito isso as plantas foram pulverizadas segundo o tempo e volume determinados.

Após a imposição dos tratamentos, as plantas foram mantidas sempre bem hidratadas, mantendo o solo em torno de 80% da capacidade de campo (cc). Dez dias após as aplicações foliares, metade das plantas tiveram sua disponibilidade de água reduzida de forma gradual durante 20 dias, com uma redução de aproximadamente 25% a cada 5 dias, até chegar a 50% da cc, sendo mantidas dessa forma até completar os 20 dias de déficit hídrico. Chegado o vigésimo dia de déficit, considerado o período de máximo estresse, foi realizada a primeira coleta destrutiva para análises bioquímicas e de aspectos biométricos.

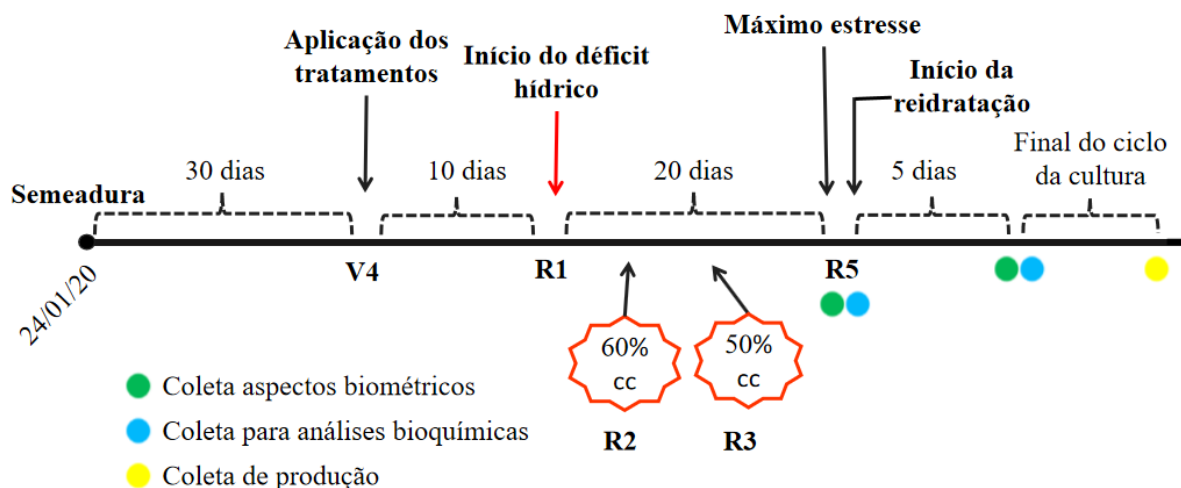
Após a primeira coleta, foi realizada a reidratação das plantas remanescentes, que foram mantidas a 80% da cc por aproximadamente cinco dias, quando foi realizada a segunda coleta destrutiva. As plantas coletadas na coleta de reidratação foram utilizadas para análises bioquímicas, biométricas e análise nutricional das folhas. Um terceiro lote de plantas contendo todos os tratamentos foi mantido até a produção final para determinação de componentes de produção.

**Tabela 2.** Resumo da interação de fatores do experimento.

<b>Tratamento</b>	<b>Disponibilidade hídrica</b>	<b>Fonte</b>	<b>Dose de Zn</b>
<b>1</b>	Irrigado	ZnO - <b>YaraVita Zintrac</b>	Dose 1- 300 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>2</b>	Déficit hídrico	ZnO - <b>YaraVita Zintrac</b>	Dose 1- 300 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>3</b>	Irrigado	ZnO - <b>YaraVita Zintrac</b>	Dose 2- 600 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>4</b>	Déficit hídrico	ZnO - <b>YaraVita Zintrac</b>	Dose 2- 600 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>5</b>	Irrigado	ZnO - <b>YaraVita Zintrac</b>	300 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>6</b>	Déficit hídrico	ZnSO <sub>4</sub>	300 mg Zn L <sup>-1</sup>
<b>7</b>	Irrigado	ZnSO <sub>4</sub>	Nula
<b>8</b>	Déficit hídrico	Água	Nula

Nota: foram considerados n=5 e três coletas: Máximo Estresse, Reidratação e Final. Fonte: Do Autor (2021).

Figura 1 - Linha do tempo das atividades desenvolvidas durante o período experimental.



Sendo que V4 correspondente ao momento em que a planta apresentava quatro nós, R1 o início do florescimento, R2 florescimento pleno, R3 início da formação das vagens e R5 o início do enchimento de grãos, segundo a escala fenológica de Fehr e Caviness, 1997. Fonte: Do Autor (2021).

Para manutenção da porcentagem de água presente nos vasos foi realizada uma curva de calibração da cc, a fim de estimar quanto de água seria necessário repor durante o período experimental. Para isso, utilizou-se o sensor de capacitância para medição do teor de água, modelo ML2x Theta probe (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Reino Unido).

Neste processo foi utilizado em vaso de 5L, mesmo volume utilizado no experimento. O vaso com o substrato utilizado no experimento foi colocado em estufa a 105 °C até atingir peso constante. Logo após, foi medido o valor de voltagem (V) e a massa do vaso com o solo totalmente seco. Em seguida foi aplicado uma quantidade de água (ml) conhecida no recipiente até os poros do solo estarem saturados, verificada quando se notava o vazamento de água no fundo do vaso, então foi medida a V e a massa do solo úmido. Após isso, foi feito o acompanhamento de perda de água pelo solo através das medições com o sensor, convertida de V para  $m^3 \cdot m^{-3}$ , e a balança analítica para plotagem da curva de retenção de água no solo até aproximadamente o peso inicial quando o solo estava totalmente seco.

Dessa forma, foi obtida a equação para o vaso de 5L:

$$y = 1182.1805^{**} \exp^{3.9148^{**}x}; \quad R^2=0.9248^{**}$$

Durante as duas coletas para análises bioquímicas, folhas e raízes foram acondicionadas em nitrogênio líquido para avaliação do metabolismo antioxidante das plantas e atividade da redutase do nitrato. Outra parte das folhas e raízes, foram armazenadas em saco pardo para obtenção da massa seca e determinação de açúcares, aminoácidos e prolina.

Antes das coletas de máximo estresse e reidratação, também foram realizadas medidas com o fluorômetro MultispeQ com parte da plataforma PhotosynQ (Kuhlgert et al., 2016), afim de verificar possíveis danos no aparato fotossintético e verificar o conteúdo de clorofilas, bem como as trocas gasosas (descritas abaixo).

## **5.2 Aspectos biométricos e componentes de produção**

Durante as duas coletas feitas para determinação de aspectos biométricos, foi feito o mensuramento da altura e diâmetro dos colmos ou hastes, número de folhas, área foliar e estruturas reprodutivas. Também foi realizada a partição de biomassa (parte aérea e sistema radicular) após os tecidos serem secos em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C.

O lote de plantas mantido, nos dois experimentos, até o final do ciclo das culturas, foi coletado para avaliação dos componentes de produção, afim de verificar a produtividade dessas culturas ao final dos experimentos.

Na soja foram avaliados os seguintes componentes da produção: número de vagens por planta, número de grãos por vagem, o peso do grão e peso de mil grãos. Também foi realizado o índice de colheita (IC), que é usado para medir a eficiência de conversão dos produtos sintetizados pela planta em material de importância econômica, nesse caso, os grãos de soja. O IC define-se como a razão entre a massa da matéria seca da fração econômica produzida (grão, raiz, fruto) e a fitomassa seca total colhida:  $IC = (\text{Massa do produto de interesse} / \text{MS da planta}) \times 100$ .

## **5.3. Potencial hídrico das folhas**

Medidas do potencial de água nas folhas foram realizadas no pré-amanhecer e às 12:00 horas utilizando uma bomba de pressão do tipo Scholander (PMS Instruments Plant Moisture - Modelo 1000) (SCHOLANDER et al., 1965) no dia da coleta do máximo estresse e na coleta de reidratação das plantas, afim de avaliar a recuperação do status hídrico foliar, as avaliações foram nos horários entre 12:00 e 13:00 horas para obtenção do menor potencial hídrico e entre 4:00 e 5:00 horas, para obtenção do maior potencial hídrico.

#### 5.4. Composição mineral dos tecidos vegetais

Para a avaliação do estado nutricional das plantas, foi feito um *mix* de folhas previamente secas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C e trituradas. As análises foram realizadas no Laboratório da Cooperativa de Cafeicultores da Zona de Três Pontas (COCATREL), que utiliza a metodologia proposta por Malavolta et al. (1997). Através do extrato nítrico-perclórico, foram determinados os teores de P por colorimetria, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn por espectrofotometria de absorção atômica, K por espectrofotometria de chama e S por turbidimetria do sulfato de bário (Malavolta et al., 1997). Os teores de N total foram determinados pelo método semi-micro de Kjeldahl. O boro, após digestão por via seca, foi determinado por colorimetria (método da curcumina) (Malavolta et al., 1997).

#### 5.5. Avaliações das trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

As medidas de trocas gasosas foram realizadas na cultura da soja com um analisador portátil de gases por infravermelho modelo SBA-5 CO<sub>2</sub> Gas Analyser (PP-Systems Inc., Amesbury, MA USA), utilizando um sistema fechado para estimativa de fotossíntese da planta inteira descrita por Sestak et al. (1971), a fim de identificar as alterações em resposta à exposição do déficit hídrico conforme a seguinte equação:

$$A = \frac{C_1 - C_2}{T_1 - T_2} \times V \times \frac{1}{L}$$

Onde:

A = assimilação de CO<sub>2</sub> (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>);

C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> = concentração de CO<sub>2</sub> nos tempos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>;

V = volume total do sistema;

L = área foliar.

As avaliações foram realizadas entre 10:00 e 12:00 horas e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foi mensurada utilizando um quantômetro (modelo Li-190, LI-COR, Lincoln, Neb, EUA) acoplado a um *datalogger* (modelo Li 1400; LI-COR, Lincoln, Neb.) durante as medições.

Medidas da fluorescência da clorofila, índice SPAD, eficiência do fotossistema II (Φ<sub>PSII</sub>), taxa de transporte de elétrons (ETR) e o *quenching* não fotoquímico (NPQt) foram feitas utilizando o fluorômetro MultispeQ com parte da plataforma PhotosynQ (Kuhlgert et al., 2016). As medidas foram realizadas no folíolo central da última folha totalmente expandida no período de máximo estresse e reidratação.

## **5.6. Avaliação do metabolismo antioxidante**

Em cada tempo de coleta (máximo estresse e reidratação), folhas maduras e novas que nasceram após a imposição dos tratamentos, e também raízes, foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e depois transferidas para ultrafreezer a -80 °C para posterior determinação da atividade total da redutase do nitrato e das enzimas do metabolismo antioxidante: catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX). Também para a determinação do conteúdo de proteínas totais, peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e estimativa da peroxidação lipídica por meio da quantificação do conteúdo de malonaldeído (MDA).

## **5.7. Peroxidação lipídica e conteúdo de peróxido de hidrogênio**

Para a estimativa da peroxidação lipídica e a determinação do conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nos tecidos vegetais, foi obtido o extrato bruto a partir de 0,3 g de tecido foliar e radicular congelado, que foram finamente macerados em almofariz com nitrogênio líquido. Logo após, foram homogeneizados em 1,5 mL de TCA e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4°C para coleta do sobrenadante.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi determinado medindo-se a absorvância a 390 nm em um meio de reação, contendo 45 µL tampão fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0, 45 µL do extrato e 90 µL de iodeto de potássio 1M (VELIKOVA et al., 2000). A quantificação foi realizada, com base na curva padrão de peróxido de hidrogênio, com concentrações conhecidas.

A peroxidação lipídica foi estimada pela detecção do malonaldeído (MDA), conforme descrito por Buege e Aust (1978). Alíquotas (125 µL) do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação, contendo 250 uL do seguinte meio de reação: 0,5% (m/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10% (m/v) de TCA, incubando-se, em seguida, a 95°C, por 30 minutos em tubos para centrifugação de 2,5 mL. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm. A concentração do complexo MDA/TBA foi então calculada pela seguinte equação:  $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\epsilon \cdot b)$ , em que:  $\epsilon$  (coeficiente de extinção =  $1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}$ );  $b$  (comprimento ótico = 1).

## **5.8. Extrato proteico e atividade de enzimas do sistema antioxidante**

Para obtenção do extrato bruto de proteínas para a quantificação de proteínas, atividades de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), 0,2 g de tecido vegetal foram macerados em almofariz com nitrogênio líquido e 2% de polivinilpirrolidona (PVPP). Logo após, foram homogeneizados em microtubo que continha 1,5 mL de uma solução com fosfato de potássio 400 mM, pH 7,8, EDTA 10 mM, ácido ascórbico 200 mM e água. Em seguida foram centrifugados a 13.000 g por 10 minutos, a 4°C para coleta do sobrenadante (BIEMELT et al., 1998). Para a quantificação de proteínas solúveis totais foi utilizado o método descrito por Bradford (1976), utilizando como corante o reagente Bradford BG-250.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), em um meio de incubação composto por 100 µL de fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, 40 µL de metionina 70 mM, 3 µL de EDTA 10 mM, 15 µL de NBT 1 mM, 2 µL de riboflavina 0,2 mM e 31 µL de água. As microplacas com o meio de reação e amostra foram iluminados por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20 W. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi feito com a seguinte equação: % de inibição = (A560 amostra com extrato enzimático – A560 controle sem enzima)/(A560 controle sem enzima). Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições do ensaio (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977).

Quanto a atividade da CAT, essa foi quantificada segundo Havir e McHale (1987), em que uma alíquota do extrato enzimático foi adicionada a 180 µL do meio de incubação, contendo 90 µL de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 µL de peróxido de hidrogênio 250 mM e 72 µL de água, incubado a 28 °C. A atividade dessa enzima foi determinada pelo decréscimo na absorbância, a 220 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de extinção molar utilizado foi 36 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

Já a atividade da APX foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos. Uma alíquota do extrato enzimático será adicionada a 180 µL de tampão de incubação, composto por 90 µL de fosfato de potássio 200 mM (pH 7,0), 9 µL de ácido ascórbico 10 mM, 9 µL de peróxido de hidrogênio 2 mM e 63 µL de água (NAKANO; ASADA, 1981). O coeficiente de extinção molar utilizado foi 2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

### **5.9. Determinação da atividade da enzima Redutase do Nitrato**

Para a realização do ensaio enzima Redutase do Nitrato (RN), o extrato enzimático foi obtido a partir da maceração de 0,5 g de massa fresca de folhas e 0,625 de raízes em nitrogênio líquido, adicionando 2,5 mL de tampão de extração contendo tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), PMSF 1 mM, EDTA 5 mM e DTT 2 mM. O extrato foi centrifugado a 16.000 g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante será coletado para a incubação.

A atividade da RN foi determinada utilizando protocolo descrito por Berges e Harrison (1995). O extrato foi adicionado ao meio de reação constituído por tampão fosfato 0,1 M, pH 7,5,  $\beta$ -NADH 0,2 mM e  $\text{KNO}_3$  10 mM. A reação foi iniciada pela adição de NADH, após a incubação do meio, por 3 minutos, a 30 °C. A oxidação do NADH foi monitorada pelo decréscimo da absorbância em 340 nm, durante 20 minutos, em intervalos de 1 minuto e a quantificação foi feita a partir dos 10 minutos de decaimento.

### **5.10. Determinação de carboidratos e aminoácidos**

Os carboidratos foram extraídos da matéria seca de folhas e raízes pela homogeneização de 0,2 g de massa seca moída em 10 mL de tampão fosfato de potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40 °C. O extrato foi centrifugado a 5.000 rpm por 10 minutos, coletando-se o sobrenadante.

Para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST), foi utilizado o método da Antrona (DISCHE, 1962) e para os açúcares redutores o protocolo descrito por Miller (1959), por meio do método de DNS. O amido foi quantificado através do método proposto por Zanandrea et al. (2010). Para aminoácidos foi utilizado o protocolo descrito por Yemm, Coccking e Ricketts (1955) que realiza a quantificação pelo método da ninhidrina.

### **5.11. Conteúdo de prolina**

A extração de prolina foi realizada segundo Bates et al. (1973), com adaptações. Em que 0,1g do material vegetal seco (folhas e raízes) foi homogeneizado e macerado com 5mL de ácido sulfosalicílico 3% e acondicionados em tubo falcon de 15 mL. Logo após, os tubos foram agitados a temperatura ambiente por 60 min e em seguida centrifugado a 5000 rpm por 10min para coleta do sobrenadante. O conteúdo de prolina foi determinado em tubos de ensaio pela reação com a amostra, reagente ninhidrina (2,5g de ninhidrina, 60 mL de ácido acético e 40 mL de ácido fosfórico 6M), água e ácido acético por 60 minutos a 100 °C. A



reação foi interrompida em banho de gelo e a concentração de prolina foi determinada a partir de uma curva padrão (BATES et al., 1973).

### 5.12. Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilkà, homogeneidade de variância de Levene no software estatístico R-studio. Foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos testados (teste F,  $p < 0,05$ ). Quando detectadas diferenças significativas, foram realizados testes de media para comparação dos tratamentos (Tukey,  $p < 0,05$ ), utilizando o software estatístico Rbio versão 137 (BHERING, 2017).

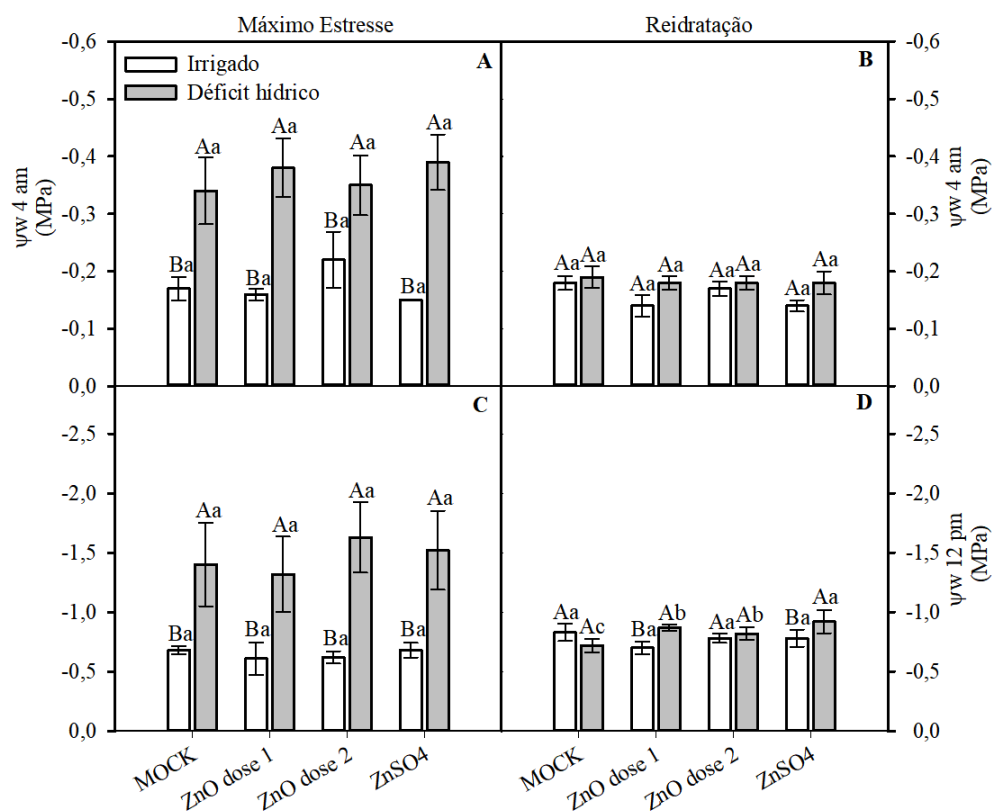
## 6. RESULTADOS

### 6.1. Potencial hídrico

No período de máximo estresse foi observado que as plantas mantidas sob déficit hídrico apresentaram menores valores de potencial hídrico foliar na antemã e após o meio dia ( $\Psi_w$ ) (Figura 2A; 2C). Isso demonstra que as plantas mantidas a 50% da cc estavam de fato passando por uma menor disponibilidade hídrica em relação as plantas mantidas a 80% da cc.

No período de reidratação não houve diferença no  $\Psi_w$  da antemã (Figura 2B) entre as condições hídricas e nem entre os tratamentos com Zn. No entanto, após o meio dia ocorreu diferença entre as condições hídricas para as plantas que passaram por déficit hídrico e tratadas com a dose 1 e  $ZnSO_4$ , apresentando menores valores (Figura 2D). Entre as plantas que passaram por déficit hídrico as tratadas com a fonte de  $ZnSO_4$  apresentaram menor valor. Já entre as irrigadas não foi observado diferenças entre os tratamentos.

Figura 2 - Potencial hídrico da antemã ( $\Psi_w$  4am; em A, B), tarde ( $\Psi_w$  12pm; em C, D) no período de máximo estresse e reidratação em plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> e 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o  $ZnSO_4$ .



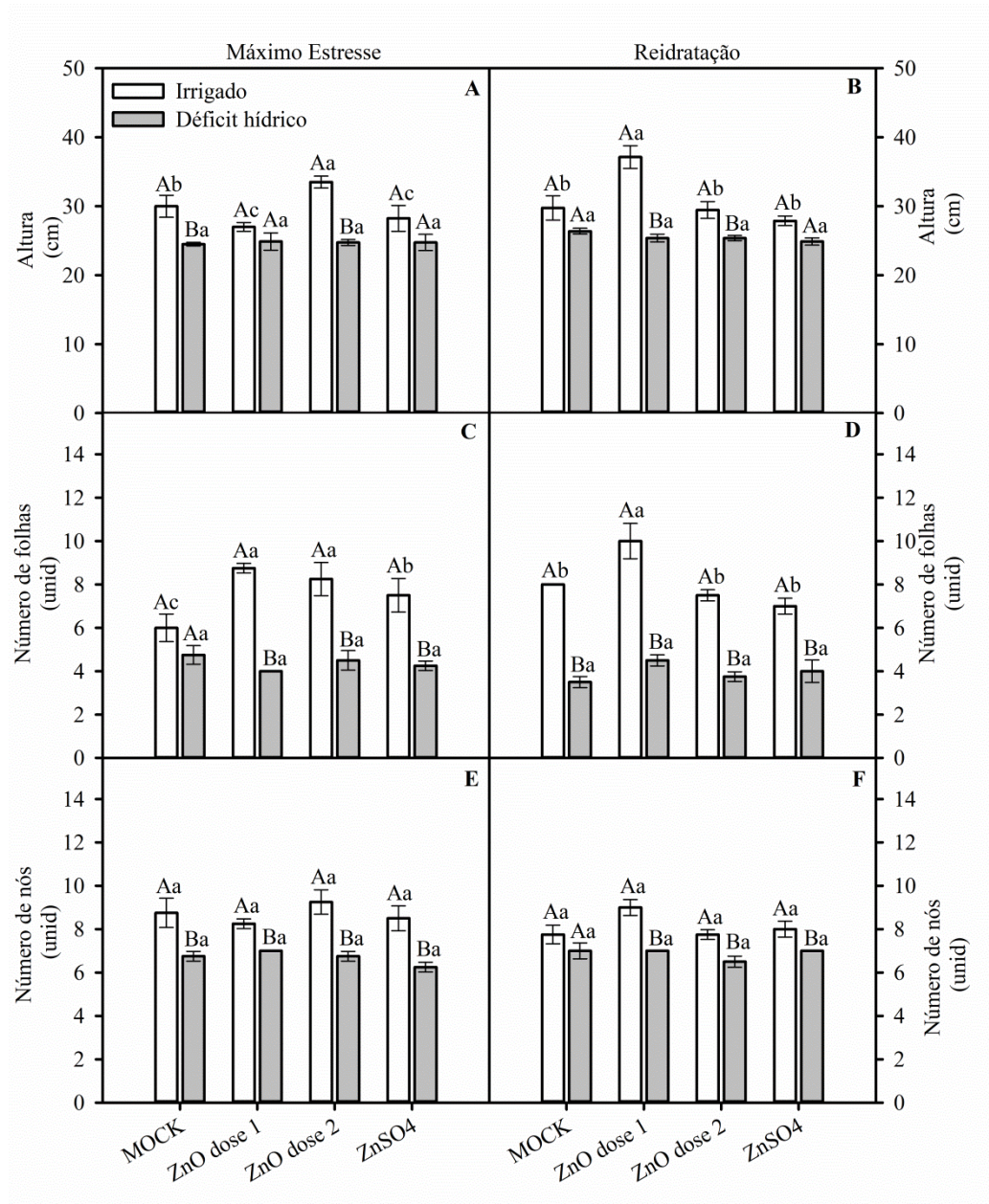
Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5 \pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

## 6.2. Aspectos Biométricos

No período de máximo estresse, para os tratamentos MOCK e dose 2 de Zn foi observada redução na altura das plantas submetidas ao déficit hídrico (Figura 3A). No período de reidratação as plantas tratadas com a dose 2 de Zn mantiveram a altura reduzida, havendo redução também para altura das plantas tratadas com a dose 1 nesse período (Figura 3B). Já as plantas tratadas com ZnSO<sub>4</sub>, não apresentaram redução na altura no período de déficit hídrico e nem no período de reidratação (Figura 3A; 3B). Observando os tratamentos dentro da condição irrigada no período de máximo estresse, as plantas tratadas com a dose 2 de ZnO apresentaram maior altura, enquanto as tratadas com a dose 1 e com ZnSO<sub>4</sub> menor. Já no período de reidratação dentro da condição irrigada as plantas tratadas com a dose 1 de ZnO apresentaram maior altura (Figura 3A; 3B). Dentro da condição de déficit hídrico, não houve diferença entre os tratamentos com Zn no período de máximo estresse e nem no de reidratação (Figura 3A; 3B).

Quanto ao número de folhas e número de nós (Figura 3C; 3E), as plantas mantidas sob déficit hídrico apresentaram menor número em todas as doses e fonte de Zn, tanto no período de máximo estresse quanto no de reidratação, exceto as tratadas com MOCK que não se diferiram das irrigadas no período de máximo estresse para o número de folhas e no período de reidratação para número de nós (Figura 3F). Dentro da condição irrigada no período de máximo estresse, as plantas tratadas com MOCK foram as que apresentaram o menor número de folhas em relação as fontes e doses de Zn, enquanto que no período de reidratação, a dose 1 de Zn apresentou maior número de folhas e não houve diferenças para número de nós. Já dentro da condição de restrição hídrica não houve diferenças entre as fontes e doses de Zn em nenhum dos períodos tanto para número de folhas quanto para número de nós.

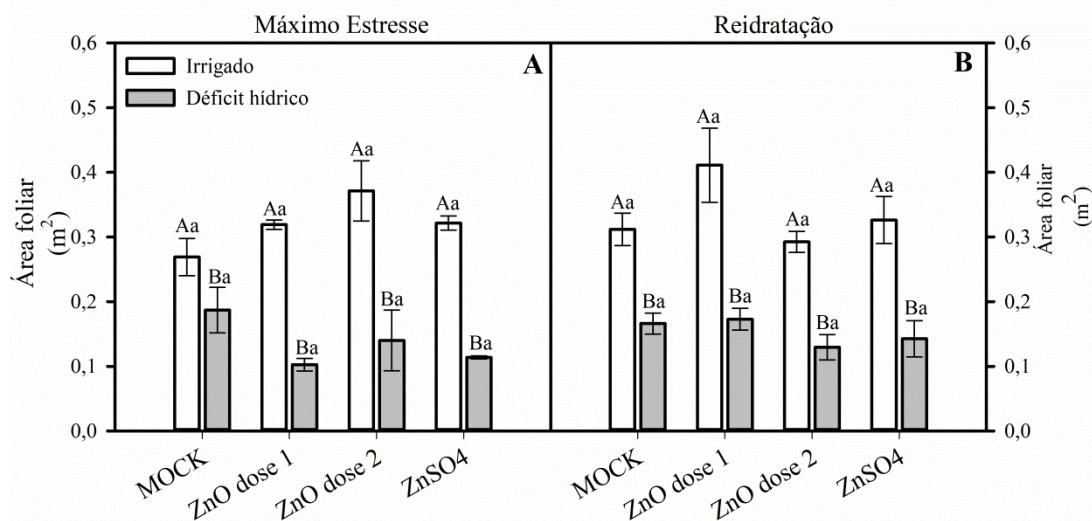
Figura 3 - Altura de planta (A, B), número de folhas (C, D) e número de nós (E, F) em plantas de soja no período de máximo estresse e de reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 2) utilizando como fonte o ZnO e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5 \pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

A área foliar tanto na coleta de máximo estresse (Figura 4A) quanto de reidratação (Figura 4B), se diferiu apenas com relação a condição hídrica, em que plantas irrigadas apresentaram maior área foliar, independente da dose ou fonte de Zn.

Figura 4 - Área foliar em plantas de soja no período de máximo estresse (A) e após reidratação (B), submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 2) utilizando como fonte o ZnO e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

Com relação a massa seca da parte aérea (Figura 5A), plantas irrigadas apresentaram maior massa seca independente da fonte ou dose de Zn, entretanto, dentre as plantas mantidas sob irrigação as que receberam a aplicação da dose 2 de ZnO apresentaram maior massa e as que receberam aplicação da dose 1 e de MOCK a menor. Em contrapartida, as plantas mantidas sob déficit hídrico não apresentaram diferença entre as fontes e doses de Zn.

Já na coleta de reidratação (Figura 5B) foi possível observar que também as plantas mantidas hidratadas tiveram maior massa seca de parte aérea. Dentro da condição irrigada, a dose 1 de ZnO foi a que apresentou maior massa seca e a dose 2 e o tratamento com MOCK a menor. Não houve diferença entre os tratamentos dentro das plantas que passaram por déficit hídrico.

Quanto a massa seca de folhas durante o máximo estresse (Figura 5C), apenas o tratamento MOCK não apresentou diferença em relação a condição hídrica. Entretanto, dentro da condição irrigada, a dose 2 de ZnO foi a que apresentou maior massa seca de folhas enquanto as demais não se diferiram. Já dentro da condição de déficit hídrico não houve diferenças entre as fontes e doses. Após a reidratação, as plantas que passaram por déficit

hídrico, mantiveram menor massa seca de folhas (Figura 5D). Já dentro das plantas que mantiveram irrigadas as com aplicação da dose 1 de ZnO apresentaram maior massa seca de folhas.

A massa seca do caule em plantas irrigadas que receberam a dose 2 de ZnO e ZnSO<sub>4</sub> foi maior em relação as plantas sob déficit hídrico do mesmo tratamento, assim como em relação aos demais tratamentos dentro da condição irrigada (Figura 5E). Em contrapartida, dentro da condição de déficit hídrico, não houve diferenças entre as fontes e doses de Zn.

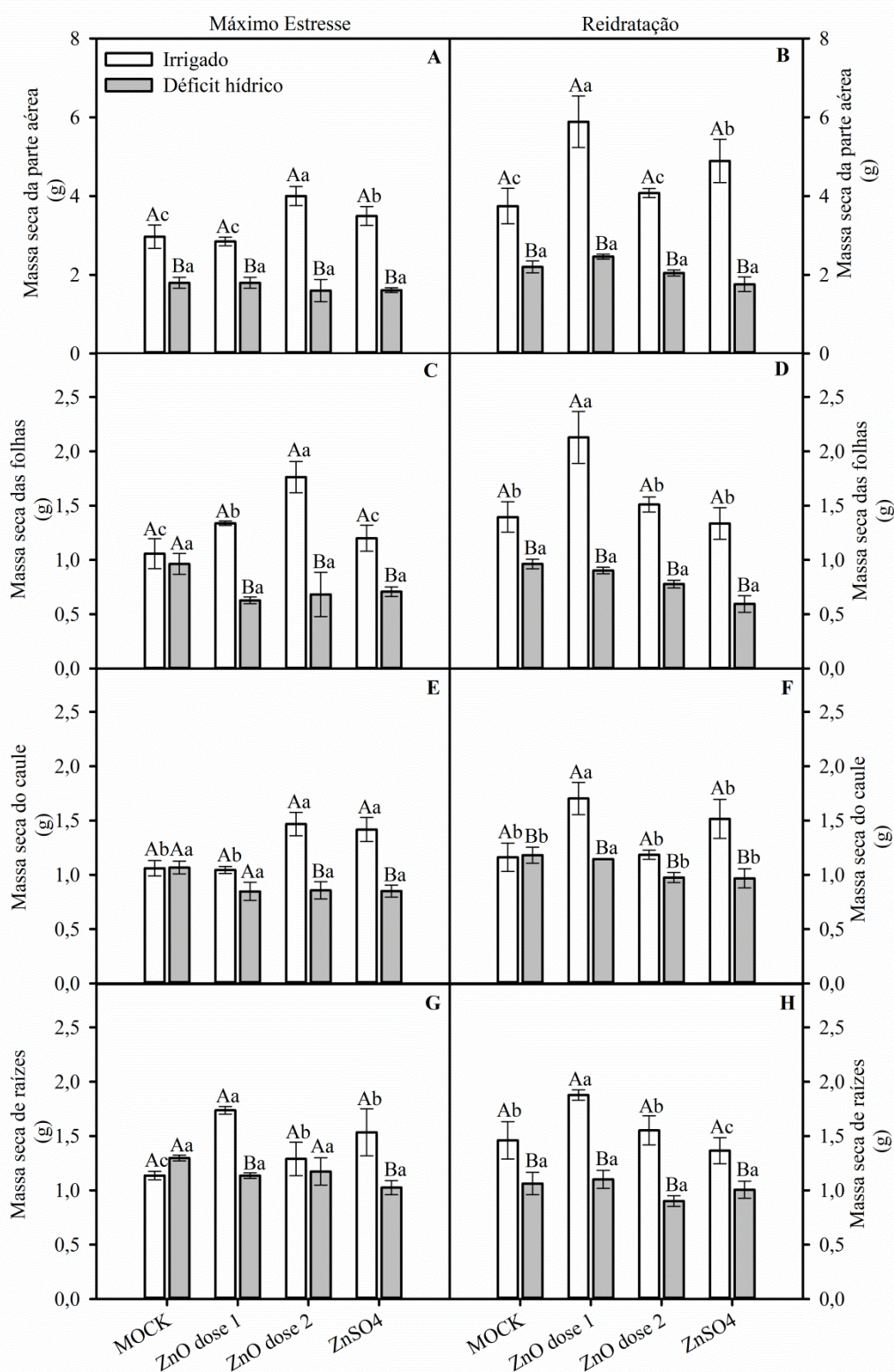
Durante o período de reidratação, as plantas que mantiveram irrigadas tiveram a maior massa seca do caule quando comparadas com as que foram reidratadas, exceto para o tratamento com MOCK que não apresentou diferença. Foi observado que tanto as plantas mantidas irrigadas quanto as que foram reidratadas e submetidas ao tratamento com a dose 1 de ZnO, apresentaram maior massa seca de caule (Figura 5F).

No período de máximo estresse, plantas que receberam a aplicação de apenas água (MOCK) e da dose 2 de ZnO não apresentaram diferença na massa seca de raízes em relação a condição hídrica (Figura 5G). Entretanto, dentro da condição irrigada as plantas desses dois tratamentos apresentaram menor massa seca de raízes, enquanto as plantas que receberam a dose 1 de ZnO obtiveram maior valor. Dentro da condição de déficit hídrico não houve diferenças na massa seca de raízes entre as fontes e doses de Zn.

Em contrapartida, após o período de reidratação, as plantas que mantiveram irrigadas apresentaram maior massa seca de raízes do que as que passaram por déficit hídrico. As plantas que mantiveram irrigadas e com a dose 1 de Zn, obtiveram maior massa seca em relação aos demais tratamentos (Figura 5H).

Figura 5 - Massa seca da parte aérea (A, B), massa seca de folhas (C, D), massa seca do caule (E, F) e massa seca de raízes (G, H) em plantas de soja no período de máximo estresse e de reidratação e submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 2) utilizando como fonte o ZnO e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.





Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (n=5±dp). Fonte: Do Autor (2021).

### 6.3. Avaliação do metabolismo antioxidante

Os maiores níveis de  $H_2O_2$  nas folhas em todas as doses e fontes de Zn, foram observados em plantas sob déficit hídrico, exceto pela dose 2 de ZnO que não se diferiu quanto a condição hídrica. Dentro da condição de déficit hídrico, essa dose, apresentou menor nível de  $H_2O_2$ , enquanto que na condição irrigada não houve diferenças entre as doses e fontes (Figura 6A). Após o período de reidratação, houve diferenças apenas quanto a condição hídrica, em que plantas que passaram por déficit hídrico e tratadas com a dose 1 de ZnO mostraram maiores níveis de  $H_2O_2$  nas folhas (Figura 6B).

Nas raízes das plantas coletadas no máximo estresse, não houve diferenças nos conteúdos de  $H_2O_2$ , nem relação a condição hídrica nem em relação aos tratamentos com Zn (Figura 6C). No entanto, após a reidratação as plantas mantidas irrigadas apresentaram os maiores níveis de  $H_2O_2$ , exceto a dose 1 de ZnO que não apresentou diferença. Dentro da condição irrigada e na condição de déficit hídrico o tratamento com MOCK exibiu os maiores níveis assim como o tratamento com a dose 1 de Zn na condição de déficit hídrico. (Figura 6D).

Já o conteúdo de malondeialdeído (MDA) nas folhas de plantas coletadas no máximo estresse e que receberam a dose 2 de ZnO, não se diferiu entre plantas irrigadas e sob déficit hídrico, entretanto nas demais doses e fontes, folhas de plantas sob déficit tiveram o maior conteúdo de MDA. Dentro da condição hídrica de déficit hídrico o tratamento com  $ZnSO_4$  apresentou maior valor e dentro da condição irrigada foi a dose 2 de Zn (Figura 6E).

Após a reidratação, plantas que passaram por déficit hídrico e com aplicação de MOCK e de dose 2 de ZnO, demonstraram o maior conteúdo de MDA nas folhas do que plantas que mantiveram irrigadas. Apenas dentre as plantas reidratadas, as com aplicação da fonte  $ZnSO_4$  apresentaram menor conteúdo de MDA, enquanto em plantas que mantiveram irrigadas as tratadas com MOCK (Figura 6F).

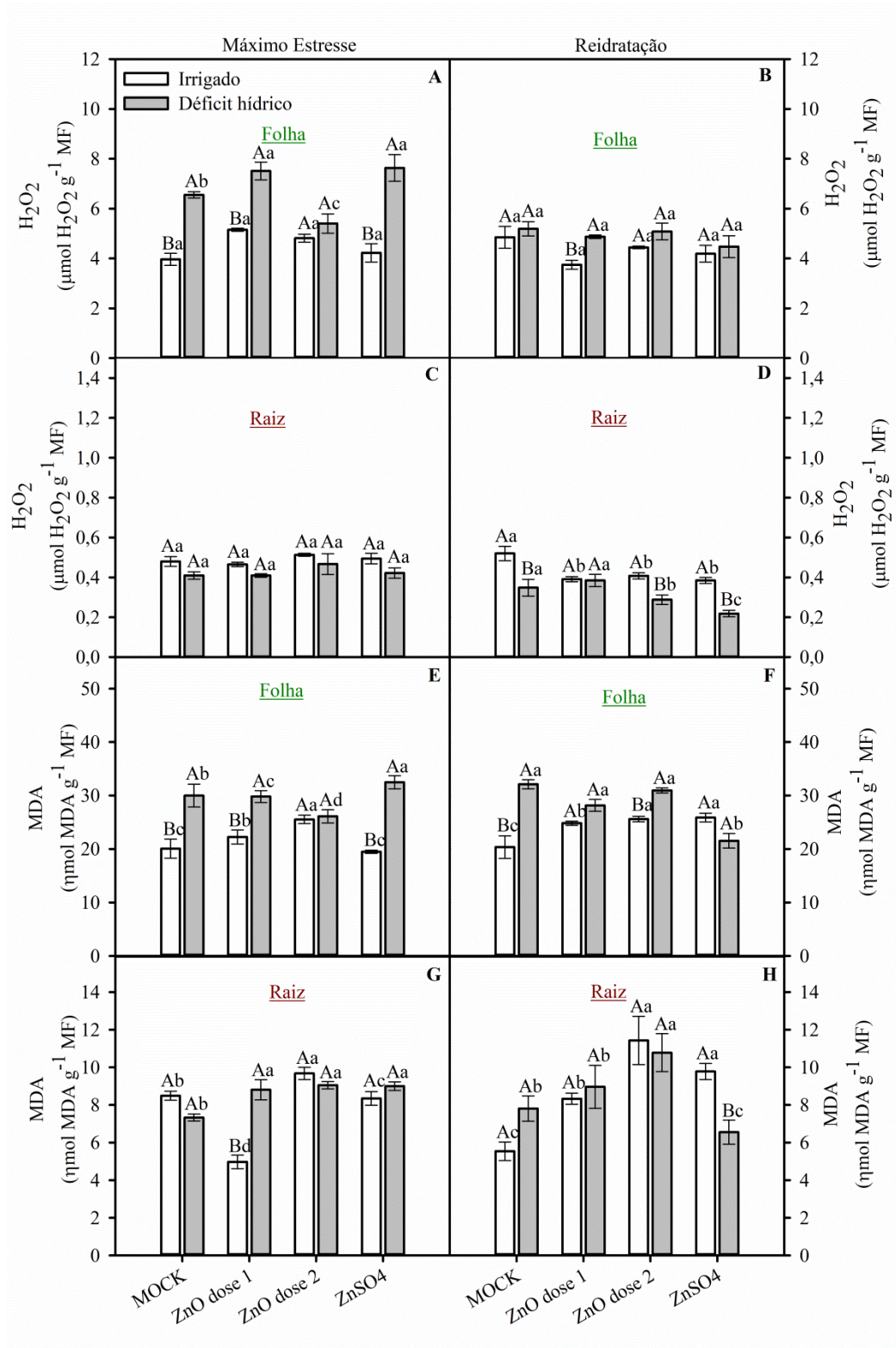
Com relação ao conteúdo de MDA de raízes no máximo estresse, apenas a dose 1 de ZnO apresentou maior MDA nas plantas sob déficit hídrico, enquanto as demais não se diferiram. Porém, se observar apenas dentro da condição de déficit hídrico o tratamento com MOCK foi o que apresentou menor conteúdo de MDA, enquanto as demais fontes e doses não se diferiram. Já nas raízes de plantas irrigadas o maior conteúdo foi encontrado na dose 2 de ZnO e menor na dose 1 (Figura 6G).

Já após a reidratação o tratamento com MOCK, as doses 1 e 2 de ZnO não demonstraram diferença entre as plantas quanto a condição hídrica, enquanto a dose da fonte



ZnSO<sub>4</sub> teve o maior conteúdo nas plantas mantidas irrigadas. Já nas plantas que passaram por déficit hídrico, a dose 2 apresentou maior valor, enquanto que nas plantas mantidas irrigadas, a dose 2 de ZnO e a dose de ZnSO<sub>4</sub> foram as que apresentaram maior conteúdo de MDA nas raízes (Figura 6H).

Figura 6 - Conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em folhas (A, B), raízes (C, D) e conteúdo de MDA em folhas (E, F) e raízes (G, H) em plantas de soja submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> (dose 2) utilizando como fonte o ZnO e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

Com relação a atividade da enzima dismutase do superóxido (SOD) em folhas (Figura 7A), as doses 1 e 2 de ZnO, não exibiram diferença entre plantas quanto a condição hídrica, enquanto MOCK e ZnSO<sub>4</sub> apresentaram a maior atividade em plantas sob déficit hídrico. Dentro da condição irrigada, plantas que receberam ZnSO<sub>4</sub>, tiveram a maior atividade, enquanto os demais não se diferiram. Dentro da condição de déficit hídrico, as plantas com aplicação com essa fonte também apresentaram maior atividade da SOD e a dose 2 de ZnO menor.

Porém depois da reidratação, a atividade SOD nas folhas de plantas que passaram por déficit hídrico não se diferiu das sempre irrigadas, exceto pela dose 2 de ZnO que exibiu menor atividade nas que passaram por um período de menor disponibilidade hídrica. Independente da condição hídrica, MOCK e a dose 1 de ZnO apresentaram maiores atividades e os demais tratamentos não se diferiram (Figura 7B).

Para a atividade da catalase (CAT) em folhas (Figura 7C) o tratamento com MOCK e a dose 2 de ZnO não demonstraram diferenças em relação a condição hídrica. Já a dose 1 de ZnO e a dose de ZnSO<sub>4</sub> tiveram maior atividade nas folhas de plantas sob déficit hídrico. Dentro da condição de déficit hídrico, a maior atividade da CAT em folhas foi observada em plantas que receberam a aplicação com ZnSO<sub>4</sub>, seguido pelas doses 1 e 2 de ZnO. O tratamento com MOCK apresentou menor atividade. Já dentro da condição irrigada, a dose 2 de ZnO e a dose de ZnSO<sub>4</sub> tiveram a maior atividade e as demais não se diferiram.

Entretanto, após passarem por reidratação as folhas tiveram a menor atividade da CAT quando comparadas com as que foram mantidas irrigadas apenas nas MOCK e nas que receberam a dose 2 de ZnO. Sendo que, a dose 1 de ZnO teve a maior atividade e a dose 2 a menor atividade tanto em plantas reidratadas quanto nas que não passaram por déficit hídrico (Figura 7D).

Uma maior atividade de ascorbato peroxidase (APX) em folhas foi observada em plantas sob déficit hídrico em relação as irrigadas nos tratamentos MOCK e com ZnSO<sub>4</sub>, já a dose 1 e 2 de ZnO não demonstraram diferença da atividade da APX entre plantas irrigadas e submetidas ao déficit. Já dentro da condição de déficit hídrico as maiores atividades foram observadas no MOCK, dose 1 e 2 de ZnO, e a menor na dose de ZnSO<sub>4</sub>. Dentro da condição irrigada a dose 1 e 2 de ZnO continuaram com a maior atividade, enquanto MOCK e ZnSO<sub>4</sub> as menores (Figura 7E).

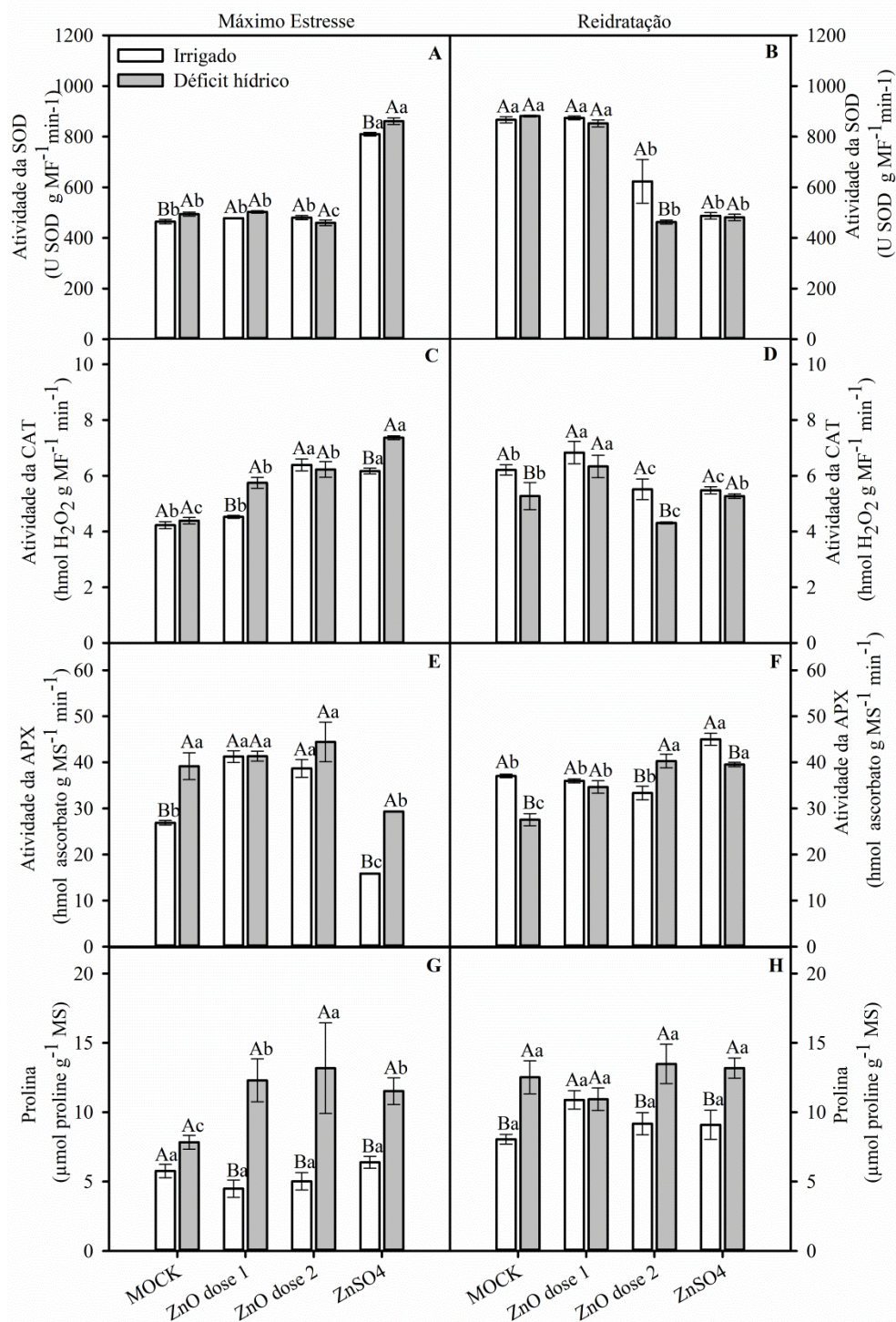
Porém, após a reidratação folhas de plantas que foram submetidas ao déficit hídrico apresentaram maior atividade no tratamento MOCK, na dose 2 de ZnO e na fonte ZnSO<sub>4</sub>,

enquanto na dose 1 a condição continuou não interferindo na atividade dessa enzima. Porém, dentre as plantas reidratadas a dose 2 e a fonte  $ZnSO_4$  exibiram as maiores atividades e MOCK a menor. Já dentre as plantas sempre bem irrigadas, a fonte  $ZnSO_4$  foi a com maior atividade da APX enquanto as demais não se diferiram (Figura 7F).

Com relação ao conteúdo de prolina nas folhas, na coleta de máximo estresse (Figura 7G) exibiram maior conteúdo de prolina nas plantas que passaram por uma escassez hídrica apenas nas plantas suplementadas, enquanto MOCK não se diferiu, sendo que a dose 1 foi a que apresentou maior conteúdo e MOCK. Já após a reidratação (Figura 7H), apenas houve diferença na condição hídrica, em que plantas sob déficit hídrico apresentaram maior conteúdo de prolina, exceto pela dose 1 de ZnO em que o conteúdo de prolina nas folhas após a reidratação não se diferiram das irrigadas.

Figura 7 - Atividade da SOD (A e B), CAT (C e D), APX (E e F) e conteúdo de prolina (G e H) nas folhas de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o  $ZnSO_4$ .





Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

Nas raízes de plantas coletadas no máximo estresse, MOCK e a dose 1 de ZnO apresentaram maior atividade da SOD em plantas irrigadas quando comparadas com as

submetidas ao déficit hídrico, enquanto que a dose 2 de Zn apresentou maior atividade nas plantas submetida ao déficit hídrico. Porém, se considerar apenas a condição irrigada, a maior atividade da SOD foi obtida na dose 1 de ZnO, seguido por MOCK. Já nas que foram submetidas ao déficit hídrico, as maiores atividades foram encontradas na dose 2 de ZnO enquanto as menores foram encontradas no tratamento com ZnSO<sub>4</sub> (Figura 8A).

Entretanto, após o período de reidratação, plantas que passaram por déficit hídrico apresentaram maior atividade da SOD em raízes apenas na dose 2 de ZnO, enquanto as demais fontes e doses não se diferiram quanto a condição hídrica. Ao analisar apenas dentro da condição irrigada, plantas que receberam a fonte ZnSO<sub>4</sub> exibiram maior atividade da SOD, enquanto MOCK e a dose 1 de ZnO as menores. Dentre as plantas que foram reidratadas, as que receberam apenas água e a dose 1 de ZnO também apresentaram menor atividade, enquanto a dose 2 e a fonte ZnSO<sub>4</sub> demonstraram as maiores atividades (Figura 8B).

Para a atividade da CAT em raízes, o tratamento com MOCK e com a dose 1 de ZnO demonstrou diferença quanto a condição hídrica, em que raízes de plantas irrigadas tiveram a maior atividade. Observando dentro da condição irrigada, esses dois tratamentos também exibiram as maiores atividades da CAT em suas raízes, enquanto as demais não se diferiram. Porém dentro da condição de déficit hídrico as maiores atividades foram observadas no tratamento com MOCK e na fonte ZnSO<sub>4</sub>, já a menor foi encontrada na dose 2 de ZnO (Figura 8C).

A atividade da CAT em raízes de plantas que passaram por reidratação e tratadas com MOCK apresentaram menor atividade, quando comparadas com as que mantiveram irrigadas, sendo que os demais tratamentos não se diferiram. Foi observado que tanto dentre as plantas reidratadas quanto as irrigadas, a dose 1 de ZnO foi a que exibiu a maior atividade da CAT nas raízes sendo que as demais doses e fontes não se diferiram (Figura 8D).

Quanto a atividade da APX em raízes de plantas coletadas no máximo estresse, não houve diferença quanto a condição hídrica. Já quando as plantas são comparadas dentro de cada condição hídrica, foi observado que as duas doses da fonte ZnO apresentaram as maiores atividades dessa enzima (Figura 8E).

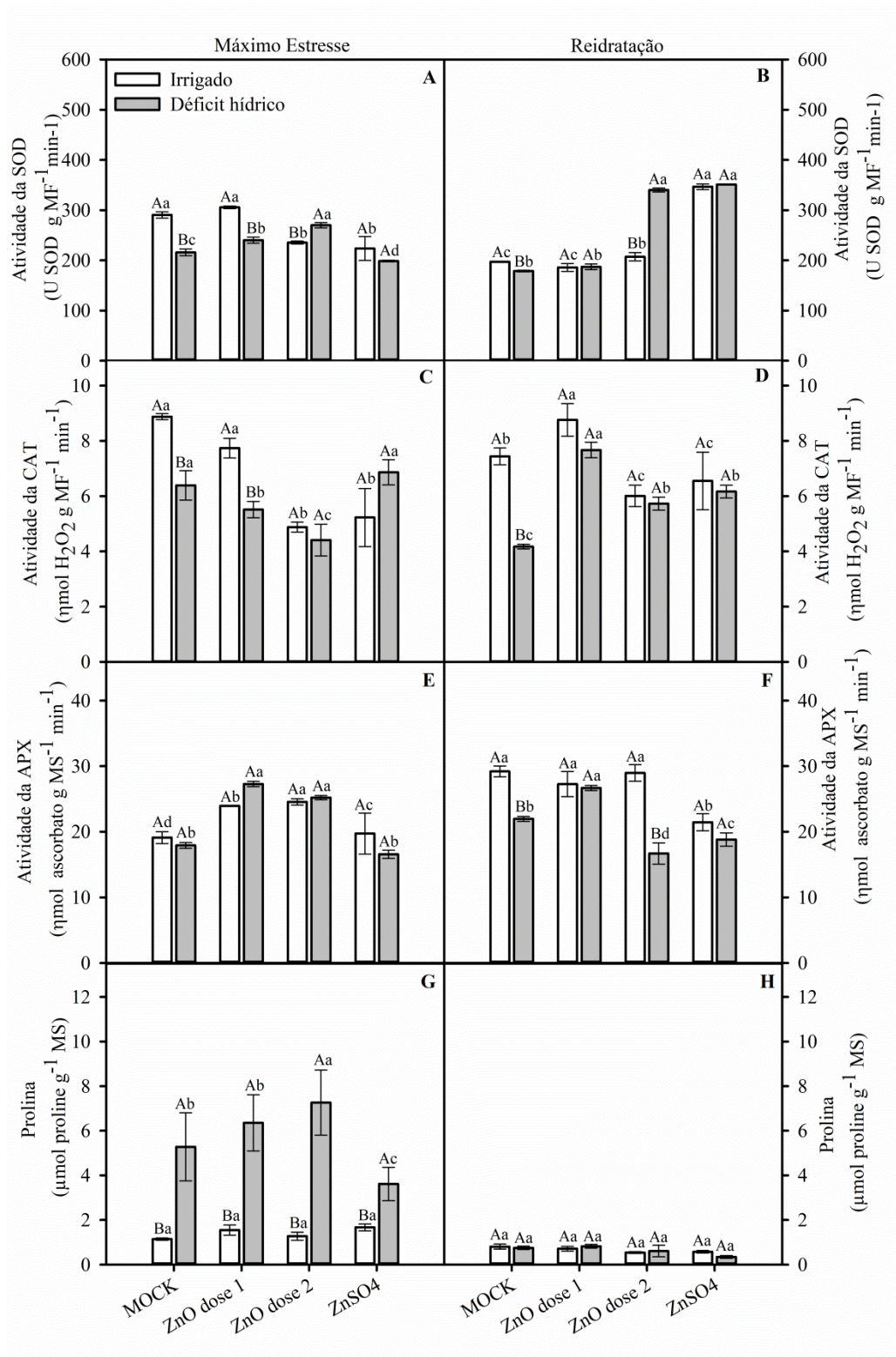
Porém após serem reidratadas, as plantas tratadas com MOCK e que receberam a dose 2 de ZnO mostraram a menor atividade da APX em suas raízes, enquanto as demais não tiveram diferença no que diz respeito a condição hídrica. Todavia a menor atividade da APX em raízes de plantas mantidas irrigadas foi obtida na fonte ZnSO<sub>4</sub> enquanto as demais não se diferiram. Em contrapartida, dentre as plantas que foram submetidas ao déficit hídrico, as que

receberam a dose 1 de ZnO mostraram ter a maior atividade, ao passo que a dose 2 e a fonte ZnSO<sub>4</sub> apresentaram menor atividade (Figura 8F).

O conteúdo de prolina em raízes de plantas coletadas no máximo estresse, sob déficit hídrico tiveram o maior conteúdo (Figura 8G). Dentro da condição hídrica, apenas o tratamento com ZnSO<sub>4</sub> nas plantas sob déficit hídrico apresentaram menor valor. Após a reidratação não houve diferenças nem quanto a condição hídrica e nem dentre os tratamentos em cada condição (Figura 8H).

Figura 8 - Atividade da SOD (A e B), CAT (C e D), APX (E e F) e conteúdo de prolina (G e H) nas raízes de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.





Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).



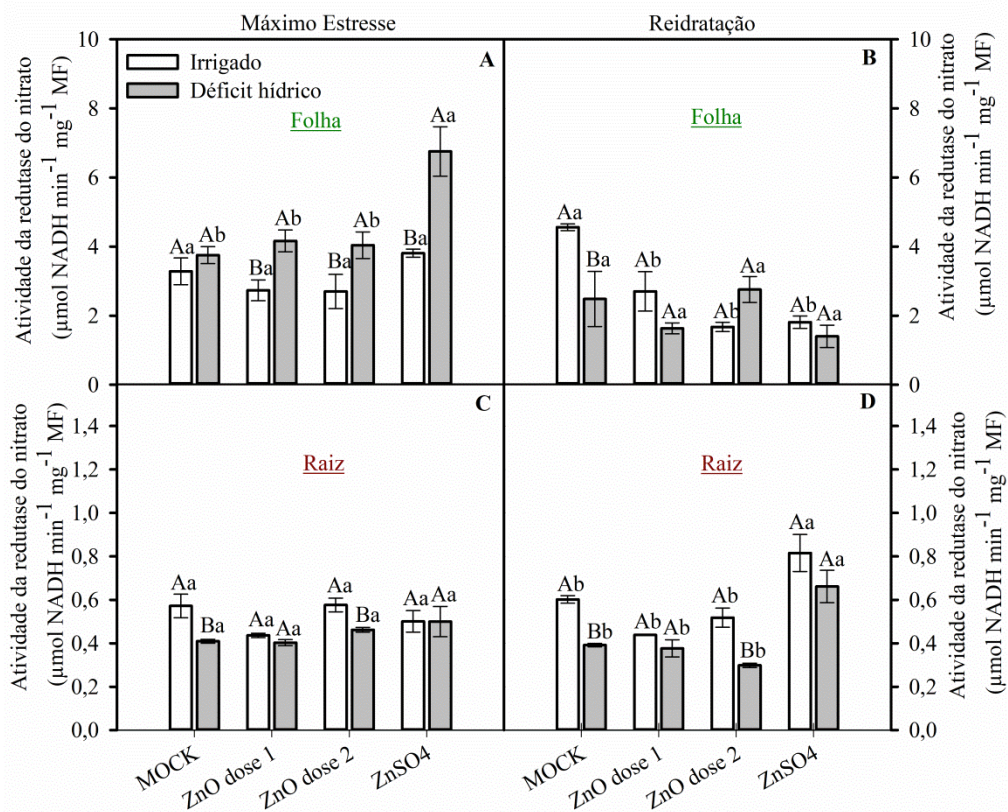
#### 6.4. Atividade da redutase do nitrato em folhas e raízes

Na coleta de máximo estresse, a atividade da redutase do nitrato (RN) em folhas (Figura 9A) foi maior em plantas sob déficit hídrico e que receberam a suplementação com Zn, enquanto as plantas tratadas com MOCK não se diferiram quanto a condição hídrica. Dentro da condição irrigada não houve diferenças na atividade da RN quanto a fonte e dose de Zn, porém dentro do déficit hídrico folhas de plantas tratadas com a fonte  $\text{ZnSO}_4$  tiveram a maior atividade enquanto as demais não se diferiram.

Após o período de reidratação, não houve diferenças quanto a condição hídrica, exceto para o tratamento com MOCK, em que folhas de plantas que mantiveram irrigadas exibiram a maior atividade da RN. Dentro da condição irrigada, o tratamento com MOCK apresentou a maior atividade enquanto as demais doses e fontes de Zn não se diferiram. Já na condição de reidratação não houve diferenças na atividade da RN de folhas, independente da dose ou fonte de Zn (Figura 9B).

Nas raízes da coleta de máximo estresse, só houve diferenças quanto a condição hídrica, em que plantas irrigadas e tratadas com MOCK e com a dose 2 de  $\text{ZnO}$  apresentaram maior atividade da RN do que plantas sob déficit hídrico (Figura 9C). O mesmo foi observado no período de reidratação em relação a condição hídrica. Nesse período, as plantas que mantiveram irrigadas apresentaram maior atividade da RN no tratamento com  $\text{ZnSO}_4$ , assim como as plantas reidratadas (Figura 9D).

Figura 9 - Atividade da redutase do nitrato (RN) de folhas (A e B) e raízes (C e D) em plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK),  $300 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando como fonte o  $\text{ZnO}$  (dose 1),  $600 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando como fonte o  $\text{ZnO}$  (dose 2) e  $300 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando o  $\text{ZnSO}_4$ .



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

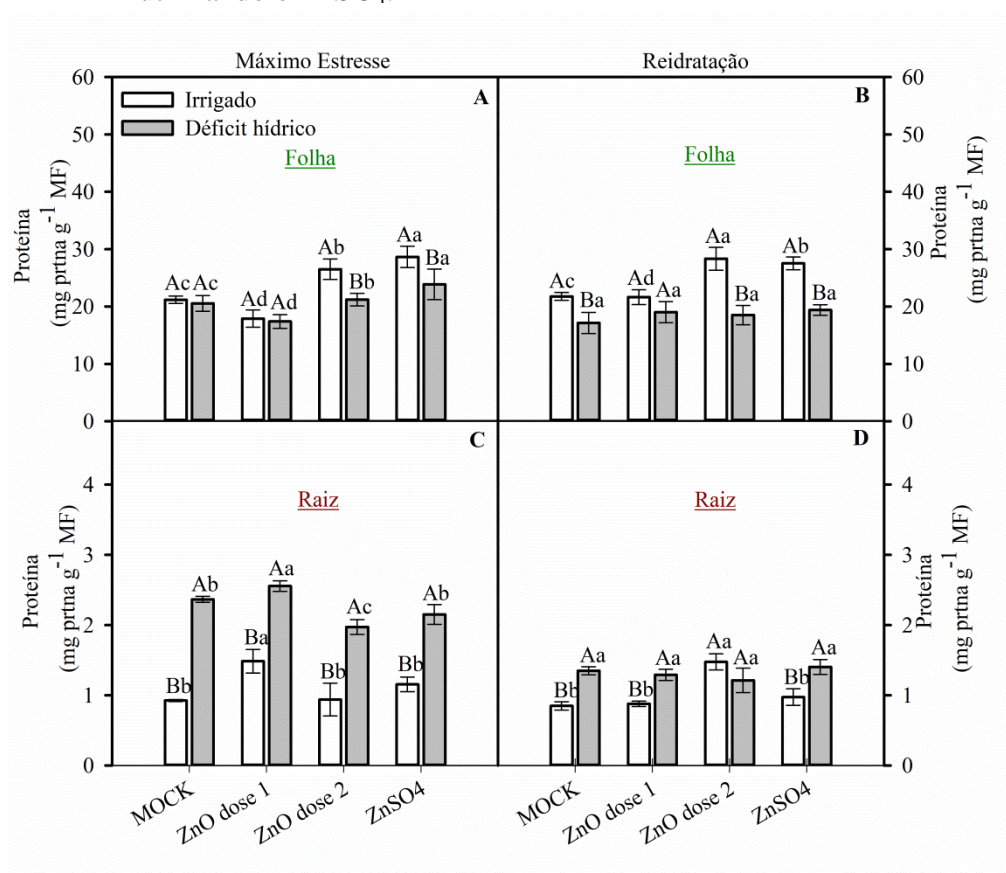
### 6.5. Conteúdo de proteína

O conteúdo de proteína em folhas de plantas coletadas no máximo estresse foi maior em plantas irrigadas do que sob déficit hídrico nos tratamentos com a dose 2 de ZnO e com ZnSO<sub>4</sub>. Em ambas condições hídricas, as plantas tratadas com a fonte ZnSO<sub>4</sub> demonstrou o maior conteúdo de proteína e o menor foi obtido na dose 1 de Zn (Figura 10A). No entanto, após a reidratação, houve diferenças apenas quanto a condição hídrica, em que plantas que passaram por déficit hídrico apresentaram menor conteúdo de proteína nas folhas, exceto para as plantas tratadas com a dose 1 de ZnO que não apresentaram diferenças (Figura 10B).

Em contrapartida, o conteúdo de proteínas nas raízes no período de máximo estresse foi maior em plantas submetidas ao déficit hídrico em todos os tratamentos. Porém, dentre as plantas irrigadas e as com déficit hídrico as tratadas com a dose 1 de ZnO obtiveram maior conteúdo (Figura 10C).

Após o período de reidratação, as plantas que passaram por déficit hídrico, continuaram com o maior conteúdo de proteína, exceto pela dose 2 de ZnO, em que não se observou diferenças entre condições hídricas. Essa dose foi a que exibiu maior conteúdo de proteínas nas raízes de plantas que mantiveram irrigadas, enquanto as demais não se diferiram. Dentre as plantas reidratadas, não foi observado diferenças entre doses e fontes de Zn (Figura 10D).

Figura 10 - Conteúdo de proteína de folhas (A e B) e raízes (C e D) em plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (n=5±dp). Fonte: Do Autor (2021).

## 6.6. Quantificação de açúcares

No período de máximo estresse as folhas de plantas irrigadas apresentaram mais açúcares solúveis totais do que plantas sob déficit hídrico, exceto pela dose 1 de ZnO, em que não houve diferença. Dentro da condição irrigada não houve diferença entre os tratamentos,

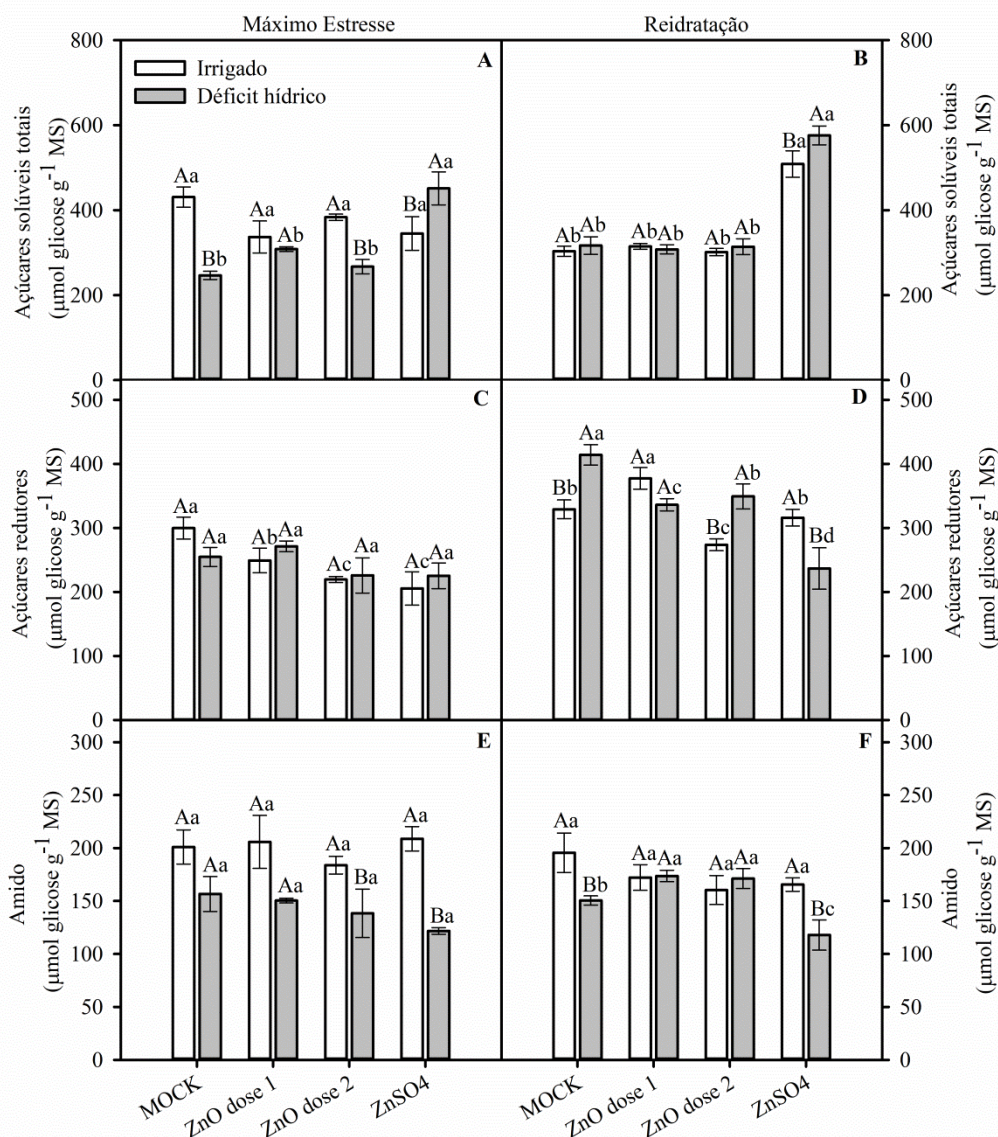
entretanto quando em déficit hídrico a fonte  $ZnSO_4$  foi superior aos demais tratamentos (Figura 11A). Já no período de reidratação, não houve diferença quanto a condição hídrica e as plantas tratadas com a fonte  $ZnSO_4$  apresentaram mais açúcares solúveis totais (AST) em ambas condições hídricas, enquanto as demais fontes e doses não se diferiram (Figura 11B).

Em relação a condição hídrica, não houve diferença no conteúdo de açúcares redutores (AR) em folhas. Sendo que, dentre as plantas irrigadas, o tratamento com MOCK demonstrou o maior conteúdo, e os menores conteúdos foram encontrados na dose 2 de ZnO e na dose de  $ZnSO_4$  (Figura 11C). Enquanto no período de reidratação, folhas de plantas que passaram por déficit hídrico e tratadas com MOCK e dose 2 de ZnO, exibiram maior conteúdo de AR. Na dose 1 não houve diferença e na fonte  $ZnSO_4$  as folhas de plantas irrigadas foram as com maior conteúdo de AR. Dentro da condição irrigada a dose 1 de ZnO apresentou maior conteúdo e a dose 2 menor. Já nas plantas reidratadas o maior conteúdo estava no tratamento com MOCK e o menor na fonte  $ZnSO_4$  (Figura 11D).

O conteúdo de amido nas folhas apresentou diferença apenas quanto a condição hídrica em que plantas irrigadas apresentaram mais amido do que plantas que estavam sob déficit hídrico (Figura 11E). Após a reidratação, nos tratamentos com MOCK e fonte de  $ZnSO_4$ , plantas que foram mantidas irrigadas continuaram exibindo maior conteúdo de amido, enquanto os demais não se diferiram quanto a condição hídrica. Dentro da condição irrigada não houve diferenças entre os tratamentos, todavia no déficit hídrico a dose 1 e dose 2 de ZnO exibiram maior conteúdo de amido e a fonte  $ZnSO_4$  menor (Figura 11F).

Figura 11 - Conteúdo de açúcares solúveis totais, (A e B), açúcares redutores (C e D) e amido (E e F) nas folhas de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn  $L^{-1}$  utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn  $L^{-1}$  utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn  $L^{-1}$  utilizando o  $ZnSO_4$ .





Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

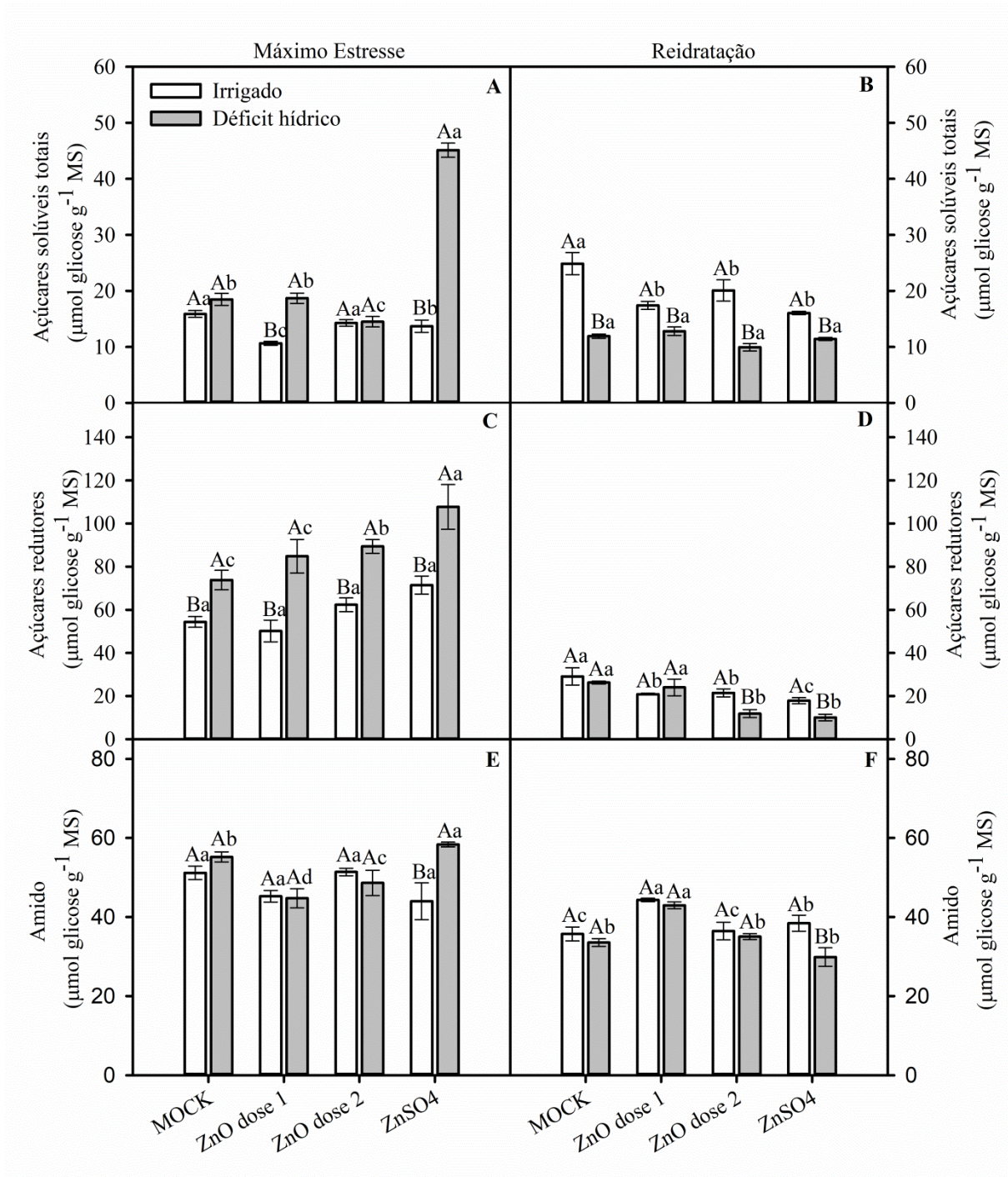
Já as raízes de plantas irrigadas apresentaram maior conteúdo de AST, exceto pela dose 2 de ZnO e o tratamento com MOCK que não se diferiram. Dentro da condição irrigada, MOCK e a dose 2 de ZnO exibiram maior conteúdo de AST e a dose 1 de ZnO o menor. Já dentro da condição de déficit hídrico, as plantas que receberam ZnSO<sub>4</sub> foram as que apresentaram maior AST e a dose 2 de ZnO menor (Figura 12B). Enquanto que, raízes de plantas reidratadas exibiram menor conteúdo de AST do que as que se mantiveram irrigadas.

Dentro da condição irrigada, o tratamento com MOCK apresentou maior conteúdo, enquanto que dentro da condição de déficit hídrico não houve diferenças entre as plantas. (Figura 12B).

Nas raízes no período de máximo estresse, houve diferença no conteúdo de AR quanto a condição hídrica, em que os maiores valores encontrados foram nas plantas sob déficit hídrico. Sendo que, dentro dessa condição hídrica, o tratamento com a fonte  $ZnSO_4$  exibiu maior conteúdo de AR, MOCK e dose 1 de ZnO menor (Figura 12C). Contudo, na coleta 5 dias após a reidratação, as plantas que se mantiveram irrigadas e tratadas com a dose 2 de ZnO e com  $ZnSO_4$  apresentaram maior conteúdo de AR em relação as plantas que passaram por déficit hídrico. Dentro da condição irrigada, o tratamento com MOCK apresentou maior conteúdo e a fonte  $ZnSO_4$  menor. Já dentre as plantas reidratadas, MOCK e dose 1 de ZnO apresentaram o maior conteúdo de AR enquanto os demais não se diferiram (Figura 12D).

O conteúdo de amido em raízes no período de máximo estresse, não teve diferença quanto a condição hídrica, exceto na fonte  $ZnSO_4$  em que raízes de plantas sob déficit tiveram mais amido do que as irrigadas (Figura 12E). No entanto, na coleta de reidratação raízes de plantas que mantiveram irrigadas e com aplicação de  $ZnSO_4$  obtiveram mais amido do que aquelas que foram reidratadas. Em ambas condições hídricas, as plantas com aplicação da dose 1 de ZnO apresentaram maior conteúdo, sem diferenças entre os demais (Figura 12F).

Figura 12 - Conteúdo de açúcares solúveis totais (A e B), açúcares redutores (C e D) e amido (E e F) nas raízes de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação e submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o  $ZnSO_4$ .



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5 \pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

### 6.7. Quantificação de aminoácidos

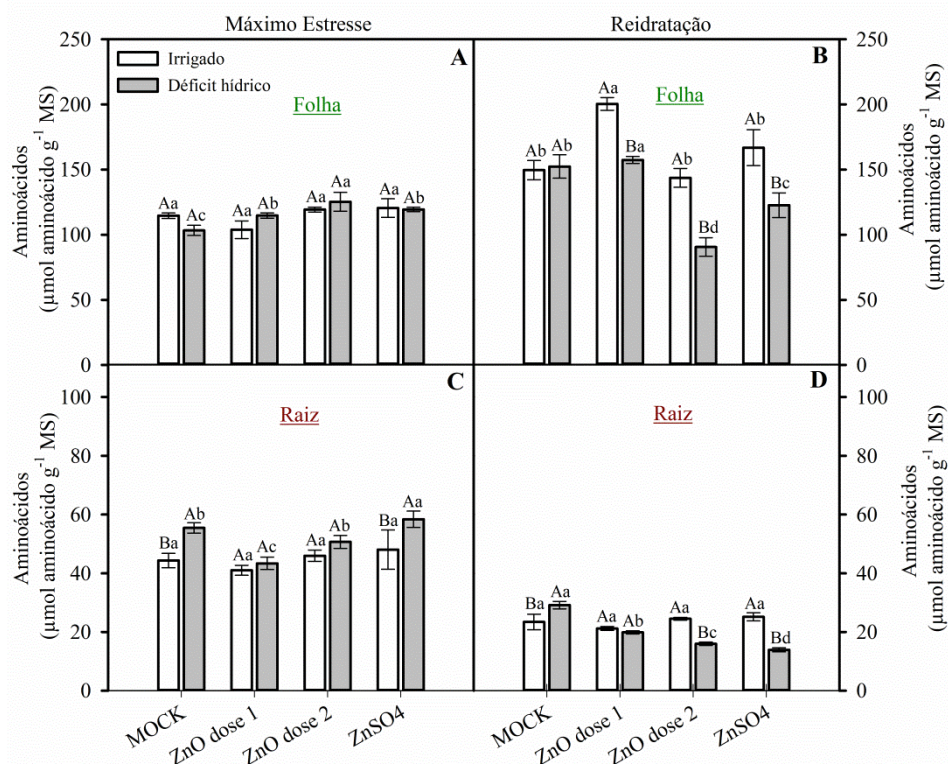
No período de máximo estresse, os aminoácidos totais em folhas não se diferiram quanto a condição hídrica. No entanto dentro da condição de déficit hídrico as plantas tratadas com a dose 2 de ZnO apresentaram mais aminoácidos. Já dentre as plantas irrigadas, não

houve diferenças entre os tratamentos (Figura 13A). No entanto, na coleta de reidratação, folhas de plantas que mantiveram irrigadas apresentaram mais aminoácidos quando comparadas com as que passaram por déficit hídrico, exceto para o tratamento com MOCK onde não houve diferença. Dentro da condição irrigada, a dose 1 de ZnO foi a que apresentou mais aminoácidos, sendo observado o mesmo para as plantas que passaram por déficit hídrico e os demais tratamentos não se diferiram (Figura 13B).

Já nas raízes no período de máximo estresse, as plantas sob déficit hídrico e tratadas com MOCK e ZnSO<sub>4</sub> apresentaram mais aminoácidos do que as irrigadas (Figura 13C). Dentro da condição irrigada, não houve diferenças entre os tratamentos, no entanto, dentre as plantas com déficit hídrico o tratamento com ZnSO<sub>4</sub> apresentou maior valor. Na coleta de reidratação, plantas que mantiveram irrigadas e que receberam a dose 2 de ZnO e fonte ZnSO<sub>4</sub> tiveram mais aminoácidos e o tratamento com MOCK continuou com mais aminoácidos nas plantas que passaram por déficit hídrico. Entretanto, as raízes de plantas reidratadas e que não receberam a suplementação com Zn apresentaram mais aminoácidos, e menor conteúdo a fonte ZnSO<sub>4</sub>. Dentre plantas que mantiveram irrigadas não houve diferenças entre as fontes e doses (Figura 13D).

Figura 13 - Conteúdo de aminoácidos em folhas (A e B) e raízes (C e D) de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



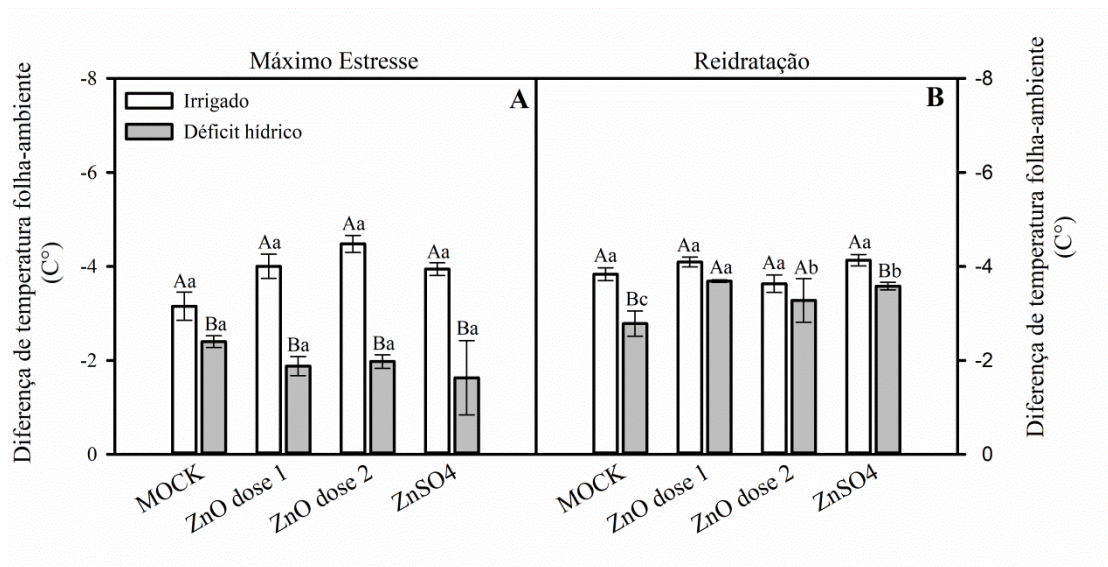


Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5 \pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

## 6.8. Atividade Fotoquímica

Quanto a diferença de temperatura entre a folha e o ambiente no período de máximo estresse, apenas foi significativo quanto a condição hídrica, sendo maior nas plantas irrigadas (Figura 14A). Mas após a reidratação a diferença de temperatura entre a folha e o ambiente foi maior nas plantas que mantiveram irrigadas e com aplicação de ZnSO<sub>4</sub> e MOCK. Dentre as plantas mantidas irrigadas, não houve diferenças entre os tratamentos, no entanto dentre as plantas que passaram por déficit hídrico, o tratamento com a dose 2 de ZnO apresentou o maior valor (Figura 14B).

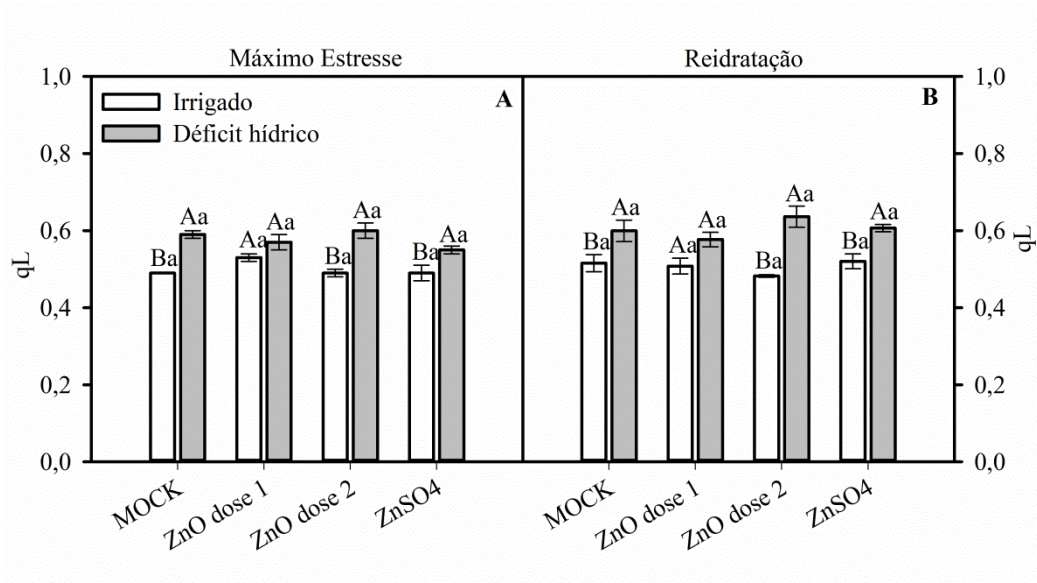
Figura 14 - Diferença de temperatura folha-ambiente (A e B) de plantas de soja irrigadas, sob déficit hídrico e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

Com relação a fração de centros abertos do fotossistema II ( $q_L$ ), tanto na coleta de máximo estresse (Figura 15A) quanto na de reidratação (Figura 15B), foram observadas diferenças apenas com relação a condição hídrica, em que plantas que passaram por déficit hídrico demonstraram os maiores valores de  $q_L$ , exceto para o tratamento com a dose 1 de ZnO que não demonstrou diferenças entre as condições hídricas em ambos períodos de coleta.

Figura 15 - Fração de centros abertos do fotossistema II ( $q_L$ ) (A e B) de plantas de soja no período de máximo estresse e após reidratação e submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



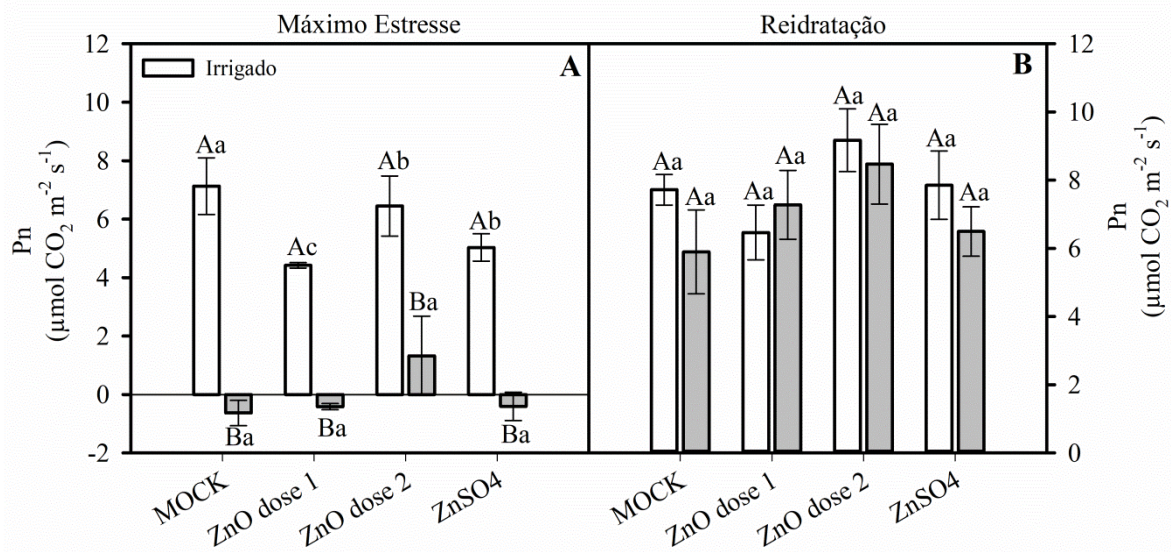
Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica (n=5±dp). Fonte: Do Autor (2021).

### 6.9. Fotossíntese líquida da planta inteira

A fotossíntese líquida ( $P_n$ ) no período de máximo estresse, apresentou uma drástica redução nas plantas submetidas ao déficit, não apresentando diferenças entre os tratamentos. No entanto, entre as plantas irrigadas, o MOCK foi o com maior  $P_n$  e a dose 1 de ZnO menor (Figura 16A). Após a reidratação foi possível perceber um aumento na  $P_n$  mas não foi obtido diferença nem entre as condições e nem quanto aos tratamentos (Figura 16B).

Figura 16 - Fotossíntese líquida ( $P_n$ , A e B), de plantas de soja no período de máximo estresse e após reidratação e submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.





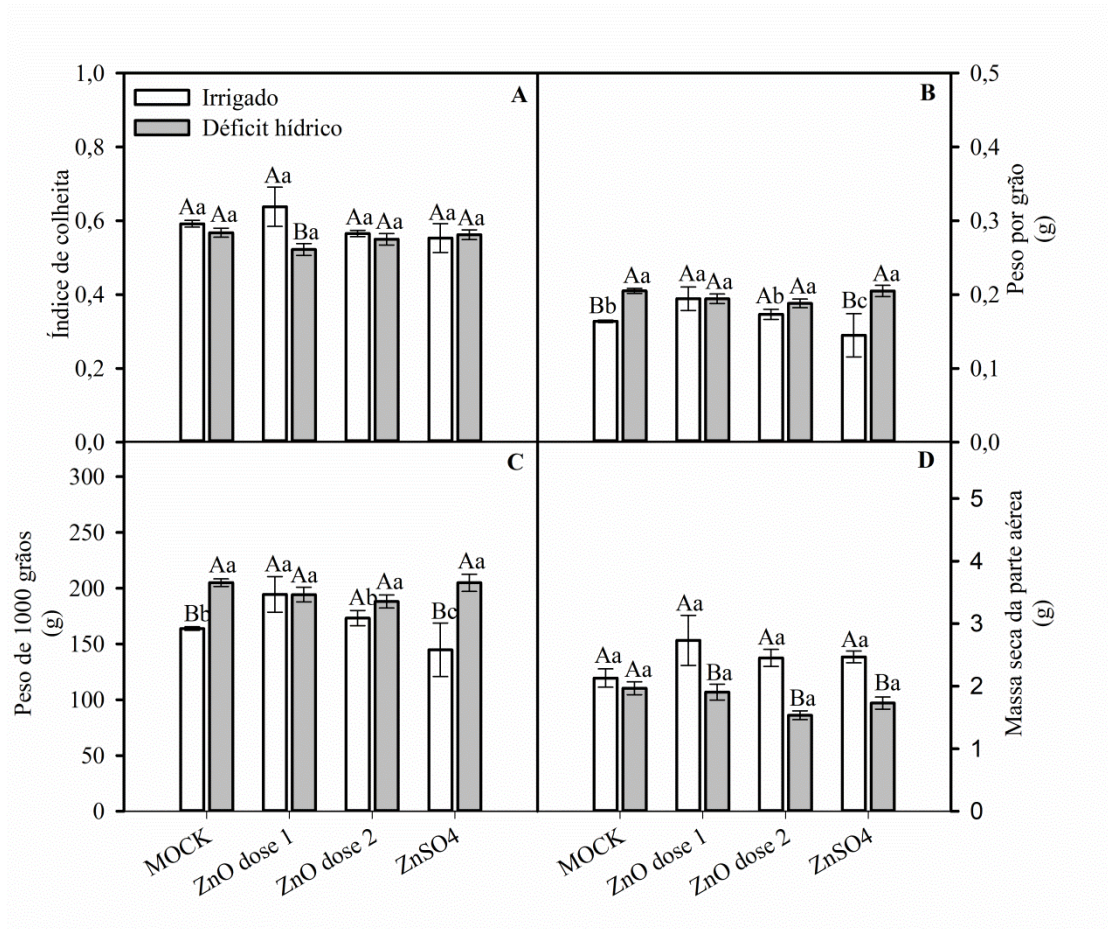
Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

### 6.10. Componentes de produção

Ao final do ciclo da cultura, foram feitas as análises de crescimento final e componentes de rendimento da cultura da soja. O índice de colheita não apresentou diferenças nem quanto a condição hídrica e nem doses e fontes de Zn (Figura 17A), exceto para o tratamento com a dose 1 de Zn que apresentou menor índice nas plantas irrigadas em relação as que passaram por déficit hídrico. Entretanto o peso de grãos por planta (Figura 17B) e peso de 1000 grãos houve diferenças quanto a condição hídrica, sendo que o tratamento com MOCK e com  $ZnSO_4$  apresentaram maior valor nas plantas que passaram por déficit hídrico em relação as que mantiveram irrigadas. (Figura 17C).

Já com relação a massa seca da parte aérea foi observado que houve diferenças quanto a condição hídrica nos tratamentos com aplicação de Zn, em que plantas que foram mantidas irrigadas apresentaram maior valor de massa seca (Figura 17D). Já dentro de cada condição hídrica não houve diferenças entre os tratamentos.

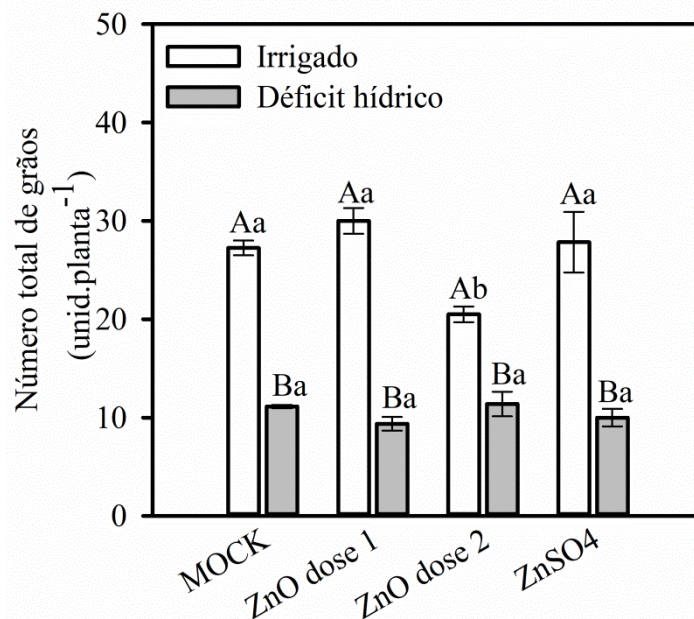
Figura 17 - Índice de colheita (A), peso por grãos (B) Peso de 1000 grãos (C) e massa seca da parte aérea (D) de plantas de soja irrigadas e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK),  $300 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando como fonte o ZnO (dose 1),  $600 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e  $300 \text{ mg Zn L}^{-1}$  utilizando o  $ZnSO_4$ .



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5 \pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

Quanto ao número de grãos por planta, as plantas que mantiveram irrigadas tiveram o maior número de grãos em relação as que passaram por déficit hídrico. Dentre as plantas que mantiveram irrigadas a dose 2 de ZnO demonstraram o menor número. Porém, dentro da condição de reidratada não houve diferenças entre doses e fontes de Zn (Figura 18).

Figura 18 - Número de grãos por plantas de soja irrigadas e após reidratação submetidas a aplicação foliar de água (MOCK), 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 1), 600 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando como fonte o ZnO (dose 2) e 300 mg Zn L<sup>-1</sup> utilizando o ZnSO<sub>4</sub>.



Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $n=5\pm dp$ ). Fonte: Do Autor (2021).

## 6.10. Análise química foliar

### 6.10.1 Micronutrientes

As plantas que receberam a dose 1 de ZnO, demonstraram os maiores teores de Zn nas folhas de plantas reidratadas quando comparadas as irrigadas. Essas plantas combinadas com a dose 2 de ZnO obtiveram também o maior teor. Os tratamentos com MOCK e com ZnSO<sub>4</sub> não se diferiram quanto a condição hídrica. Dentre as plantas que foram mantidas irrigadas durante todo o período experimental, aquelas que receberam a dose 2 de ZnO tiveram o maior teor de Zn, já dentre as reidratadas a dose 1 de ZnO exibiu o maior teor, seguida pela fonte ZnSO<sub>4</sub> e dose 2 de ZnO (Tabela 3).

O teor de boro (B) nas folhas de plantas tratadas com MOCK e com a dose 2 de ZnO foram maiores nas plantas mantidas irrigadas, enquanto os demais não se diferiram quanto a condição hídrica. Dentre as plantas que se mantiveram irrigadas, o tratamento com MOCK demonstrou o maior teor de B, enquanto os demais tratamentos não se diferiram. Porém dentro da condição de reidratação, as plantas com a dose 1 de ZnO apresentou maior teor e a dose 2 menor (Tabela 3).

Quanto ao teor de cobre (Cu), não houve diferenças nem quanto a condição hídrica nem suplementação com Zn, exceto pelas plantas que receberam a fonte ZnSO<sub>4</sub> que apresentaram os maiores teores nas plantas irrigadas. Para o teor de ferro (Fe) nas folhas ocorreram diferenças apenas quanto a condição hídrica, sendo que independente da fonte ou dose de Zn, plantas que mantiveram irrigadas tiveram os maiores teores (Tabela 3).

O teor de manganês (Mn) também foi maior nas plantas que mantiveram irrigadas em todos os tratamentos, entretanto, MOCK e dose 1 de ZnO foram os que exibiram os maiores teores em ambas condições, enquanto os outros dois não se diferiram (Tabela 3).

Tabela 3 - Teores foliares de micronutrientes em folhas de plantas de soja após o período de reidratação.

<b>Tratamento</b>	<b>Condição hídrica</b>	<b>Zn (ppm)</b>	<b>B (ppm)</b>	<b>Cu (ppm)</b>	<b>Mn (ppm)</b>	<b>Fe (ppm)</b>
MOCK- Água	Irrigado	16,10 Ac	86,30 Aa	3,00 Aa	66,33 Aa	147,00 Aa
	Déficit hídrico	16,00 Ad	70,24 Bb	2,75 Aa	49,67 Ba	120,50 Ba
ZnO - 300 mg Zn L <sup>-1</sup>	Irrigado	43,27 Bb	71,09 Ac	3,00 Aa	67,00 Aa	140,50 Aa
	Déficit hídrico	57,03 Aa	76,60 Aa	3,00 Aa	48,00 Ba	127,00 Ba
ZnO - 600 mg Zn L <sup>-1</sup>	Irrigado	74,63 Aa	73,56 Ac	3,00 Aa	56,00 Ab	142,50 Aa
	Déficit hídrico	28,00 Bc	62,81 Bc	2,75 Aa	43,00 Bb	130,00 Ba
ZnSO <sub>4</sub> - 300 mg Zn	Irrigado	40,33 Ab	74,77 Ab	3,00 Aa	55,33 Ab	164,00 Aa
	Déficit hídrico	33,30 Ab	68,05 Ab	2,50 Bb	45,00 Bb	131,00 Ba

Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (n=5±dp). Fonte: Do Autor (2021).

## 6. 10.2 Macronutrientes

O teor de nitrogênio (N) nas folhas (Tabela 4) não apresentou diferença nem entre os tratamentos nem na condição hídrica, exceto pela dose 2 de ZnO e fonte ZnSO<sub>4</sub> em que plantas irrigadas exibiram um teor maior do que as reidratadas. Já para o teor de fósforo (P) (Tabela 3), as diferenças foram apenas quanto a condição hídrica, em que plantas irrigadas apresentaram os maiores teores desse nutriente, exceto pelo tratamento com ZnSO<sub>4</sub> que não se diferiu quanto a condição hídrica.

Quanto ao teor de potássio (K) (Tabela 4), não se diferiu dentre as condições hídricas, com exceção das duas doses da fonte ZnO que tiveram o maior teor nas plantas submetidas ao déficit hídrico. Mas dentre as plantas que passaram por menor disponibilidade hídrica, o maior teor foi observado na dose 2 de ZnO e a menor no tratamento MOCK. Já para o teor de cálcio (Ca) (Tabela 4), as diferenças foram apenas quanto a condição hídrica em todos os tratamentos plantas irrigadas apresentaram os maiores teores, exceto para a dose 1 de ZnO que não se diferiu entre as condições.

Para o teor de magnésio (Mg) (Tabela 4), não houve diferenças entre os tratamentos dentro de cada condição hídrica e nem dentre as condições, exceto para a dose 1 de ZnO que teve o maior teor nas plantas irrigadas enquanto para a dose 2 o contrário foi observado. O teor de enxofre (S) (Tabela 4), também foi diferente apenas quanto a condição hídrica e apenas para o MOCK e dose 2 de ZnO, em que plantas que passaram pelo déficit tiveram maior teor de S do que folhas de plantas com disponibilidade hídrica adequada.



Tabela 4 - Teor foliar de macronutrientes em folhas de plantas de soja após o período de reidratação.

<b>Tratamento</b>	<b>Condição hídrica</b>	<b>N (%)</b>	<b>P (%)</b>	<b>K (%)</b>	<b>Ca (%)</b>	<b>Mg (%)</b>	<b>S (%)</b>
MOCK	Irrigado	3,23 Aa	0,41 Aa	1,61 Aa	1,95 Aa	0,24 Aa	0,18 Ba
	Déficit hídrico	3,03 Aa	0,20 Ba	1,61 Ac	1,27 Ba	0,25 Aa	0,21 Aa
ZnO – 300 mg Zn L <sup>-1</sup>	Irrigado	3,25 Aa	0,41 Aa	1,61 Ba	1,71 Aa	0,20 Aa	0,18 Aa
	Déficit hídrico	2,91 Aa	0,23 Ba	1,95Ab	1,50 Aa	0,28 Ba	0,20 Aa
ZnO - 600 mg Zn L <sup>-1</sup>	Irrigado	3,90 Aa	0,32Aa	1,74 Ba	1,72 Aa	0,22 Ba	0,18 Ba
	Déficit hídrico	2,59 Ba	0,22 Ba	2,07 Aa	1,26 Ba	0,27 Aa	0,21 Aa
ZnSO <sub>4</sub> - 300 mg Zn L <sup>-1</sup>	Irrigado	3,43 Aa	0,29 Aa	1,75 Aa	1,73 Aa	0,24 Aa	0,18 Aa
	Déficit hídrico	2,79 Ba	0,22 Aa	1,82 Ab	1,40 Ba	0,28 Aa	0,20 Aa

Letras maiúsculas comparam as condições hídricas dentro da mesma dose e fonte de Zn. Enquanto letras minúsculas as doses e fontes de Zn dentro da mesma condição hídrica pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (n=5±dp). Fonte: Do Autor (2021).

## 7. DISCUSSÃO

Com os resultados apresentados, foi possível perceber que ocorreram incrementos em alguns parâmetros nas plantas suplementadas com as diferentes fontes de Zn em relação a condição hídrica, como o aumento na produção de prolina, açúcares solúveis e enzimas do sistema antioxidante. Esses parâmetros são importantes para demonstrar a promoção de alívio do déficit hídrico nas plantas (WU et al., 2015) (UAMIR HASSAN et al., 2020). Apesar disso, houve reduções nos parâmetros de crescimento e produção das plantas submetidas ao déficit hídrico.

Esse ocorrido pode estar associado ao fato de que o déficit hídrico imposto pode ter sido muito severo para as plantas e a suplementação com Zn não foi suficiente para minimizar seus efeitos. Sendo que, o  $\Psi_w$  das plantas submetidas ao déficit foi abaixo de -1,3 MPa, sendo esse considerado por Barbosa et al., 2017 o limite crítico do potencial hídrico para a cultura da soja no estágio reprodutivo, resultando em reduções na altura, número de nós e número de vagens.

Outro fato que demonstra a severidade do estresse é que ele causou uma grande perda no número de folhas das plantas, sendo que nas suplementadas com Zn a redução foi praticamente metade do número de folhas observadas nas plantas irrigadas. Já as tratadas com MOCK não se diferiu, porém apresentou menor número de folhas dentre as plantas irrigadas (Figura 3A). Isso atrelado ao fato de que no início do déficit essas plantas estavam iniciando o florescimento e quando foram coletadas já estavam no início do enchimento de grãos, momento em que a soja exige grande quantidade de água, de 7 a 8 mm dia<sup>-1</sup> (FARIAS et al., 2007). Nessa fase para a soja, quando o déficit é muito intenso causa perda prematura de folhas e flores (EMBRAPA, 2013) e nesse caso a suplementação demonstrou não ser suficiente para evitar essas perdas na produção.

Os tratamentos que receberam a suplementação de Zn nas plantas quando submetidas ao déficit hídrico, não apresentaram diferenças quanto a altura, número de folhas, número de nós (Figura 3) e também quanto aos componentes de produção (índice de colheita, peso de 1000 grãos, peso por grão e número de grãos) (Figura 18 B). Isso demonstra que em um evento de seca com intensidade similar à do experimento, essas plantas apresentarão o mesmo comportamento independente da fonte ou dose de Zn aplicada. Tais reduções nesses parâmetros estão ligados as reduções que ocorreram na área foliar (Figura 4A), e fotossíntese líquida (Figura 18A) no período de máximo estresse das plantas submetidas ao déficit hídrico, independente do tratamento. Isso porque, reduções na área foliar apesar de ser importante para a economia de água (LIZAR et al., 2012) vão causar redução na síntese de fotoassimilados, já que uma menor área foliar prejudica o desempenho fotossintético que por sua vez leva a um decréscimo no crescimento e na produção (GOBBI et al., 2019).

Além disso, essa redução da fotossíntese durante o déficit hídrico, está ligada a redução da condutância estomática ( $g_s$ ), que é um dos primeiros fatores afetados, já que em pouco tempo submetidas ao déficit, as plantas fecham seus estômatos para evitarem a perda excessiva de água pela transpiração (URBAN et al., 2017). Todavia, esse fechamento estomático causa uma limitação na entrada de CO<sub>2</sub>, diminuindo a concentração interna de

CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>), o que compromete a atividade da ribulose-bisfosfato carboxilase / oxigenase (Rubisco) e leva então, a uma redução na fotossíntese e conseguinte diminuição no crescimento (URBAN et al., 2017).

No entanto, quando mantidas irrigadas as plantas suplementadas poderão apresentar diferenças em relação a dose ou fonte de Zn. Isso porque foi observado que na condição irrigada, as plantas com a dose 1 de Zn apresentaram maior altura, número de folhas, massa seca de parte aérea, folhas e raiz no período de reidratação (Figura 3 e 18, respectivamente) em relação aos demais tratamentos. Também foi observado que essa dose exibiu maior peso de 1000 grãos e peso por grão (Figura 18 B e C), demonstrando que para esses parâmetros as plantas irrigadas podem responder melhor a dose 1 (300 mg Zn L<sup>-1</sup>) utilizando como fonte o ZnO, porém as que estão sob estresse hídrico no nível aplicado nesse experimento, não respondem da mesma forma.

Mesmo a suplementação com Zn não promovendo melhorias no crescimento e produção da soja que passou por um período de menor disponibilidade hídrica, alguns resultados chamaram a atenção quanto ao metabolismo antioxidante e açúcares, em que se o déficit tivesse sido menos severo, talvez a estratégia de suplementação com zinco se refletisse na produção.

Sabendo que a prolina é importante no ajustamento osmótico e atua na redução de ERO's ajudando as células a superar o dano oxidativo causado pelo déficit hídrico (NOOHPISEH et al., 2021) (MOUSTAKAS et., 2011), o grande incremento no conteúdo de prolina (Figura 8G) nas raízes de plantas sob déficit, independente do tratamento, pode ter auxiliado na redução do conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de MDA nessas plantas, fazendo com que não se diferissem entre os tratamentos e condição hídrica (Figura 6C). Vale destacar que o conteúdo de prolina foi cerca de 6 vezes maior nas plantas tratadas com a dose 2 de ZnO quando comparadas com plantas irrigadas do mesmo tratamento, além de ter sido duas vezes maior que o conteúdo das plantas sob déficit no tratamento ZnSO<sub>4</sub> (Figura 8G).

Também vale ressaltar que a dose 2 de ZnO, foi o único tratamento que apresentou atividade da enzima antioxidante dismutase do superóxido (SOD) nas raízes maior no déficit quando comparadas às irrigadas, sendo 35% superior ao ZnSO<sub>4</sub>, tratamento com a menor atividade dessa enzima e 25% a mais que o MOCK (Figura 8A). Tal incremento da atividade da SOD em raízes de plantas sob déficit, pode ter contribuído para esse tratamento, com a redução da peroxidação lipídica. Já que a SOD está na linha de frente de defesa do sistema

antioxidante enzimático das plantas, dismutando o superóxido ( $O_2^-$ ) em uma espécie menos reativa, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (LUIS et al 2018). Sendo que, o Zn atua como cofator da isoforma Cu / Zn-SOD de SOD (MOUSAVI et al.,2013), que já tem como característica conhecida a participação na tolerância à múltiplos estresses (BADAWI et al., 2004).

A ascorbato peroxidase (APX), enzima antioxidante também envolvida na transformação de ERO's em espécies menos reativas (YADAV et al. 2014), no período de máximo estresse, teve maior atividade nas raízes de plantas sob déficit e que receberam a dose 2 e dose 1 de ZnO (Figura 8E), o que pode também ter contribuído com a redução de  $H_2O_2$  e MDA, nesses tratamentos. Em contrapartida, a atividade da CAT, enzima que atua no  $H_2O_2$  convertendo em molécula de água e oxigênio (SHARMA et al., 2012) foi maior nos demais tratamentos, o que pode então ter contribuído com a redução do conteúdo de  $H_2O_2$  e MDA para eles.

Os açúcares solúveis totais também podem atuar como moléculas osmoprotetoras (ZAHOOR et al., 2017) contribuindo com o ajuste osmótico das células e atuando na eliminação de radicais livres, reduzindo a peroxidação lipídica (BOLOURI-MOGHADDAM et al., 2010). O aumento no conteúdo de açúcares solúveis totais nas raízes de plantas submetidas ao déficit hídrico e que receberam  $ZnSO_4$ , foi de aproximadamente 3 vezes a mais que os demais tratamentos, e também com relação ao mesmo tratamento na condição irrigada (Figura 12A). Esse aumento pode ter contribuído nesse tratamento com a redução dos níveis de  $H_2O_2$  e MDA, não apresentando diferença entre plantas irrigadas e submetidas ao déficit hídrico.

Nas folhas, os níveis de prolina das plantas que passaram por uma menor disponibilidade hídrica foram maiores nas plantas suplementadas, independente da fonte ou dose, sendo maior que o tratamento que recebeu apenas água (Figura 7G). Isso pode estar associado ao fato de que o Zn aumenta a expressão de proteínas envolvidas na síntese de prolina (WU et al., 2015), e os maiores níveis de Zn presentes nas folhas pode ter favorecido a maior síntese desse aminoácido. Diferentemente das raízes que não se diferiram com relação aos tratamentos, mas isso pode estar associado ao fato do fornecimento ter sido via foliar e o Zn ser pouco móvel na planta (FAQUIN, 2005).

Dentre as enzimas do sistema antioxidante enzimático, que atuam protegendo contra os danos oxidativos provocados pela superprodução de ERO's (GILL e TUTEJA, 2010),

foram observados acréscimos em suas atividades quando essas foram suplementadas, principalmente a CAT e a SOD. A atividade da CAT nas folhas foi maior nos tratamentos que receberam a suplementação com Zn, sendo que a dose 2 não exibiu diferença entre plantas irrigadas e submetidas ao déficit, apresentando uma alta atividade nas duas condições, no entanto a maior atividade foi obtida no tratamento ZnSO<sub>4</sub> (Figura 7C). Esse tratamento também exibiu maior atividade da SOD no período de máximo estresse em folhas, tanto na condição irrigada quanto sob déficit. Mesmo havendo o aumento da atividade dessas enzimas antioxidantes nesse tratamento, isso não se refletiu em redução nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e nem da peroxidação lipídica.

Embora a dose 2 da fonte ZnO não tenha apresentado diferenças significativas com relação as demais doses nas atividades de enzimas antioxidantes, acúmulo de prolina e açúcares solúveis nas folhas. Esse tratamento foi o que apresentou os menores níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA, além de não demonstrar diferença entre plantas irrigadas ou submetidas ao déficit hídrico (Figura 6 A e E).

Dessa forma, no geral, pode ser observado que as plantas de soja sob déficit hídrico buscam estratégias para minimizar os efeitos do estresse hídrico frente as diferentes doses e fontes de Zn aplicadas, visto que em alguns parâmetros as doses favoreceram estratégias de adaptação a esse estresse, como a produção de prolina em folhas e enzimas antioxidantes nas raízes. Apesar disso, o crescimento e a produção foram comprometidos, podendo ser justificado pela severidade do estresse aplicado e que provavelmente em um evento de escassez hídrica menos severo, a suplementação com Zn, principalmente com a maior dose de ZnO, poderá sim promover um alívio para as plantas.

## 8. CONCLUSÕES

- a) O déficit imposto mostrou-se muito severo para a cultura da soja, fazendo com que o potencial hídrico nas folhas ficassem abaixo do limite crítico para a soja na fase reprodutiva, além de proporcionar grande perda do número de folhas pelas plantas
- b) As plantas de soja suplementadas buscaram diferentes estratégias para minimizar os efeitos do estresse hídrico, a depender da dose e fonte de Zn aplicadas, como o aumento do conteúdo de prolina, açúcares e atividade de enzimas antioxidantes.

- c) A suplementação com Zn proporcionou um maior acúmulo de prolina em raízes e folhas de plantas sobre déficit.
- d) A suplementação com zinco, independentemente da dose ou fonte fornecida, não foi suficiente para atenuar os prejuízos no crescimento e produção de plantas de soja durante o déficit hídrico e após a reidratação.

## REFERÊNCIAS

- ALCARDE, J. C.; VALE, F. Solubilidade de micronutrientes contidos em formulações de fertilizantes, em extratores químicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 2, p. 363-372, 2003.
- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. UFV, 2006. 8572692398.
- ARAÚJO, W. L *et al.* Protein degradation—an alternative respiratory substrate for stressed plants. **Trends in plant science**, 16, n. 9, p. 489-498, 2011.
- AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2014, p. 360438, 2014.
- AZEVEDO, R.; ALAS, R.; SMITH, R.; LEA, P. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, 104, n. 2, p. 280-292, 1998.
- BADAWI, G. H. *et al.* Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. **Plant Science**, 166, n. 4, p. 919-928, 2004.
- BARBOSA, L. A. *et al.* Limite crítico do potencial hídrico da soja durante os estádios vegetativo e reprodutivo. 2017.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, n. 1-2, p. 205- 207, Aug. 1973.
- BATISTA-SILVA, W.*et al.* The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. **Plant, cell & environment**, 42, n. 5, p. 1630-1644, 2019.
- BERGAMASCHI, H. *et al.* Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39, n. 9, p. 831-839, 2004.
- BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. O milho e o clima. **Porto Alegre: Emater/RS-Ascar**, 84, 2014.
- BERGES, J. A.; HARRISON, P. J. Nitrate reductase activity quantitatively predicts the rate of nitrate incorporation under steady state light limitation: a revised assay and characterization of the enzyme in three species of marine phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, 40, n. 1, p. 82-93, 1995.
- BERWAL, M. K.; RAM, C. Superoxide Dismutase: A stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher plants. *In: Abiotic and Biotic Stress in Plants*: IntechOpen, 2018.
- BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017.



BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, p. 651-658, Feb. 1998.

BOLOURI-MOGHADDAM, M.R. *et al.* Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **The FEBS journal**, v. 277, n. 9, p. 2022-2037, 2010.

BORGO, L.; MARUR, C. J.; VIEIRA, L. G. E. Effects of high proline accumulation on chloroplast and mitochondrial ultrastructure and on osmotic adjustment in tobacco plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 37, n. 2, p. 191-199, 2015.

BRADFORD, M. N. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, Orlando, v. 72, p. 248-254, May 1976.

BRANCO, Alan T.; FERREIRA, Beatriz dos S.; DE SOUZA FILHO, Gonçalo A. A paper-based electroelution system for protein recovery from stained sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 381, n. 2, p. 267-269, 2008.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 52, p. 302-310, Feb. 1978.

CALMAK, I. Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. **New Phytol**, 146, p. 185-205, 2000.

CHAVES, M. *et al.* How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of botany**, 89, n. 7, p. 907-916, 2002.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 7 - Safra 2019/20 n.12 - Décimo segundo levantamento, 9 setembro 2020.

CONAB. Série histórica das safras: soja. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/serie-historica-das-safras?start=30>. Acesso em: 30 abr. 2021.

CRUZ, J. C. C. *et al.* **Cultivo do milho**. Embrapa Milho e Sorgo Sete Lagoas, 2010.

DE AZEVEDO NETO, A. D. *et al.* Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, 56, n. 1, p. 87-94, 2006.

DE OLIVEIRA JOAQUIM, E. *et al.* Diversity of reserve carbohydrates in herbaceous species from Brazilian campo rupestre reveals similar functional traits to endure environmental stresses. **Flora**, 238, p. 201-209, 2018.

DE SOUZA, T. C. *et al.* The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance. **Acta physiologiae plantarum**, 35, n. 2, p. 515-527, 2013.

DEEBA, F. *et al.* Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, 53, p. 6-18, 2012.

DEHNAVI, M. M.; SHESHBAHRE, M. J. Soybean leaf physiological responses to drought stress improved via enhanced seed zinc and iron concentrations. **Journal of Plant Process and Function**, 5, n. 18, 2017.

DESA, U. N. World population projected to reach 9.8 billion in 2050, and 11.2 billion in 2100. **New York, NY: United Nations Department of Economic and Social Affairs**. Available online at: <https://www.un.org/development/desa/en/news/population/world-population-prospects-2017.html> (accessed July 30, 2021), 2017.

DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, 36, n. 1, p. 7, 2016/01/07 2016.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic, 1962. p. 477-520.

DO CARMO ARAÚJO, S. A.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, 7, n. 4, 2009.

DRISSI, S. *et al.* Corn silage (*Zea mays* L.) response to zinc foliar spray concentration when grown on sandy soil. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 2, p. 68, 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2020. Londrina: Embrapa Soja, 347p, 2020.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA LTDA. Manual do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG CFL 1030, Porto Alegre, 4p. 2008.

FAQUIN, V. Nutrição mineral de plantas: Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 183 p

FARIAS, J. R. B., NEPOMUCENO, A. L., & NEUMAIER, N. (2007). Ecofisiologia da soja. Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E).

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of soybean development. 1977.

FERNÁNDEZ, V.; BROWN, P. H. From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 289, 2013.

FILIPPOU, P.; BOUCHAGIER, P.; SKOTTI, E.; FOTOPOULOS, V. Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. **Environmental and Experimental Botany**, 97, p. 1-10, 2014.

FLEXAS, Jaume; MEDRANO, Hipólito. Energy dissipation in C3 plants under drought. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 10, p. 1209-1215, 2002.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I., occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

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

- GOBBI, R. C.; CASIMIRO, E. L. N. Efeitos de níveis de desfolha em diferentes estádios fenológicos na cultura da soja. **Revista Cultivando o Saber**, v.12, n.3, p.249-258, 2019
- GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers in plant science**, 5, p. 151, 2014.
- GRASSINI, Patricio et al. Soja. In: **Crop Physiology Case Histories for Major Crops**. Academic Press, 2021. p. 282-319.
- HAFEEZ, B.; KHANIF, Y.; SALEEM, M. Role of zinc in plant nutrition-a review. **Journal of Experimental Agriculture International**, p. 374-391, 2013.
- HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, 12, n. 3, p. 259-266, 2009/06/01/2009.
- HARE, P.; CRESS, W. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant growth regulation**, 21, n. 2, p. 79-102, 1997.
- HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J.-K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual review of plant biology**, 51, n. 1, p. 463-499, 2000.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.
- HERA, M. H. R.; HOSSAIN, M.; PAUL, A. K. Effect of Foliar Zinc Spray on Growth and Yield of Heat Tolerant Wheat Under Water Stress. **International Journal of Biological and Environmental Engineering**, 1, n. 1, p. 10-16, 2018.
- HILDEBRANDT, T. M. Synthesis versus degradation: directions of amino acid metabolism during Arabidopsis abiotic stress response. **Plant molecular biology**, 98, n. 1-2, p. 121-135, 2018.
- HUANG, T.; JANDER, G. Abscisic acid-regulated protein degradation causes osmotic stress-induced accumulation of branched-chain amino acids in Arabidopsis thaliana. **Planta**, 246, n. 4, p. 737-747, 2017.
- JAISWAL, S.; CHIBBAR, R. N. Amylopectin small chain glucans form structure fingerprint that determines botanical origin of starch. **Carbohydrate Polymers**, 158, p. 112-123, 2017.
- KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia plantarum**, 59, n. 4, p. 609-619, 2015.
- KOSTER, K. L.; LEOPOLD, A. C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant physiology**, 88, n. 3, p. 829-832, 1988.
- KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of experimental botany**, 63, n. 4, p. 1593-1608, 2012.

- LAEMMLI, U. An efficient polyacrylamide gel electrophoresis system for proteins separation. **Nature**, 227, p. 690-695, 1970.
- LEE, S.-H. *et al.* Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. **Journal of plant physiology**, 164, n. 12, p. 1626-1638, 2007.
- LI, C. *et al.* Absorption of foliar-applied Zn fertilizers by trichomes in soybean and tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 10, p. 2717-2729, 2018.
- LISAR, S. Y.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. Causes, Effects and Responses. **Water stress**, p. 1, 2012.
- LIU, C.; ZHAO, L.; YU, G. The dominant glutamic acid metabolic flux to produce  $\gamma$ -amino butyric acid over proline in *Nicotiana tabacum* leaves under water stress relates to its significant role in antioxidant activity. **Journal of Integrative Plant Biology**, 53, n. 8, p. 608-618, 2011.
- LIU, R.; LAL, R. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. **Science of the total environment**, v. 514, p. 131-139, 2015.
- LUIS, A.; CORPAS, F. J.; LÓPEZ-HUERTAS, E.; PALMA, J. M. Plant superoxide dismutases: function under abiotic stress conditions. *In: Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*: Springer, 2018. p. 1-26.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.; OLIVEIRA, S. d. Princípios, métodos e técnicas de avaliação do estado nutricional. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**, 2, p. 115-230, 1997.
- MALHOTRA, H. *et al.* Foliar fertilization: possible routes of iron transport from leaf surface to cell organelles. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 3, p. 279-300, 2020.
- MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants 2nd Ed. pp.: 99-101 Academic press. : London 1995.
- MAUZERALL, D. Thermodynamics of primary photosynthesis. **Photosynthesis research**, 116, n. 2-3, p. 363-366, 2013.
- MILLER, G. L. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Biochemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, Mar. 1959.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, 7, n. 9, p. 405-410, 2002.
- MORANDO, R. *et al.* Deficit Hidrico: Efeito sobre a cultura da Soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n. especial, p.114-129, 2014.
- MOUSAVI, S. R. Zinc in crop production and interaction with phosphorus. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 5, n. 9, p. 1503-1509, 2011.

MOUSAVI, S. R.; GALAVI, M.; AHMADVAND, G. Effect of zinc and manganese foliar application on yield, quality and enrichment on potato (*Solanum tuberosum* L.). **Asian Journal of Plant Sciences**, 2007.

MOUSTAKAS, M. *et al.* Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 65, n. 2, p.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NOBEL, P. S. **Physicochemical & environmental plant physiology**. Academic press, 1999. 0125200250.

NOOHPISEH, Z. *et al.* Effect of the foliar application of zinc oxide nanoparticles on some biochemical and physiological parameters of *Trigonella foenum-graecum* under salinity stress. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 155, n. 2, p. 267-280, 2021.

PARRY, M. A.; ANDRALOJC, P. J.; KHAN, S.; LEA, P. J. *et al.* Rubisco activity: effects of drought stress. **Annals of botany**, 89, n. 7, p. 833-839, 2002.

PELLOUX, J.; JOLIVET, Y.; FONTAINE, V.; BANVOY, J. *et al.* Changes in Rubisco and Rubisco activase gene expression and polypeptide content in *Pinus halepensis* M. subjected to ozone and drought. **Plant, Cell & Environment**, 24, n. 1, p. 123-131, 2001.

PER, T. S. *et al.* Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. **Plant physiology and biochemistry**, 115, p. 126-140, 2017.

PERDOMO, J. A.; CAPÓ-BAUÇA, S.; CARMO-SILVA, E.; GALMÉS, J. Rubisco and Rubisco Activase Play an Important Role in the Biochemical Limitations of Photosynthesis in Rice, Wheat, and Maize under High Temperature and Water Deficit. **Frontiers in Plant Science**, 8, n. 490, 2017-April-13 2017. Original Research.

RIOS, J. J.; GARCIA-IBÁÑEZ, P.; CARVAJAL, M. The use of biovesicles to improve the efficiency of Zn foliar fertilization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 173, p. 899-905, 2019.

ROSA, M. *et al.* Soluble sugars: Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. **Plant signaling & behavior**, 4, n. 5, p. 388-393, 2009.

SANTELIA, D.; ZEEMAN, S. C. Progress in *Arabidopsis* starch research and potential biotechnological applications. **Current opinion in biotechnology**, 22, n. 2, p. 271-280, 2011.

SEMIDA, W. M. *et al.* Foliar Application of Zinc Oxide Nanoparticles Promotes Drought Stress Tolerance in Eggplant (*Solanum melongena* L.). **Plants** v. 10, n. 2, p. 421, 2021.

SERVIN, A. *et al.* A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, n. 2, p. 1-21, 2015.

SESTAK, Z.; CATSKÝ, J.; JARVIS, P. G. Plant photosynthetic production. Manual of methods. **Plant photosynthetic production. Manual of methods.**, 1971.

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**, 2012, 2012.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIEIRA, S. A. *et al.* Coordinate changes in photosynthesis, sugar accumulation and antioxidative enzymes improve the performance of *Jatropha curcas* plants under drought stress. **Biomass and Bioenergy**, 45, p. 270-279, 2012.

SINGH, M. *et al.* Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, 14, n. 3, p. 407-426, 2015/09/01 2015.

SREENIVASULU, N.; GRIMM, B.; WOBUS, U.; WESCHKE, W. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). **Physiologia plantarum**, 109, n. 4, p. 435-442, 2000.

STEWART, Z. P. *et al.* Effect of Foliar Micronutrients (B, Mn, Fe, Zn) on Maize Grain Yield, Micronutrient Recovery, Uptake, and Partitioning. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 528, 2021.

SUN, L. *et al.* Nano-ZnO alleviates drought stress via modulating the plant water use and carbohydrate metabolism in maize. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 67, n. 2, p. 245-259, 2021.

THIRUMALAIKUMAR, V. P. *et al.* NAC transcription factor JUNGBRUNNEN 1 enhances drought tolerance in tomato. **Plant Biotechnology Journal**, v. 16, n. 2, p. 354-366, 2018.

UMAIR HASSAN, M. *et al.* The critical role of zinc in plants facing the drought stress. **Agriculture**, v. 10, n. 9, p. 396, 2020.

UMAIR HASSAN, M.; AAMER, M.; UMER CHATTHA, M.; HAIYING, T. *et al.* The Critical Role of Zinc in Plants Facing the Drought Stress. **Agriculture**, 10, n. 9, p. 396, 2020.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Foreign Agricultural Service**. Washington, 2020. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em : 20 out. 2020.

URBAN, L.; AARROUF, J.; BIDEL, L. P. R. Assessing the Effects of Water Deficit on Photosynthesis Using Parameters Derived from Measurements of Leaf Gas Exchange and of Chlorophyll a Fluorescence. **Frontiers in Plant Science**, 8, n. 2068, 2017-December-14 2017. Review.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Oilseeds: world market and trade. Washington, DC: USDA-FAS, 2021. 40 p. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf> . Acesso em: 1 abr. 2021.

VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiological reviews**, 73, n. 1, p. 79-118, 1993.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, East Park Shannon, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino acids**, 35, n. 4, p. 753-759, 2008.

WARAICH, E. A.; AHMAD, R.; ASHRAF, M. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. **Australian Journal of Crop Science**, 5, n. 6, p. 764, 2011.

WU, S.; HU, C.; TAN, Q.; LI, L. *et al.* Drought stress tolerance mediated by zinc-induced antioxidative defense and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum*). **Acta Physiologiae Plantarum**, 37, n. 8, p. 167, 2015.

XU, S.-M.; LIU, L.-X.; WOO, K.; WANG, D.-L. Changes in photosynthesis, xanthophyll cycle, and sugar accumulation in two North Australia tropical species differing in leaf angles. **Photosynthetica**, 45, n. 3, p. 348, 2007.

YADAV, G.; SRIVASTAVA, P. K.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Light Intensity Alters the Extent of Arsenic Toxicity in *Helianthus annuus* L. Seedlings. **Biological Trace Element Research**, 158, n. 3, p. 410-421, 2014/06/01 2014.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyt**, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZAHOOR, R. *et al.* Potassium fertilizer improves drought stress alleviation potential in cotton by enhancing photosynthesis and carbohydrate metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, 137, p. 73-83, 2017.

ZANANDREA, I. *et al.* Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 8, p. 661-669, 2010.

ZEEMAN, S. C.; KOSSMANN, J.; SMITH, A. M. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. **Annual review of plant biology**, 61, p. 209-234, 2010.

ZHANG, J. China's success in increasing per capita food production. **Journal of Experimental Botany**, 62, n. 11, p. 3707-3711, 2011.

ZHU, J. *et al.* Mechanism of zinc oxide nanoparticle entry into wheat seedling leaves. **Environmental Science: Nano**, v. 7, n. 12, p. 3901-3913, 2020.

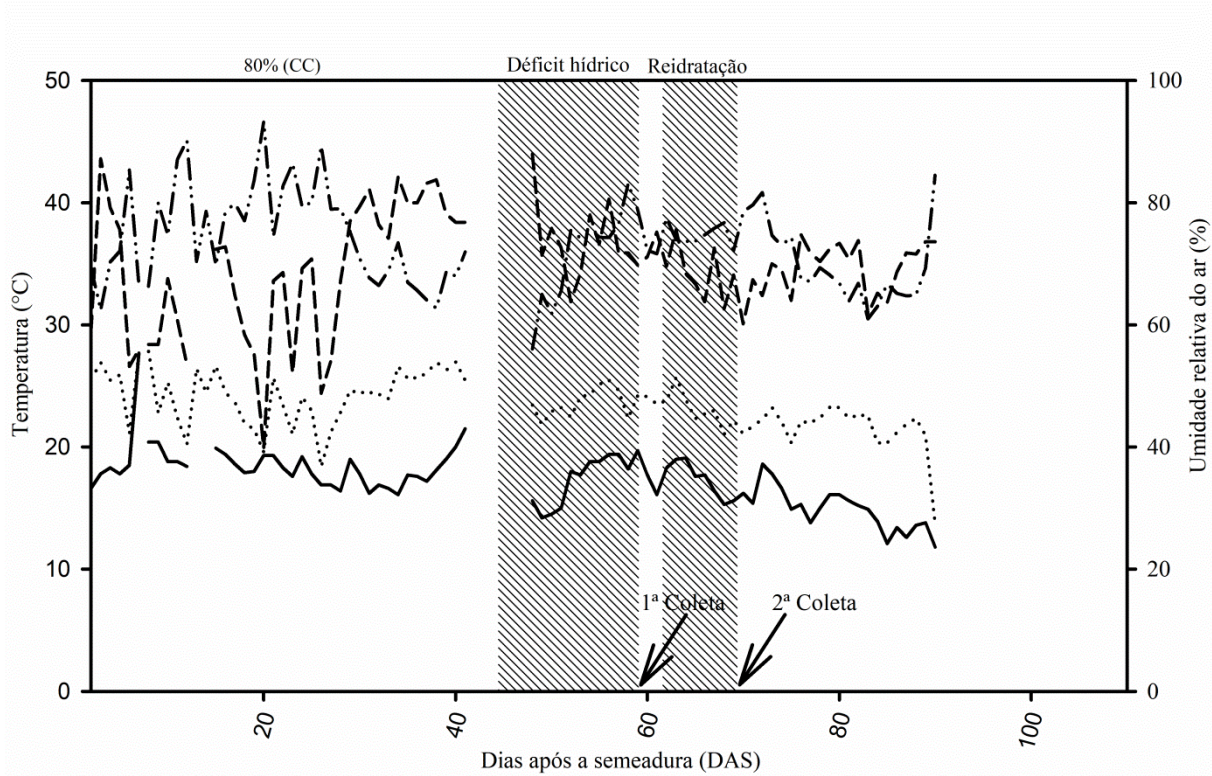
ŽUREK, G. *et al.* Chlorophyll a fluorescence in evaluation of the effect of heavy metal soil contamination on perennial grasses. **Plos one**, 9, n. 3, p. e91475, 2014.

ZUSHI, K. Comparison of chemical composition contents of tomato fruit grown under water and salinity stress.



## ANEXO 1

Figura 19 - Dados de temperatura (T, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) registradas dentro da casa de vegetação durante a condução do ensaio com soja.



## ANEXO 2

Figura 19 - Plantas de soja irrigadas e submetidas ao déficit hídrico no período de máximo estresse.

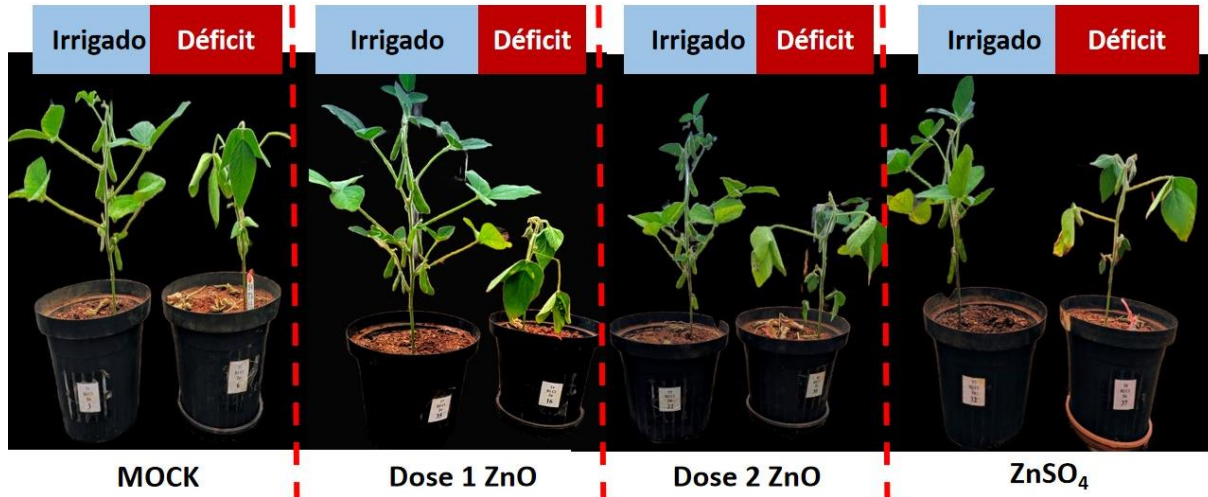


Figura 20 - Produção de plantas de soja que passaram por déficit hídrico e foram reidratadas após

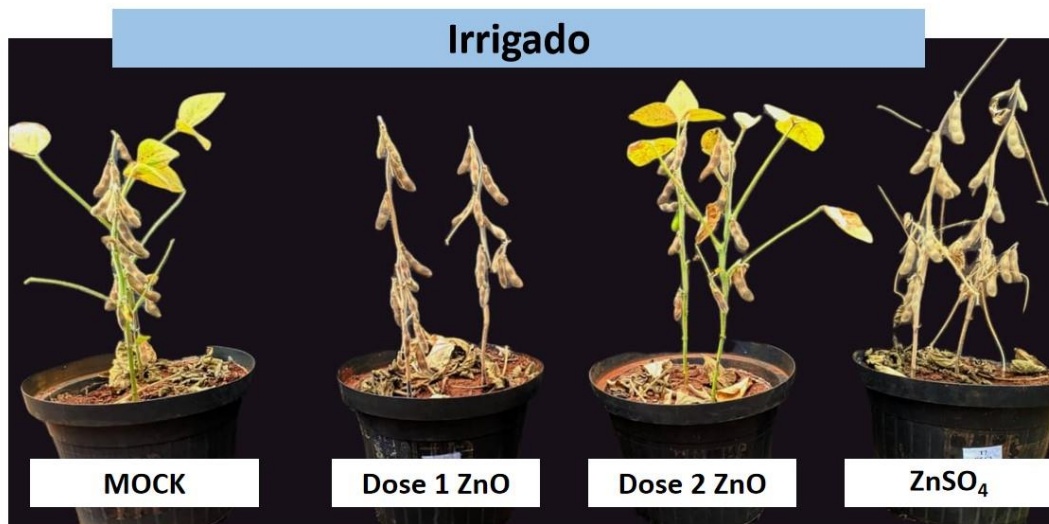


Figura 21 - Produção de plantas de soja que passaram por déficit hídrico e foram reidratadas após 20 dia.

