

ANUNCIENE BARBOSA DUARTE

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA DE RAÍZES DE  
CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDAS À SIMULAÇÃO DE DÉFICIT  
HÍDRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

D812g  
2018

Duarte, Anunciene Barbosa, 1992-  
Germinação de sementes e morfoanatomia de raízes de  
cultivares de soja submetidas à simulação de déficit hídrico /  
Anunciene Barbosa Duarte. – Viçosa, MG, 2018.  
vii, 66 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Felipe Lopes da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Glycine max*. 2. Estresse hídrico. 3. Soja - Melhoramento genético. 4. Soja - Raízes . I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

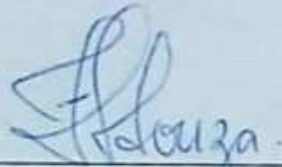
CDD 22. ed. 635.655

ANUNCIENE BARBOSA DUARTE

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA DE RAÍZES DE  
CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDAS À SIMULAÇÃO DE DÉFICIT  
HÍDRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

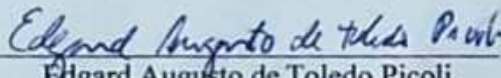
APROVADA: 27 de fevereiro de 2018.



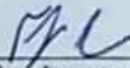
Fabiana Silva de Souza



Rogério Faria Vieira  
(Coorientador)



Edgard Augusto de Toledo Picoli  
(Coorientador)



Felipe Lopes da Silva  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida, por ser meu braço forte e o meu sustento em meio às dificuldades. Obrigada Senhor por tornardes esta conquista expressão fiel de vossa vontade.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo ensino e estrutura concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, e aos mestres pelos ensinamentos e formação acadêmica.

Ao CNPq pelo apoio recebido para desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço muitíssimo ao Professor Felipe Lopes, pela convivência, disponibilidade, motivação e excelente orientação na execução deste trabalho.

Ao Professor Edgard Picoli, pela co-orientação, paciência, disposição do laboratório e por todas as contribuições com as análises anatômicas.

Agradeço ao pesquisador Rogério Vieira pela disposição do equipamento e importantes considerações.

A Fabiana Souza, pela participação na banca de defesa e por contribuir com este trabalho.

Agradeço imensamente à minha família, sem os quais, eu não estaria aqui. Minha Mãe, a quem agradeço muitíssimo pelas orações, amor e zelo. Aos irmãos, meu porto seguro! Muito obrigada pelo cuidado, torcida, incentivo e por me fazerem acreditar em meus sonhos. Agradeço especialmente Ângela e Lene por serem minhas bases e por terem me feito trilhar por estes caminhos. Obrigada pelas palavras de sabedoria dispensadas a mim. Aos (as) cunhados (as) e Sobrinhos (as), por todo carinho para comigo. A Lucas e sua família pelos momentos compartilhados.

Aos amigos do Programa SOJA pela amizade, ajuda e pela ótima convivência. Levarei vocês sempre comigo!

Aos amigos e colegas que de longe ou perto sempre estiveram comigo.

A todos vocês, o meu sincero e genuíno agradecimento!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	4
<b>CAPÍTULO I: CONTRIBUIÇÃO DA GERMINAÇÃO E DA MORFOLOGIA RADICULAR NA DIVERSIDADE GENÉTICA E NA SELEÇÃO DE CULTIVARES DE SOJA TOLERANTES AO DÉFICIT HÍDRICO.....</b>	<b>7</b>
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
<b>CAPÍTULO II: ANATOMIA DE RAÍZES DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO.....</b>	<b>35</b>
RESUMO.....	36
ABSTRACT.....	37
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS.....	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>66</b>

## RESUMO

DUARTE, Anunciene Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro, 2018. **Germinação de sementes e morfoanatomia de raízes de cultivares de soja submetidas à simulação de déficit hídrico.** Orientador: Felipe Lopes da Silva, Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli, Rogério Faria Vieira, Laércio Junio da Silva e Catariny Cabral Aleman.

A soja é uma cultura que apresenta sensibilidade ao déficit hídrico. Durante a fase de germinação e estabelecimento da plântula, a falta de água é ainda mais preocupante, já que reduz a produção e a estabilidade da soja. Tendo em vista as mudanças climáticas no cenário atual, especialmente a redução da precipitação, as pesquisas têm voltado a atenção para o estudo das raízes das plantas cultivadas, haja vista que essas, são os primeiros órgãos a detectarem o déficit hídrico. O sistema radicular desempenha papel importante na tolerância das plantas ao déficit hídrico. Alterando o sistema radicular, as plantas utilizam estratégias para lidar com a restrição hídrica, podendo, por exemplo, explorar água de camadas mais profundas do solo. Sendo assim, a morfologia das raízes permite obter informações importantes a respeito da tolerância ao déficit hídrico de uma determinada cultivar. Além da morfologia de raízes, o conhecimento detalhado da anatomia destas, quando submetidas ao déficit hídrico, se faz necessário, visto que, na presença de tal estresse, espera-se a ocorrência de uma série de alterações anatômicas. Neste contexto, estudos que priorizem a caracterização de cultivares de soja frente às alterações morfológicas e anatômicas, sob déficit hídrico, é encorajado. Objetivou-se, portanto, avaliar o comportamento de 19 cultivares de soja, por meio da germinação e características morfoanatômicas sob déficit hídrico. Para isto, foram avaliadas, em laboratório, 19 cultivares de soja, recomendadas para a região Centro-oeste do Brasil. As cultivares MG/BR46 e BRS 239 foram utilizadas como padrão de tolerância, ao passo que BRs 16 e Embrapa 59, foram consideradas como padrão de sensibilidade, conforme recomendações da literatura. O experimento foi conduzido em esquema fatorial composto por dois fatores e cinco repetições, sob delineamento inteiramente casualizado. Os fatores foram condição hídrica (condição controle e condição estresse) e cultivar. Para simular o déficit hídrico foi utilizado o polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), no potencial osmótico de -0,2 MPa. Procedeu-se o teste de germinação das sementes (7 dias), utilizando-se 5 repetições de 50 sementes de cada cultivar. Após o teste de germinação, foram retiradas de forma aleatória 5 plântulas normais, as quais

foram dispostas entre duas folhas de papel germitest, onde seguiram por mais quinze dias para desenvolvimento do sistema radicular. Nesta etapa, os papéis foram umedecidos com solução nutritiva + PEG 6000 também no potencial osmótico de -0,2 MPa (condição estresse) e apenas solução nutritiva (condição controle). Após esse período, as raízes foram separadas dos cotilédones para proceder as mensurações inerentes à morfologia da raiz. Para as características anatômicas foram coletadas amostras da região do coleto e a 0,5 cm do ápice da raiz. Essas, foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em resina metacrilato. Procedeu-se secções transversais de 5µm, os quais foram corados com azul de toluidina. Feito isso, realizou-se os registros fotográficos, para posteriormente, proceder com as medições dos caracteres anatômicos. Houve interação significativa para todas as variáveis analisadas (p-valor <0,05). A maior porcentagem de germinação foi verificada na condição controle. Sob déficit hídrico, a maior porcentagem de germinação foi observada na cultivar BRS 216 RR (87%). Com relação às características morfológicas das raízes, de modo geral, sob déficit hídrico (condição estresse), as cultivares apresentaram maior alongamento do sistema radicular. A cultivar BR 16 apresentou aumento de 189 % no comprimento da raiz quando comparada à condição controle. O déficit hídrico promoveu maior área superficial das raízes de soja para a maioria das cultivares, conferindo maior capacidade de absorção de água e nutrientes. Ainda sob déficit hídrico, observou-se menor volume e menor diâmetro das raízes das cultivares de soja. Houve também maior ocorrência de raízes finas. Quanto às variáveis anatômicas, o déficit hídrico também provocou alterações em todas as variáveis analisadas. Houve menor área de sessão transversal total, redução da área de sessão transversal do córtex e do cilindro central, na região do coleto. Verificou-se, também, maior espessamento da epiderme, e maior área de sessão transversal de floema. Quanto à diferenciação dos tecidos, esta foi acelerada pela imposição do déficit hídrico. Aproximadamente 75% das amostras da seção transversal realizados a 0,5 cm do ápice radicular das cultivares de soja apresentaram tecidos completamente diferenciados. Na condição controle 84% das cultivares de soja apresentaram aerênquimas nos cortes realizados na região do coleto das cultivares de soja. O déficit hídrico provocou alterações na germinação, morfologia e na anatomia de raízes de cultivares de soja.

## ABSTRACT

DUARTE, Anunciene Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Germination and roots morphoanatomy of soybean cultivars submitted to water deficit simulation.** Advaser: Felipe Lopes da Silva, Co-advisers: Edgard Augusto de Toledo Picoli, Rogério Faria Vieira, Laercio Junio da Silva and Catariny Cabral Aleman.

Soybean is crop sensitive to water deficit. During the germination and establishment phase of the seedling, lack of water is even more worrying, since it reduces the production and stability of the soybean. Considering climate changes in the current scenario, especially the reduction of rainfall, research has focused attention on the study of roots of cultivated plants, since these are the first organs to detect the water deficit. The root system of soybean cultivars confers tolerance to water deficit. By altering the root system, plants use strategies to deal with water restriction, for example by exploring water from deeper layers of the soil. Thus, the morphology of the roots allows obtaining important information about the tolerance to the water deficit of a given cultivar. In addition to the root morphology, the detailed knowledge of the anatomy, when submitted to water deficit, is necessary, since, in the presence of such stress, a series of anatomical changes are expected. In this context, studies that prioritize the characterization of soybean cultivars against morphological and anatomical alterations, under water deficit, are encouraged. The objective of this study was to evaluate the behavior of 19 soybean cultivars by means of germination and morpho-anatomic characteristics under water deficit. For this, 19 soybean cultivars, recommended for the Central-West region of Brazil, were evaluated in laboratory. The cultivars MG/BR46 and BRS 239 were used as tolerance standards, while BRs 16 and Embrapa 59 were considered as a sensitivity standard, according to the literature recommendations. The experiment was conducted in a factorial scheme composed of two factors and five replications, under a completely randomized design. The factors were water condition (control condition and stress condition) and cultivar. In order to simulate the water deficit, polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) was used, at the osmotic potential of -0.2 MPa. The seed germination test (7 days) was carried out using 5 replicates of 50 seeds of each cultivar. After the germination test, 5 normal seedlings were randomly collected, which were arranged between two sheets of germitest paper, where they were

maintained by fifteen days for development of the root system. At this stage, the papers were moistened with nutrient solution + PEG 6000 also in the osmotic potential of -0.2 MPa (stress condition) and only nutrient solution (control condition). After this period, the roots were separated from the cotyledons to proceed the measurements inherent the root morphology. For the anatomical characteristics samples were collected from the coleto region and 0.5 cm from the root apex. These, were dehydrated in increasing ethylic series and included in methacrylate resin. Cross sections of 5 $\mu$ m were obtained, which were stained with toluidine blue. Done that, the photographic records were taken, and later, the measurements of the anatomical characters were carried out. There was significant interaction for all analyzed variables (p-value <0.05). The highest percentage of germination was verified in the control condition. Under water deficit, the highest percentage of germination was observed in cultivar BRS 216 RR (87%). In relation to the morphological characteristics of the roots, in general, under water deficit (stress condition), the cultivars showed a greater lengthening of the root system. The cultivar BR 16 presented a 189% increase in root length when compared to the control condition. The water deficit promoted a higher surface area of the soybean roots for most of the cultivars, conferring greater capacity of absorption of water and nutrients. Still under water deficit, it was observed a smaller volume and a smaller diameter of the roots of soybean cultivars. There was also a higher occurrence of fine roots. For the anatomical variables, the water deficit also caused alterations in all variables analyzed. There was a smaller total cross-sectional area, reduction of the cross-sectional area of the cortex and central cylinder, in the coleto region. There was also a greater thickening of the epidermis, and a larger cross-sectional area of phloem. Regarding tissue differentiation, this was accelerated by the imposition of the water deficit. Approximately 75% of the cross section samples at 0.5 cm from the root apex of the soybean cultivars presented completely differentiated tissues. In the control condition, 84% of the soybean cultivars presented aerenquimms in the cuts made in the coleto region of the soybean cultivars. The water deficit caused changes in the germination, morphology and root anatomy of soybean cultivars.

## INTRODUÇÃO GERAL

A soja (*Glycine max* L.) se apresenta como uma das espécies cultivadas mais importantes em todo o mundo. Tendo em vista seu elevado valor nutricional (Armendariz et al., 2016), ela se destaca como importante fonte de alimento para humanos e animais (Zheng et al., 2017). Além disso, o uso dessa oleaginosa como matéria prima para produção de biocombustível tem contribuído para aumentar ainda mais sua demanda (Veza et al., 2018).

Em nível mundial, o Brasil ocupa a posição de segundo maior produtor de soja. Em 2016, com área plantada de 33,8 milhões de hectares, obteve produção de 113,9 milhões de toneladas. A produtividade média da soja brasileira foi de 3.362 kg por hectare (Embrapa, 2017). Ainda de acordo com a Embrapa (2017) Mato Grosso é o estado que mais contribui com a produção nacional da soja.

As alterações climáticas globais vêm ocorrendo (Vadez et al., 2012; Schiermeier, 2014), ocasionando diferentes tipos de estresses nas plantas. Dentre os estresses abióticos, o ocasionado pelo déficit hídrico é o que mais causa danos graves às plantas (Mwenye et al., 2016). Assim, as estratégias atuais dos programas de melhoramento de culturas como a soja, visam à identificação de novas variedades com maiores rendimentos de grãos e melhor eficiência do uso da água, quando submetidas ao déficit hídrico (Fenta et al., 2014).

O déficit hídrico tem chamado atenção no cultivo de oleaginosas como a soja, uma vez que esta apresenta sensibilidade à restrição hídrica (Manavalan et al., 2010; Hashem et al., 2016) com significativas perdas de produção (Sadeghipour e Abbasi, 2012). A ocorrência de seca extrema acomete perdas na cultura da soja de até 40% ao ano (Thao e Tran, 2012). Durante a fase de germinação e estabelecimento da plântula, a falta de água é ainda mais prejudicial, visto que estes estágios de desenvolvimento da soja são os mais sensíveis ao déficit hídrico (Patade et al., 2011; Swigonska et al., 2013).

Em condição de déficit hídrico, as raízes das plantas são os primeiros órgãos a detectarem o estresse (Fenta et al., 2014). A redução no teor de água do solo é detectada pelo sistema radicular que, posteriormente, envia sinais químicos para a parte aérea, a fim de iniciar respostas adaptativas que irão induzir alterações fisiológicas em diferentes vias metabólicas (Rahnama et al., 2011). Ademais, elas

assumem um papel fundamental no desenvolvimento da planta, já que uma das suas principais funções é a absorção de água e nutrientes (Lynch, 2013).

Alguns estudos têm sido realizados a fim de compreender a relação entre as raízes e a tolerância a seca (Den Herder et al., 2010; Lynch, 2013; Meister et al., 2014; Rogers e Benfey, 2015; Song et al., 2016). Na cultura da soja, um trabalho recente constatou que cultivares que exibem uma variação nos traços da raiz apresentam maior produtividade após serem submetidas ao estresse por seca (Song et al., 2016).

A avaliação de raízes em campo é bastante laboriosa, visto a necessidade de escavação do solo pelos métodos tradicionais. Neste sentido, a simulação déficit hídrico, em laboratório, utilizando-se o polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) (Dantas, et al., 2017; Flores et al., 2017), é encorajada. O PEG 6000 se mostra eficiente, especialmente para trabalhar com raízes, já que ele facilita o acesso e avaliação do sistema radicular (Soliman e Hendawy, 2013). Dantas et al. (2017) propuseram o potencial osmótico de -0,2 MPa como aquele capaz de expressar maior variabilidade além de permitir a discriminação de cultivares de soja.

Além de características inerentes à morfologia das raízes, a abordagem anatômica se faz necessário para o entendimento dos mecanismos envolvidos na tolerância ao déficit hídrico. Dada a importância das raízes na adaptação das plantas na presença do déficit hídrico, alguns estudos anatômicos têm sido realizados, a fim de compreender as alterações que ocorrem, bem como entender sua relação com a falta de água (Chaca et al., 2014; Bansal et al., 2017; Prince et al., 2017). Assim, a integração das características da arquitetura do sistema radicular com as anatômicas facilitará o desenvolvimento e seleção de cultivares para condições de seca (Lynch, 2011).

Em milho foi relatado que características e proporção de aerênquimas na região cortical da raiz estão relacionadas ao melhor desempenho de plantas que crescem em solos com limitada disponibilidade hídrica (Zhu et al., 2010; Jaramillo et al., 2013; Chimungu et al., 2014; Chimungu et al., 2015). Na cultura da soja, foi observado um menor número de vasos de xilema em condição de adequada oferta de água (Purushothaman et al., 2013). De modo geral, quando a planta é submetida déficit hídrico, é comum a ocorrência de uma série de alterações anatômicas. Pode-se observar, por exemplo, redução da expansão das células e o aumento da espessura

da parede celular (Tenhaken, 2015), além de espessamento da cutícula, aumento da densidade estomática, dentre outros fatores (Fang e Xiong, 2014; Zheng et al., 2017).

Fato é que o sistema radicular tem despertado o interesse de muitas pesquisas científicas. No entanto, para a cultura da soja, estudos que avaliem a morfologia da raiz junto a caracteres anatômicos ainda se mostram insipientes, especialmente quando as cultivares são submetidas à presença do déficit hídrico. Sendo assim, estudos que priorizem esta caracterização, podem contribuir para a seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico.

Objetivou-se, portanto, avaliar o comportamento de dezenove cultivares comerciais de soja por meio da germinação, e características morfoanatômicas em condição de déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMENDARIZ, A. L.; TALANO, M. A.; TRAVAGLIA, C.; REINOSO, H.; OLLER, A. L. W.; AGOSTINI, E. Arsenic toxicity in soybean seedlings and their attenuation mechanisms. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.98, p.119-127, 2016.

BANSAL, R.; SRIVASTAVA, J. P. Effect of waterlogging on root anatomy and nitrogen distribution in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Indian Journal of Plant Physiology**, v.22, p.130-134, 2017.

CHACA, M. P.; VIGLIOCCO, A.; REINOSO, H.; MOLINA, A.; ABDALA, G.; ZIRULNIK, F.; PEDRANZANI, H. Effects of cadmium stress on growth, anatomy and hormone contents in *Glycine max* (L.) Merr. **Acta physiologia e plantarum**, v.36, 2815-2826, 2014.

CHIMUNGU JG, BROWN KM, LYNCH JP. Reduced root cortical cell file number improves drought tolerance in maize. **Plant Physiology**, v.166, p. 1943–1955, 2014.

CHIMUNGU, J. G.; LOADES, K. W.; LYNCH, J. P. Root anatomical phenes predict root penetration ability and biomechanical properties in maize (*Zea mays*). **Journal of Experimental Botany**, v.66, p.3151-3162, 2015.

DANTAS, S. A. G; SILVA; F. C. S.; SILVA, L. J.; SILVA, F. L. Strategy for selection of soybean genotypes tolerant to drought during germination. **Genetics and molecular research**, v. 16, n. 2, 2017.

DEN HERDER, G.; VAN ISTERDAEL, G.; BEECKMAN, T.; DE SMET, I. The roots of a new green revolution. **Trends in Plant Science**, v.15, p.600–607, 2010.

EMBRAPA, 2017. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1>> Acesso em: 09/01/2018.

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.72, p673-689, 2014.

FENTA, B. A.; BEEBE, S. E.; KUNERT, K. J.; BURRIDGE, J. D.; BARLOW, K. M.; LYNCH, J. P.; FOYER, C. H. Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. **Agronomy**, v.4, p.418-435, 2014.

FLORES, J.; PÉREZ-SÁNCHEZ, R. M.; JURADO, E. The combined effect of water stress and temperature on seed germination of Chihuahuan Desert species. **Journal of Arid Environments**, v.146, p.95-98, 2017.

HASHEM, A.; ABD ALLAH, E.F.; ALQARAWI, A. A.; AL-HUQAIL, A. A.; WIRTH, S.; EGAMBERDIEVA, D. The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. **Frontiers in Microbiology**, v.7, P.1167, 2016.

JARAMILLO, R. E.; NORD, E. A.; CHIMUNGU, J. G.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical burden influences drought tolerance in maize. **Annals of Botany**, v.112, p.429-437, 2013.

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant Physiology**, v.156, p.1041–1049, 2011.

LYNCH, J. P. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. **Annals of Botany**, v.112, p.347–357, 2013.

MANAVALAN L. P.; GUTTIKONDA, S. K.; NGUYEN, V. T.; SHANNON, J. G.; NGUYEN, H. T.; Evaluation of diverse soybean germplasm for root growth and architecture. **Plant and Soil**. v.14, p.330-503, 2010.

MEISTER, R.; RAJANI, M. S.; RUZICKA, D.; SCHACHTMAN, D. P. Challenges of modifying root traits in crops for agriculture. **Trends in Plant Science**, v.19, p.779–788, 2014.

MWENYE, O. J.; VAN RENSBURG, L.; VAN BILJON, A.; VAN DER MERWE, R. The role of proline and root traits on selection for drought-stress tolerance in soybeans: a review. **South African Journal of Plant and Soil**, v.33, p.245-256, 2016.

PATADE, V.Y.; MAYA, K.; ZAKWAN, A. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. **Research Journal of Seed Science**, v.4, p.125 -136, 2011.

PRINCE, S. J.; MURPHY, M.; MUTAVA, R. N.; DURNELL, L. A.; VALLIYODAN, B.; SHANNON, J. G.; NGUYEN, H. T. Root xylem plasticity to improve water use and yield in water-stressed soybean. **Journal of experimental botany**, v.68, p.2027-2036, 2017.

PURUSHOTHAMAN, R.; ZAMAN-ALLAH, M.; MALLIKARJUNA, N.; PANNIRSELVAM, R.; KRISHNAMURTHY, L.; GOWDA, C. L. L. Root anatomical traits and their possible contribution to drought tolerance in grain legumes. **Plant Production Science**, v.16, p.1-8, 2013.

RAHNAMA, A.; MUNNS, R.; POUSTINI, K.; WATT, M. A screening method to identify genetic variation in root growth response to a salinity gradient. **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.69-77, 2011.

ROGERS, E. D.; BENFEY, P. N. Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. **Current Opinion in Biotechnology**, v.32, p.93-98, 2015.

SADEGHIPOUR, O.; ABBASI, S. Soybean response to drought and seed inoculation. **World Applied Sciences Journal**, v.17, p.55–60, 2012.

SCHIERMEIER, Q. Water risk as world warms ‘first comprehensive global impact project shows that water scarcity is a major worry’. **Nature**, v.10, p.505, 2014.

SOLIMAN, H. L. A.; HENDAWY, M. H. Selection for drought tolerance genotypes indurum wheat (*Triticum durum* Desf) under in vitro conditions. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.14, p.69-78, 2013.

SONG, L.; PRINCE, S.; VALLIYODAN, B.; JOSHI, T.; SANTOS JUNIOR, V. M.; WANG, J. Genome-wide transcriptome analysis of soybean primary root under varying water-deficit conditions. **BMC Genomics**, v.17, p.57, 2016.

SWIGONSKA, S.; WEIDNER, S. Proteomic analysis of response to long-term continuous stress in roots of germinating soybean seeds. **Journal of plant physiology**, v.170, p.470-479, 2013.

TENHAKEN, R. Cell wall remodeling under abiotic stress. **Plant Science**, v.5, p.771, 2015.

THAO, N. P.; TRAN, L. S. Potentials toward genetic engineering of drought-tolerant soybean. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.32, p.349–362, 2012.

VADEZ, V.; BERGER, J. D.; WARKENTIN, T.; ASSENG, S.; RATNAKUMAR, P.; RAO, K. P. C.; SHARMA, H. C. Adaptation of grain legumes to climate change: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.32, p.31-44, 2012.

VEZZA, M. E.; LLANES, A.; TRAVAGLIA, C.; AGOSTINI, E.; TALANO, M. A. Arsenic stress effects on root water absorption in soybean plants: Physiological and morphological aspects. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.123, p.8-17, 2018.

ZHENG, H.; ZHANG, X.; MA, W.; SONG, J.; RAHMAN, S. U.; Wang, J.; Zhang, Y. Morphological and physiological responses to cyclic drought in two contrasting genotypes of *Catalpa bungei*. **Environmental and Experimental Botany**, v.138, 77-87, 2017.

ZHU, J.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell Environ**, v.33, p.740–749, 2010.

**CAPÍTULO I: CONTRIBUIÇÃO DA GERMINAÇÃO E DA MORFOLOGIA  
RADICULAR NA DIVERSIDADE GENÉTICA E NA SELEÇÃO DE  
CULTIVARES DE SOJA TOLERANTES AO DÉFICIT HÍDRICO**

## RESUMO

A germinação de sementes e o crescimento de plântulas são considerados fases críticas no estabelecimento da soja, sobretudo, quando submetida ao déficit hídrico. O entendimento acerca da germinação e do sistema radicular da soja, ao início do desenvolvimento, é indispensável para seleção de cultivares tolerantes ao déficit hídrico. Objetivou-se, portanto, verificar as alterações induzidas pelo déficit hídrico na germinação e na morfologia de raiz, visando identificar cultivares de soja com potencial de tolerância à seca. Objetivou-se ainda determinar a contribuição de variáveis para estudos de diversidade genética. Para tanto, utilizou-se 19 cultivares de soja sob duas condições hídricas: condição controle, e condição estresse (sob déficit hídrico), sendo este último, simulado com uso do polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) (-0,2 MPa). O estresse foi imposto durante a fase de germinação (7 dias), sendo mantido por mais 15 dias a fim de favorecer o desenvolvimento do sistema radicular. As raízes foram desenvolvidas dispendo-se uma plântula normal entre duas folhas de papel germitest umedecidos em solução nutritiva + PEG 6000. Sob déficit hídrico (condição estresse), houve menor porcentagem de germinação. A maior porcentagem de germinação foi observada para a cultivar BRS 216 RR (87%). Com relação às características morfológicas das raízes, de modo geral, na condição de déficit hídrico, as cultivares apresentaram maior alongamento do sistema radicular. A cultivar BR 16 apresentou aumento de 189 % no comprimento da raiz quando comparada à condição controle. O déficit hídrico promoveu maior área superficial das raízes de soja para a maioria das cultivares, conferindo maior capacidade de absorção de água e nutrientes. Ainda sob déficit hídrico, observou-se menor volume e menor diâmetro das raízes das cultivares de soja. Houve também maior ocorrência de raízes finas. As cultivares apresentaram um maior comprimento de raiz na presença de estresse hídrico por seca. Já para as variáveis diâmetro e volume de raiz, verificou-se menores valores na presença de estresse hídrico por seca. A germinação foi a característica que mais contribuiu para a diversidade genética das cultivares (24,3%). As cultivares BRS 184 e CD 2792 RR apresentaram-se superioridade às demais, com potencial de tolerância ao déficit hídrico.

**Palavras chaves:** Tolerância a seca; *Glicine max* L; melhoramento genético.

## ABSTRACT

Seed germination and seedling growth are considered critical stages in the establishment of soybean, especially when submitted to water deficit. The understanding of the germination and the root system of soybean, at the beginning of development, is indispensable for the selection of cultivars tolerant to water deficit. The objective was to verify the changes induced by water deficit in germination and root morphology, aiming to identify soybean cultivars with potential for drought tolerance. The objective was also to determine the contribution of variables to studies of genetic diversity. Therefore, 19 soybean cultivars were used under two water conditions: control condition and stress condition (under water deficit), the latter being simulated using polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) (-0.2 MPa). Stress was imposed during the germination phase (7 days), being maintained for another 15 days in order to favor the development of the root system. The roots were developed by placing a normal seedling between two sheets of germitest paper moistened with nutrient solution + PEG 6000. Under water deficit (stress condition), there was a lower percentage of germination. The highest percentage of germination was observed for cultivar BRS 216 RR (87%). With respect to the morphological characteristics of the roots, in general, in the condition of water deficit, the cultivars showed a greater lengthening of the root system. The cultivar BR 16 presented a 189% increase in root length when compared to the control condition. The water deficit promoted a higher surface area of the soybean roots for most of the cultivars, conferring greater capacity of absorption of water and nutrients. Still under water deficit, it was observed a smaller volume and a smaller diameter of the roots of soybean cultivars. There was also a higher occurrence of fine roots. The cultivars showed a longer root length in the presence of water stress due to drought. For the variables root diameter and volume, lower values were observed in the presence of water stress due to drought. Germination was the characteristic that most contributed to the genetic diversity of cultivars (24.3%). The cultivars BRS 184 and CD 2792 RR presented superiority to the others, with potential of tolerance to the water deficit.

**Key Words:** drought tolerance; *Glycine max* L; plant breeding.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glicine Max L.*) é uma das culturas mais importantes em todo o mundo, especialmente devido seu elevado teor de proteínas e óleos vegetais (FAO, 2013). Apesar do seu incremento produtivo nas últimas décadas, a soja é considerada sensível ao déficit hídrico (Dwevedi e Kayastha, 2011).

Modelos projetados para estimar a gravidade do déficit hídrico como prejudicial para as plantas, indicam aumento nas condições de seca visto as mudanças climáticas atuais (Walter et al., 2011). Estima-se que até 2100 ocorrerá aumento médio de temperatura em 2°C. Isto indica que a precipitação reduzirá em 15% e que cerca de um quinto da população enfrentará sérios problemas com a seca (Ciscar, 2012; Schiermeier, 2014).

Em vista disso, alguns estudos têm sido desenvolvidos a fim de compreender o desenvolvimento das culturas em condições de déficit hídrico tais como em ipomoea (Tognon et al., 2012), café (Melo et al., 2014), cana-de-açúcar (silva et al., 2017), milho (Tesfaye et al., 2017), algodão (Zahoor et al., (2017), trigo (Ajigboye et al., 2017), soja (Freitas Vieira et al., 2013; Matsuo et al., 2013; Fenta el al., 2014; Kidokoro et al., 2015; Tripathi et al., 2016; Dantas et al., 2017), dentre outros.

O déficit hídrico reduz a produção e a estabilidade do rendimento da soja (Manavalan et al., 2009). Assim, conhecer características associadas à tolerância é necessário para a seleção de cultivares, a citar, por exemplo, germinação de sementes e características inerentes ao sistema radicular.

Durante a fase de germinação e estabelecimento da plântula, a falta de água é ainda mais preocupante, visto que esses estágios de desenvolvimento da soja são os mais sensíveis ao déficit hídrico (Patade et al., 2011; Swigonska et al., 2013). De acordo com Hubbard et al. (2012) e Bolat et al. (2014), a germinação de sementes e o crescimento de plântulas são considerados estágios críticos para o estabelecimento de culturas.

Com relação à morfologia da raiz, abordagens clássicas de fenotipagem da raiz no campo, como a aplicação de técnicas de escavação do solo para determinar a profundidade, densidade e ramificação da raiz ainda são aceitos como os melhores métodos (Trachsel et al., 2011). No entanto, trata-se de uma prática laboriosa e normalmente realizada em estádios mais avançados da cultura. O plantio da soja tem atrasado devido à falta de chuvas. Assim, é preciso entender o efeito do déficit

hídrico na fase inicial do desenvolvimento de cultivares de soja. Para tanto, estudos realizados em laboratório, se mostram úteis para traçar estratégias, junto aos programas de melhoramento, visando à seleção de cultivares tolerantes ao déficit hídrico.

Em condição de campo, um estudo demonstrou que o potencial hídrico do solo no ponto de murcha permanente para a cultura da soja se encontra próximo a 250 Kpa (Procópio et al., 2004). Em laboratório, por outro lado, o polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) tem sido bastante utilizado para simular condição de déficit hídrico (Huanget et al., 2013; Soliman e Hendawy 2013; Flores et al., 2017). Dantas et al. (2017), utilizaram PEG 6000 para simular o déficit hídrico, testando 4 potenciais osmóticos na cultura da soja. Tais autores verificaram que o potencial de -0,2 MPa foi o que permitiu expressão de maior variabilidade genética entre os genótipos. Os autores supramencionados sugeriram ainda, que tal potencial é o mais adequado para discriminação de genótipos tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico na fase de germinação. PEG 6000 é um produto quimicamente inerte, atóxico, e que não é absorvido pelas sementes, já que se apresenta em moléculas maiores (Villela et al., 1991). Ademais, ele facilita o acesso e avaliação do sistema radicular (Soliman e Hendawy, 2013).

Os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico de cultivares de soja estão relacionados ao sistema radicular (Fenta et al., 2014; Nguyen et al., 2014). A morfologia das raízes fornece informações importantes quanto à tolerância de uma cultivar (Sadok e Sinclair, 2011). Segundo Fenta et al. (2014), a raiz atua como a primeira linha de defesa à restrição hídrica. Ademais, desempenham um papel importante na produtividade das culturas submetidas ao déficit hídrico (Bengough et al., 2011). Isto porque ao alterar a estrutura radicular as plantas que utilizam estratégias de tolerância à seca podem explorar água em camadas mais profundas do solo, permitindo uma melhoria acentuada no rendimento de grãos (Uga et al., 2013).

Cultivares de soja com melhor variação na morfologia da raiz apresentam maior produtividade após serem submetidos ao déficit hídrico (Prince et al., 2016). Plantas que apresentam raízes mais profundas, com maior área superficial podem adquirir água de domínios mais profundos do solo (Magalhães et al., 2011; Hammer et al., 2009). Além disso, a ocorrência de raízes mais finas pode conferir maior tolerância ao déficit hídrico, pois conseguem sobreviver melhor à secas (Huang et al., 1997). Neste contexto, a variabilidade genética tem sido demonstrada na

morfologia da raiz, incluindo características como diâmetro da raiz, comprimento, área superficial e profundidade (Zhao et al., 2004).

No caso da soja, sob condição de déficit hídrico, pesquisas envolvendo especificamente a morfologia de raízes ainda são pouco exploradas no meio científico. Estudos sobre as respostas da morfologia das raízes ao déficit hídrico têm sido realizados no solo ou em suportes, como hidroponia ou placas de ágar (Manavalan et al., 2010; Prince et al., 2013).

Mediante o exposto, é necessário a busca pelo entendimento da arquitetura radicular e da capacidade de germinação de cultivares de soja, frente ao déficit hídrico, no início do desenvolvimento. Essas informações contribuirão para seleção de cultivares com tolerância ao déficit hídrico, já que pesquisas como estas continuam sendo grande desafio nos programas de melhoramento. Objetivou-se, portanto, verificar as alterações induzidas pelo déficit hídrico na germinação e na morfologia de raiz, visando identificar cultivares de soja com potencial de tolerância a seca. Objetivou-se ainda determinar a contribuição de variáveis para estudos de diversidade genética.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas em laboratório 19 cultivares de soja recomendadas para região Centro-Oeste do Brasil (Tabela 1). Destas, MG/BR46 e BRS 239 são conhecidas pela sua tolerância ao déficit hídrico na fase reprodutiva (Nepomuceno et al., 1994), enquanto BR 16 e Embrapa 59 são considerados sensíveis quando a seca é acometida nessa fase (Oya et al., 2004).

**Tabela 1:** Cultivares de soja recomendadas para a região Centro-Oeste do Brasil.

Cultivares	GMR	Altura (cm)	Cor da flor	Crescimento
BRS 239*	6,9	72	Branca	Determinado
MG/BR46*	8,1	75	Roxa	Determinado
Embrapa 59**	7,1	80	Roxa	Determinado
BR 16**	7,6	80	Branca	Determinado
CD 219 RR	7,6	99	Branca	Determinado
P98Y11	7,6	87	Branca	Determinado
BRS 133	7,3	80	Branca	Determinado
CD 230 RR	7,6	92	Roxa	Determinado
BRS MG 68	8,0	75	Roxa	Determinado
W787 RR	7,6	85	Branca	Indeterminado
BRS 256 RR	8,0	85	Branca	Determinado
BRS 216	6,8	72	Branca	Determinado
BRS Valiosa RR	8,1	71	Roxa	Determinado
CD 217	8,0	92	Roxa	Determinado
BRS 245 RR	7,3	75	Branca	Determinado
BRS 282	6,9	85	Branca	Determinado
CD 229 RR	7,3	85	Roxa	Indeterminado
BRS 184	6,7	80	Roxa	Determinado
CD 2792 RR	7,9	70	Roxa	Determinado

\*, \*\* cultivares tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico, respectivamente, conforme estudos de Nepomuceno et al. (1994) e Oya et al. (2004).

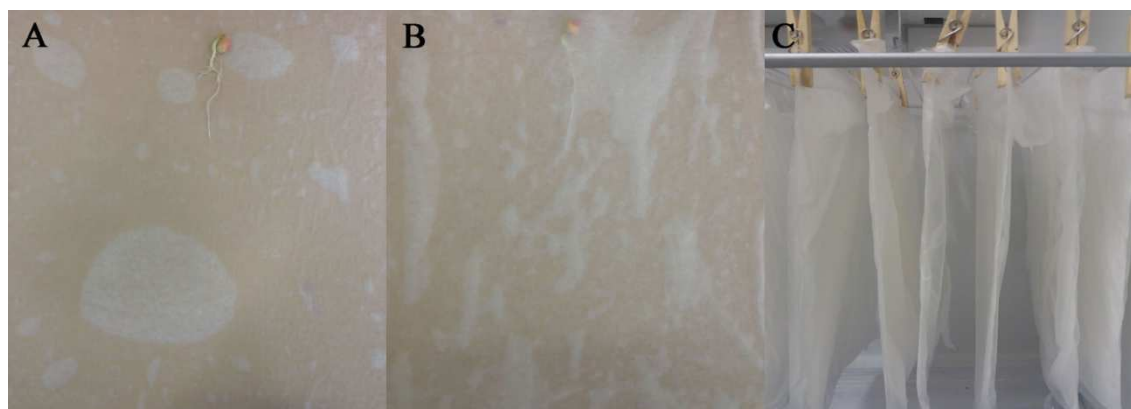
GMR: Grupo de Maturidade Relativa.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial composto por dois fatores e em cinco repetições, sob delineamento inteiramente casualizado. Os fatores foram disponibilidade hídrica (condição controle e condição estresse) e cultivar. Inicialmente as sementes foram tratadas utilizando o fungicida Derosal Plus (carbendazim + thiran). As sementes utilizadas pertenciam ao mesmo lote, conferindo condição de germinação adequada a todas as cultivares. Procedeu-se o teste de germinação de sementes utilizando cinco repetições e 50 sementes de cada cultivar por repetição. Para tanto, duas folhas de papel Germitest foram umedecidas com dois tipos de soluções em um volume equivalente a 2,5 vezes ao seu peso seco.

A primeira solução composta apenas de água destilada, a qual representou a ausência de déficit hídrico (condição controle). A segunda solução foi composta por 178,4 g L<sup>-1</sup> de Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) (Villela et al., 1991), dissolvido em água destilada perfazendo o potencial osmótico de -0,2 MPa (Dantas et al., 2017). Esta última solução foi utilizada para simular o déficit hídrico (condição estresse).

Feito isto, para cada uma das cinco repetições, sementes de cada cultivar foram dispostas sobre os papéis, os quais, depois de enrolados, foram acondicionados em incubadoras BODs (Biochemical Oxygen Demand) a 25°C.

Após a realização do teste de germinação (7 dias após a semeadura das sementes), foram retiradas de forma aleatória cinco plântulas normais de cada tratamento, e, cada plântula, foi colocada entre duas folhas de papéis Germitest (Figura 1A e 1B). Esses papéis foram umedecidos somente com solução nutritiva Segundo Fernandes et al. (2002) (condição controle) e solução nutritiva +178,4 g L<sup>-1</sup> de PEG 6000 (condição sob déficit hídrico). Os papéis abertos foram embalados em sacos plásticos transparentes a fim de manter a umidade. Posteriormente, foram dispostos em prateleiras de BODs, na posição vertical, conforme metodologia utilizada por Hund et al. (2009) modificada. Os papéis foram mantidos em BODs por 15 dias até que desenvolvessem o sistema radicular (Figura 1C), sendo umedecidos a cada 5 dias.



**Figura 1:** A: disposição de plântula normal em papel Germitest aberto, B: sobreposição da folha do papel Germitest e C: acondicionamento dos papéis com as plântulas em sacos plásticos transparentes e disposição em BODs.

Após 15 dias, as raízes foram retiradas do papel Germitest e armazenadas em álcool 70% para serem posteriormente, escaneadas. Para isso, cada raiz foi disposta em uma bandeja de dimensões 20 cm × 40 cm x 7 cm (largura x comprimento x

altura) contendo água destilada suficiente para cobrir as raízes, minimizando-se sobreposições. As raízes foram digitalizadas com o scanner de mesa EPSON EU88, com resolução de 400 dpi.

As imagens foram processadas utilizando-se o software WinRHIZOPro 2009 (Basic, Reg, Pro e Arabidopsis for Root Measurement). Por meio do processamento, foram obtidas as características de raiz: comprimento total, área superficial, volume, diâmetro médio e comprimento da raiz por classes de diâmetros. Após serem processadas as raízes foram acondicionadas em estufa de ventilação forçada a 65° C por 72 horas para obtenção do peso de raiz seca.

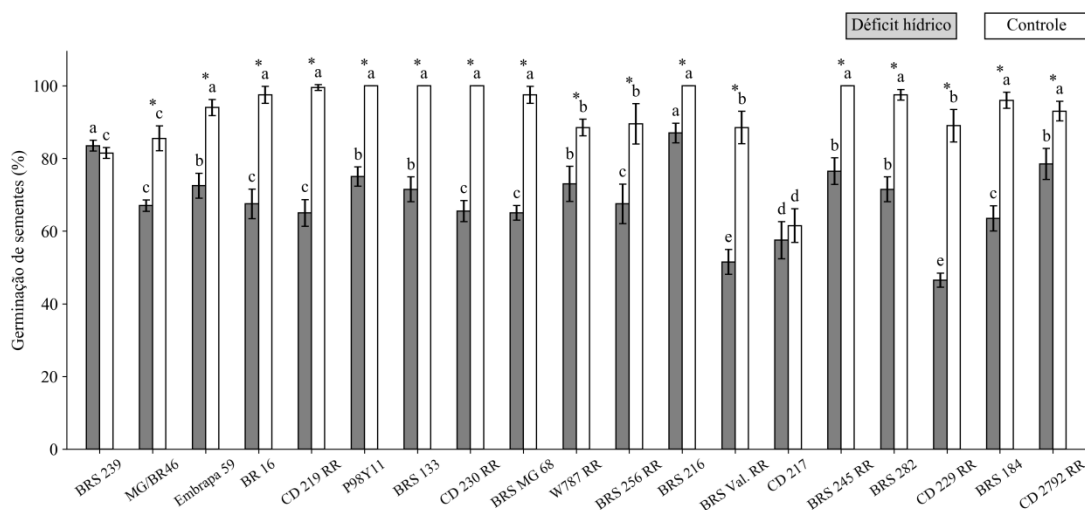
Após obtenção dos dados, procederam-se as análises de variância (ANOVA). As médias do fator disponibilidade hídrica (controle e estresse por déficit hídrico) foram confrontadas utilizando o teste F. Já as médias do fator cultivar, foram agrupadas pelo teste Skott-Knott, ambos a 5 % de probabilidade. Quando necessário, os desdobramentos das interações disponibilidade hídrica x cultivar foram realizados.

Verificou-se também a importância dos caracteres, em relação à diversidade genética, a qual foi realizada de acordo com Singh (1981). A fim de analisar a diversidade genética sob déficit hídrico, as estimativas de dissimilaridade foram obtidas usando a distância generalizada de Mahalanobis e agrupadas pelo método de Tocher, (Rao, 1952). A análise de importância de caracteres e o agrupamento pelo método de Tocher foram realizadas com dados referentes à condição sob déficit hídrico. Todas as análises foram processadas utilizando-se o software estatístico genes (Cruz, 2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação cultivar x disponibilidade hídrica foi significativa para todas as variáveis ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Em geral, o déficit hídrico imposto a  $-0,2$  MPa permitiu verificar variabilidade genética entre as cultivares avaliadas. Esse resultado foi semelhante ao relatado por Dantas et al. (2017), que também verificaram maior variabilidade genética entre cultivares de soja ao submetê-las ao déficit hídrico referente ao potencial osmótico de  $-0,2$  MPa.

Para a porcentagem de germinação, quase todas as cultivares, com exceção de BRS 239 e CD 217, obtiveram diferença significativa entre as duas condições de disponibilidade hídrica (Figura 2). Estas cultivares apresentaram comportamento igual nas duas condições que lhes foram impostas. Isto indica que ambas apresentam potencial fisiológico para germinação em situações adversas, uma vez que não apresentaram queda da germinação quando submetidas ao déficit hídrico.



**Figura 2:** Médias e desvios padrões de porcentagem de germinação de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

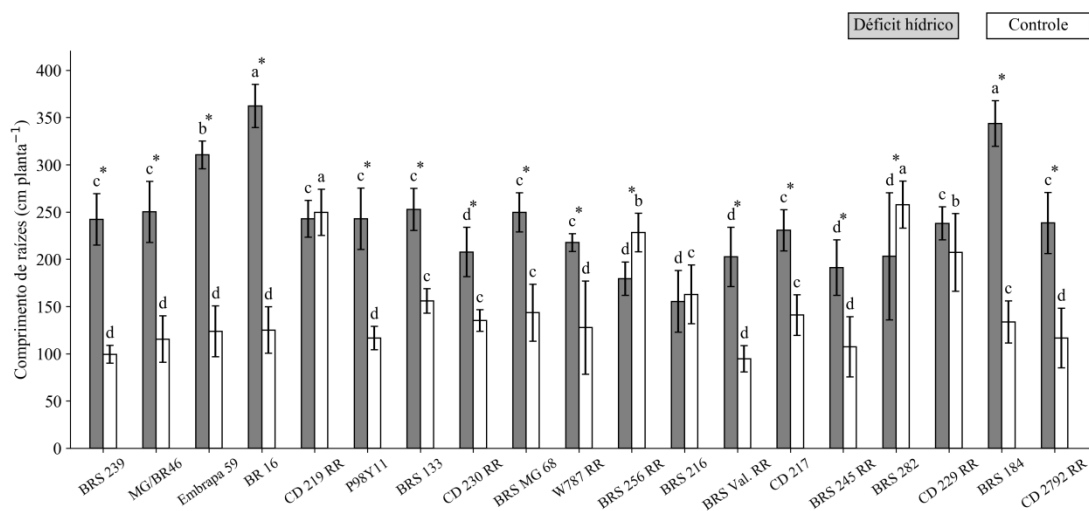
Sob déficit hídrico (condição estresse), foi observado menores porcentagens de germinação. A amplitude variou de 46,5 a 87,0%, sendo os maiores valores encontrados nas cultivares BRS 239 (83,5%) e BRS 216 RR (87,0%). Na condição controle, observaram-se maiores porcentagens de germinação, incluindo um maior número de cultivares no grupo de maior média (“a”). De modo geral, as cultivares

apresentaram elevadas porcentagens de germinação, indicando que as sementes utilizadas no estudo apresentavam adequada qualidade fisiológica. Isto sugere que as quedas observadas nas porcentagens de germinação quando as cultivares foram submetidas à condição de déficit hídrico, se devem a este fator e não ao vigor das sementes. CD 229 RR foi a cultivar que apresentou maior queda na germinação quando imposta à condição de déficit hídrico. A redução da porcentagem de germinação foi de 41%. A cultivar BRS 216, por outro lado, apresentou germinação acima de 80 % nas duas condições.

Visando a seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico, vários autores (Teixeira et al., 2008; Vieira et al., 2013; Dantas et al., 2017 ) observaram a eficácia de testes de germinação em condições de baixo potencial osmótico simulado com polietilenoglicol, bem como a resposta das cultivares nesta etapa e sua relação no campo e posteriormente, com a produtividade (Kosturkova et al., 2008). Vale ressaltar que Nepomuceno et al. (1994) classificaram a cultivar BRS 239 como tolerante ao déficit hídrico na fase reprodutiva e no presente estudo a mesma apresentou bom potencial germinativo quando submetido ao déficit hídrico. Tal fato indica a possibilidade de relação entre as performances apresentada pela planta na fase de germinação com a fase reprodutiva. Sendo assim, cultivares que apresentem padrão de tolerância, na fase inicial de desenvolvimento, possivelmente, apresentarão este mesmo padrão também no estágio reprodutivo.

Sob déficit hídrico, houve tendência de maior alongamento das raízes (Figura 3). Tal fato evidencia alta variabilidade entre as cultivares. BR 16 e BRS 184 se destacaram das demais, com valores médios de 362,1 e 343,8 cm, respectivamente.

Ao comparar as cultivares na condição sob déficit hídrico e na condição controle (Figura 3), verifica-se que em virtude da baixa disponibilidade hídrica, a planta tende a alongar o sistema radicular em busca de água e nutrientes. A BR 16 é considerada sensível a falta de água na fase reprodutiva (Oya, et al., 2004). Neste estudo, entretanto, foi a cultivar que apresentou maior diferença de comportamento (aumento de 189% no comprimento da raiz) quando submetida ao déficit hídrico. A provável explicação para esse resultado é que quando a seca é imposta na fase de desenvolvimento inicial, esta cultivar utiliza estratégias metabólicas e fisiológicas para lidar com a seca, como o aprofundamento da raiz no solo. Fenta et al. (2011), Fenta et al. (2014) e Thu et al. (2014) também observaram um maior comprimento de raiz em cultivares de soja com potencial de tolerância ao déficit hídrico.

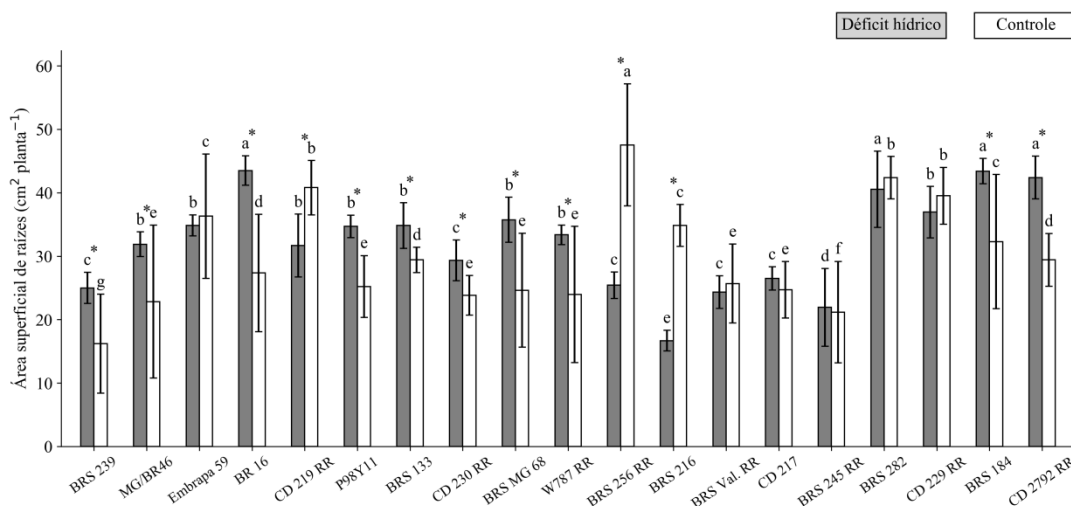


**Figura 3:** Médias e desvios padrões do comprimento de raízes de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

As plantas se adaptam ao déficit hídrico estimulando a redução da parte aérea e o crescimento de raízes para absorver ao máximo a umidade do solo, já que a secagem deste inicia pela superfície (Prasad et al., 2008; Shahzad et al., 2016). O comprimento da raiz é um traço particularmente importante para a absorção de água do solo (Song et al., 2016; Shahzad et al., 2017). Ademais, pequenas diferenças no crescimento da raiz podem resultar em grandes diferenças na absorção de água entre as cultivares (Lynch et al., 2011).

De acordo com Lynch (2013), a imposição da seca tende a aumentar a alocação de recursos vegetais para o crescimento das raízes na tentativa de favorecer a aquisição de água. Por isso, o custo metabólico do crescimento das raízes é um componente significativo na adaptação de uma planta ao estresse hídrico por seca (Lynch, 2007). Logo, uma planta capaz de acessar a água em domínios mais profundos do solo, com custo metabólico reduzido terá produtividade superior, uma vez que terá mais recursos metabólicos disponíveis para aquisição, crescimento e reprodução de recursos. Esta hipótese já foi testada em milho, em estudos empíricos de modelagem sob déficit hídrico (Zhu et al., 2010; Postma e Lynch, 2011; Jaramillo et al., 2013). Para Shao et al. (2008), cultivares estáveis e vigorosas, que produzem raízes mais profundas para alcançar a fonte de água, são consideradas candidatas à tolerância ao déficit hídrico.

Sob déficit hídrico, a área superficial apresentou comportamento bastante similar à variável anterior (Figura 4), de modo que, em geral, as cultivares apresentaram maior área superficial, do que na condição controle.

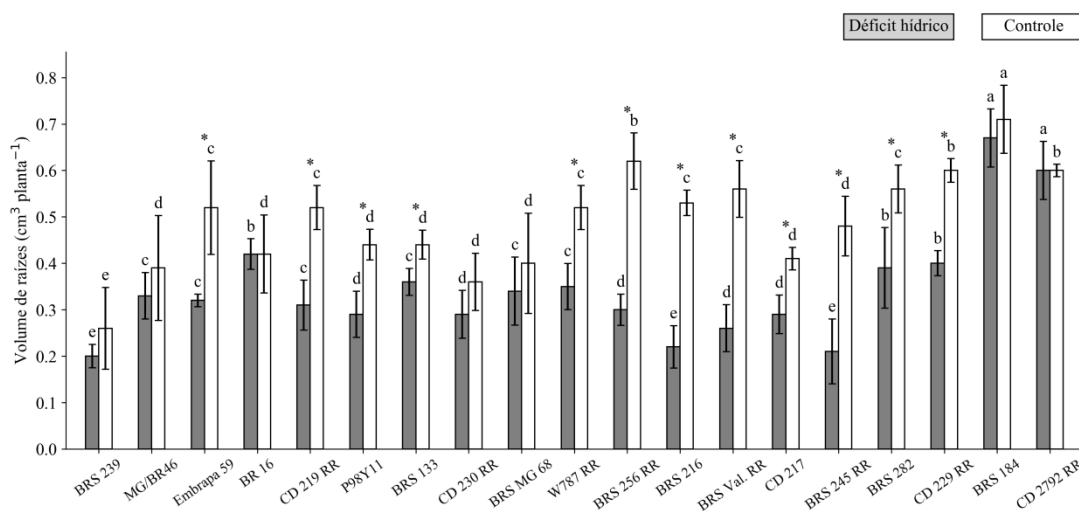


**Figura 4:** Médias e desvios padrões da área superficial de raízes de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

As cultivares BRS 184 (43,4 cm<sup>2</sup>), BR 16 (43,4 cm<sup>2</sup>), BRS 282 (40,5 cm<sup>2</sup>) e CD 2792 RR (42,3 cm<sup>2</sup>) agrupadas no grupo de maiores médias pelo teste Scott-Knott (Figura 4), demonstra maior capacidade destas, em explorar os recursos do solo. A cultivar BR 16 também foi a que apresentou maior aumento de área superficial (59%). Imada et al. (2008), relataram que a área da superfície radicular está relacionada a absorção de água e nutrientes. Desta forma, dez das cultivares em estudo (grupos a e b pelo teste Scott-Knott) desenvolveram uma maior área radicular como um mecanismo de tolerância ao déficit hídrico na fase inicial. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Fenta et al. (2014) que observaram aumento de área superficial em cultivares de soja sob déficit hídrico.

Na condição controle, a maioria das cultivares, apresentaram maior volume de raiz (Figura 5). Sob déficit hídrico, houve tendência de redução do volume de raiz das cultivares, o qual variou de 0,2 a 0,6 cm<sup>3</sup>. Nesta condição, as cultivares BRS 184 (0,6cm<sup>3</sup>) e CD 2792 RR (0,6cm<sup>3</sup>) apresentaram médias mais altas que as demais. Além de apresentar maiores médias, estas cultivares se destacaram por não

apresentar quedas para esta variável, quando submetidos ao déficit hídrico. Também Fenta et al. (2014) estudando 3 cultivares de soja no sul da África, observaram aumento do volume das raízes de todas as cultivares, quando impostas ao tratamento sob déficit hídrico.

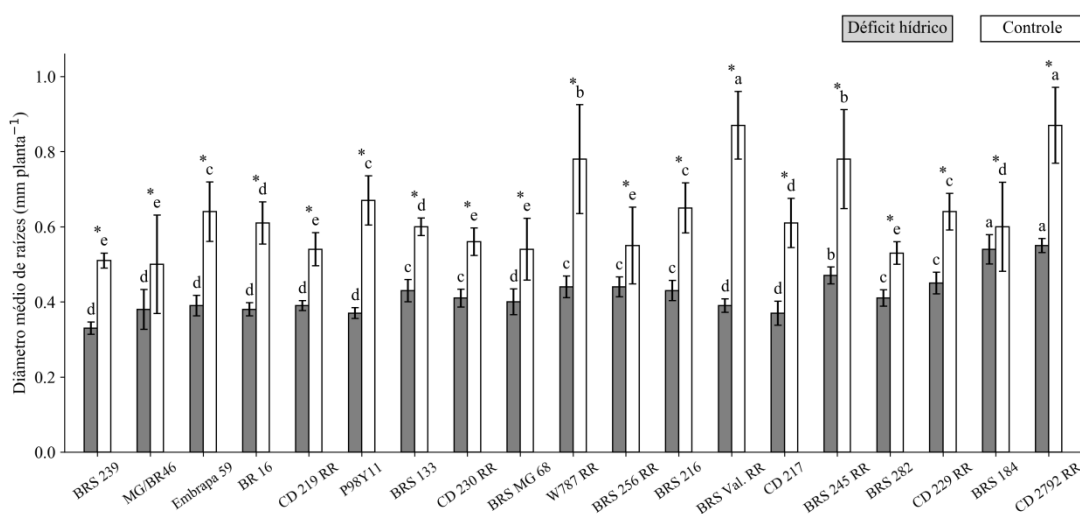


**Figura 5:** Médias e desvios padrões de volume de raízes de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Mesma tendência houve para a característica diâmetro médio das raízes, em que, na condição déficit hídrico os valores médios foram reduzidos. As cultivares que apresentaram maiores reduções de diâmetro foram as seguintes: Embrapa 59 (39 %), BR 16 (37 %), P98Y 11 (44 %), W787 RR (43 %), BRS Valiosa RR (55 %), CD 217 (39 %) e BRS 245 RR (39 %). Cultivares que apresentam diâmetros médios de raízes inferiores a 0,5 mm, quando submetidos à presença de estresse hídrico, são classificadas como cultivares de raízes finas ou muito finas conforme definido por Bohm (1979). Segundo Smith e Read (2008) as raízes finas, ou muito finas, por explorarem maior volume de solo, tendem a aumentar a absorção de água e nutrientes, bem como promover um maior crescimento total da raiz (Oya et al., 2015).

Ainda com relação à redução do diâmetro da raiz na presença do estresse, a literatura relata que as plantas podem adotar duas estratégias. Uma estratégia seria o desenvolvimento de raízes finas, conferindo maior tolerância ao estresse hídrico, já que raízes mais finas conseguem sobreviver melhor à secas. Uma outra estratégia

seria ocasionar a morte de raízes próximas da superfície do solo, a fim de promover o crescimento de outras raízes em áreas de maior umidade (Huang et al., 1997).

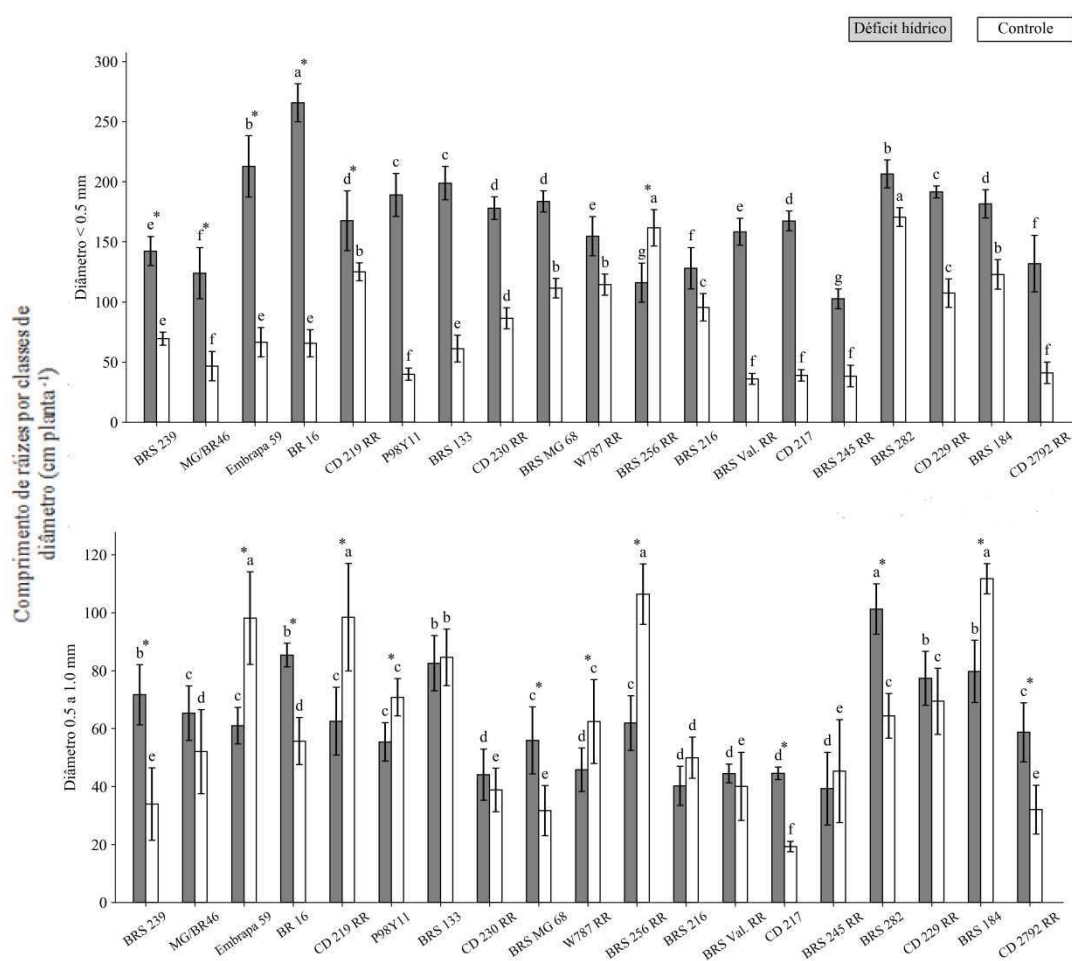


**Figura 6:** Médias e desvios padrões de diâmetro médio de raízes de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

A presença de raízes finas ainda pode ser explicada como um mecanismo encontrado pela planta para evitar problemas relacionados à cavitação. A falta de água no solo, leva as raízes a se empenharem mais em busca de áreas mais úmidas, expondo-as a uma elevada tensão. Isto pode ocasionar a cavitação nos vasos que conduzem água e nutrientes das raízes para as demais partes da planta. De acordo com Brodrribb et al. (2003), a cavitação nada mais é que um processo no qual uma fase de vapor é introduzida na coluna de água do xilema originando o chamado embolismo, o qual, por sua vez, provoca quebra de continuidade no transporte de água. Esta parece ser uma importante estratégia desenvolvida pelas raízes, já que a embolia é uma das principais causas de morte das plantas durante a seca (Choa et al., 2016).

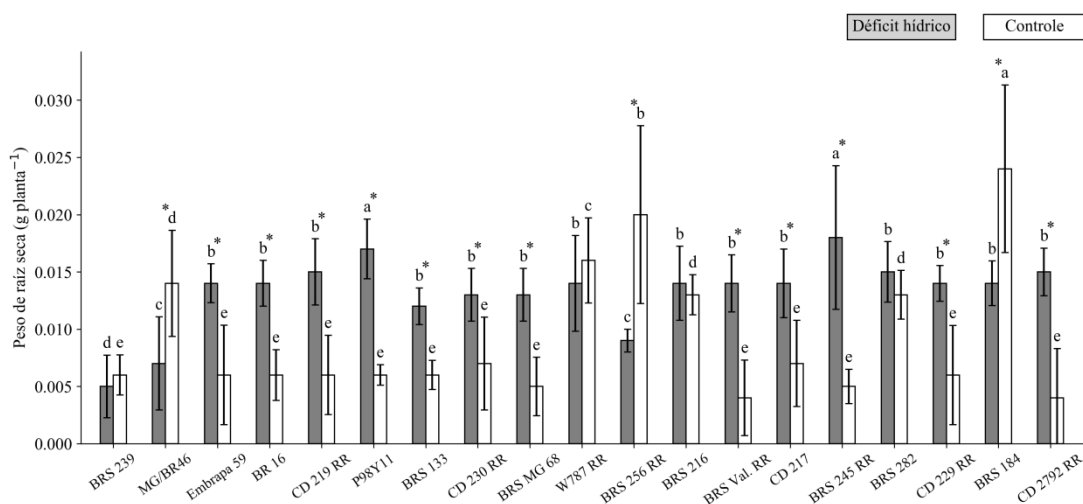
O déficit hídrico afetou a proporção de raízes finas (< 0,5 mm) em todas as cultivares (Figura 7), havendo diferença significativa (p-valor <0,05%) entre as duas condições. As cultivares de soja concentraram mais de 150 % do comprimento da raiz na classe de raízes finas (< 0,5), sob déficit hídrico. Isso se deve ao fato de que, sob déficit hídrico, as cultivares desenvolveram maior número de raízes laterais e,

estas, eram mais extensas e finas, do que as raízes desenvolvidas na condição controle.



**Figura 7:** Médias e desvios padrões de comprimento de raízes por classes de diâmetros de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Sob déficit hídrico, de modo geral, houve incremento do peso de raiz seca (Figura 8), indicando maior acúmulo de biomassa nas raízes de soja em condição de déficit hídrico. Assim como observado nas variáveis anteriores, as cultivares apresentaram elevada variabilidade para esta variável.



**Figura 8:** Médias e desvios padrões do peso de raiz seca de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Para Magalhães et al. (2011) a busca de novos descritores que refletem a produtividade, como a caracterização das raízes é de suma importância. Para esses autores, sob baixa disponibilidade de água e nutrientes, as plantas aumentam a alocação de biomassa nas raízes. Ao alterar a sua estrutura de crescimento das raízes, as plantas que utilizam estratégias de tolerância à seca podem explorar a água em camadas mais profundas do solo, permitindo um aumento do rendimento de grãos (Uga et al., 2013). De acordo com Poorter et al. (2012) e Bardgett et al. (2014), a plasticidade da raiz é essencial para superar e lidar com o déficit hídrico.

A análise de agrupamento pelo método de Tocher, o qual é realizado identificando-se grupos de indivíduos semelhantes utilizando a matriz de dissimilaridade de Mahalanobis, possibilitou a divisão das cultivares em quatro grupos (Tabela 2).

No grupo I ficaram incluídas 13 cultivares, correspondendo a 68% das cultivares em estudo. As cultivares pertencentes a este grupo apresentaram menor porcentagem de germinação e baixa resposta morfológica de raiz frente ao déficit hídrico imposto. O grupo II agregou três cultivares, representando 15% do total. Estas cultivares (BRS 256 RR, BRS 245 RR e BRS 216) apresentaram maior porcentagem de germinação.

**Tabela 2:** Agrupamento de Tocher baseado na distância de Mahalanobis e médias de cada grupo para as características porcentagem de germinação (GER), comprimento de raiz (COR), área superficial da raiz (ASR), volume de raiz (VOL), peso de raiz seca (PRS), diâmetro médio (DM), e comprimento de raiz com bases nas classificações de diâmetro (CCD) (<0,5 e entre 0,5 - 1,0 mm), de raízes de cultivares de soja submetidas a condição de déficit hídrico.

Grupo	Cultivar	Médias das variáveis							
		GER (%)	COR (cm)	ASU (cm <sup>2</sup> )	VOL (cm <sup>3</sup> )	PRS (g)	DM (mm)	CCR (<0,5)	CCD (>0,5)
I	BRS 133, CD 229 RR, W787 RR, CD 219 RR, MG/BR 46, BRS VALIOSA RR, CD 230 RR, BRS MG 68, CD 217, BRS 282, P98Y11, CD 2729 RR, BRS 239	61	232	32	0,33	0,01	0,40	168	63
II	BRS 256, BRS 245 RR, BRS 216	77	175	21	0,24	0,01	0,44	115	47
III	BR 16, BRS 184	65	352	43,49	0,54	0,01	0,45	223	82
IV	EMBRAPA 59	72	310	34	0,31	0,01	0,33	212	60

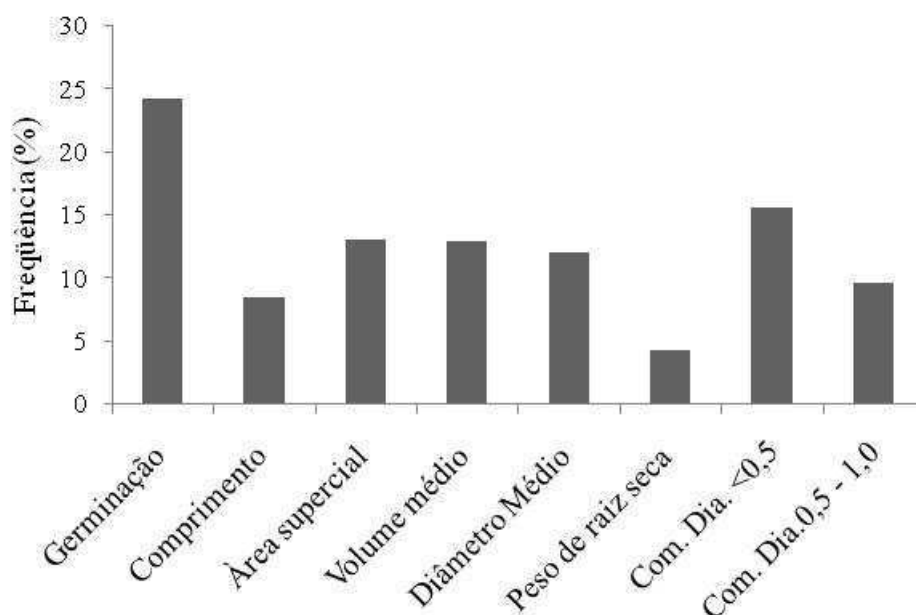
O grupo III foi composto apenas por duas cultivares (BR 16 e BRS 184) sendo que a mesma apresentou bom desempenho para todas as características do sistema radicular, com exceção do diâmetro médio, e reduzida perda de germinação. A cultivar BR 16 é recomendada pela literatura como sensível ao déficit hídrico na fase reprodutiva (Oya et al., 2004) por apresentar perdas do rendimento. No entanto, neste estudo, embora tenha apresentado uma redução considerável da germinação, ela apresentou bom potencial de tolerância para as características inerentes ao sistema radicular. No grupo IV, por outro lado, ficou alocada a cultivar Embrapa 59, a qual apresentou taxa de germinação considerável, e foi a cultivar que mais reduziu o diâmetro médio das raízes.

Diante destes resultados, sugerem-se o cruzamento entre as cultivares pertencentes ao grupo II (características de germinação) com as cultivares do grupo III e IV (Características de raiz), a fim de favorecer maior exploração da variabilidade genética, obtendo-se maiores ganhos nas populações segregantes, para as características de interesse, a citar germinação e às inerentes ao sistema radicular.

Segundo Cruz e Regazzi (2004), o estabelecimento de grupos com genótipos com homogeneidade e heterogeneidade entre os grupos é o ponto de partida para uma avaliação mais aprofundada dos mesmos, a fim de realizar seu uso em programas de melhoramento. Os autores supramencionados sugerem ainda que não deve haver o envolvimento de indivíduos com o mesmo padrão de dissimilaridade nos cruzamentos, não restringindo a variabilidade genética, de forma a evitar os efeitos negativos nos ganhos obtidos por seleção.

A análise de importância de caracteres demonstrou que das características em estudo, a germinação foi a que mais contribuiu para a diversidade genética entre as cultivares (24, 3%) (Figura 9). Das inerentes ao sistema radicular, o comprimento de raiz na classe de menor diâmetro foi a que mais contribuiu para a diversidade genética (15,6%), seguida de área superficial (13,1 %), volume médio (12,9 %), diâmetro médio (11,9 %) e comprimento de raiz na classe de diâmetro entre 0,5 e 1,0 (9,5 %). Estas características juntas explicaram aproximadamente 87,3 % da dissimilaridade genética entre as cultivares de soja avaliadas e, portanto, devem ser priorizadas na seleção de cultivares tolerantes ao déficit hídrico. Já a variável peso de raiz seca e comprimento contribuíram com apenas 4,3 e 8,4 % da diversidade genética, respectivamente.

Atenção especial deve ser dada à análise supramencionada, já que esta é considerada de grande importância para selecionar características que melhor discriminem cultivares. De posse de tais informações, o melhorista pode então, dispensar mensurações de variáveis que se apresentem menos relevantes. Assim, tal análise pode ser útil na condução de hibridações que favoreçam a exploração da variabilidade genética no processo de seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico. De acordo com Fehr (1987), o uso de genitores com diversidade genética insuficiente na formação de populações para hibridação reduz a variabilidade genética das características. Além disso, estes genitores devem ser tolerantes ao déficit hídrico.



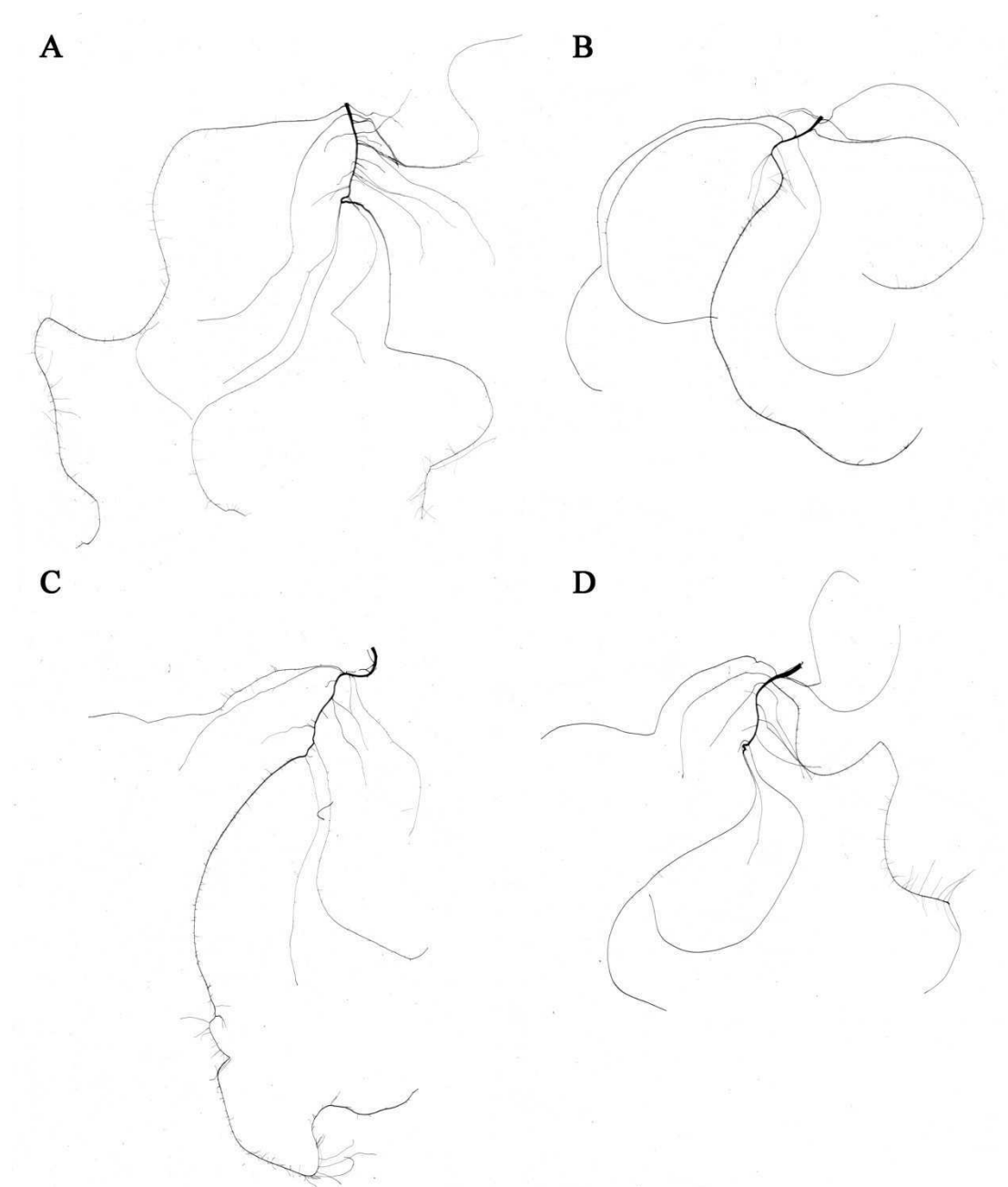
**Figura 9:** Contribuição relativa das variáveis porcentagem de germinação e das relacionadas ao sistema radicular (comprimento, área superficial, volume, diâmetro médio, peso de raiz seca e comprimento por classes de diâmetro, sendo menores que 0,5 mm (Com. Dia. < 0,5) e entre 0,5 e 1,0 mm (Comp. Dia. 0,5 - 1,0) para estudo de diversidade genética, utilizando a metodologia de Singh (1981), determinadas em 19 cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico.

A arquitetura de raiz da cultivar BRS 184 e BRS 216 RR sob a condição de déficit hídrico (Figura 10 A e C) e condição controle (Figura 10 B e D) são apresentadas na Figura 10.

De modo geral, observou-se que o déficit hídrico promoveu diferentes respostas em todas as cultivares avaliadas, ou seja, para todas as variáveis, houve efeito do déficit hídrico. Ao comparar a condição controle com a condição sob déficit hídrico, foi possível observar que as cultivares de soja alteraram a morfologia radicular quando foram impostas ao déficit hídrico. Em resumo, o déficit hídrico ocasionou queda da germinação, aumento considerável do comprimento das raízes, da área superficial e do peso de raiz seca. Promoveu ainda redução do volume e do diâmetro médio das cultivares de soja, sendo observado maior ocorrência de raízes finas.

Os resultados observados neste estudo, realizado em laboratório, na fase inicial de desenvolvimento, estão de acordo com os relatados por Fenta et al. (2014), que encontraram resultados semelhantes para cultivares de soja sob déficit hídrico em condição de campo. Sendo assim, estudos como este contribuem com os

programas de melhoramento, podendo ser útil para seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico, na fase inicial de desenvolvimento.



**Figura 10:** Raízes das cultivares BRS 184 (A e B) e BRS 216 RR (C e D), sob a condição de déficit hídrico (A e C) e condição controle (B e D), para as duas cultivares, respectivamente.

## **CONCLUSÕES**

Há variabilidade entre as cultivares de soja para cada uma das características estudadas.

O déficit hídrico promoveu alterações nas cultivares de soja em todas as variáveis analisadas, especialmente no aumento do comprimento e redução do diâmetro.

As características germinação e comprimento de raiz na classe de diâmetro inferior a 0,5 mm são as que mais contribuem em estudos de diversidade genética, na condição de déficit hídrico.

As cultivares BRS 184 e CD 2792 RR apresentam potencial de tolerância ao déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALEEM, H.; LEE, G.; BOERMA, R.H. Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. **Theor Appl Genet**, v.122, p.935–46, 2011.

AJIGBOYE, O. O.; LU, C.; MURCHIE, E. H.; SCHLATTER, C.; SWART, G.; RAY, R. V. Altered gene expression by sedaxane increases PSII efficiency, photosynthesis and growth and improves tolerance to drought in wheat seedlings. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.137, p.49-61, 2017.

BENGOUGH, A.G.; MCKENZIE, B.M.; HALLETT, P.D.; VALENTINE, T.A. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.59–68, 2011.

BOHM, W. Container methods. In: **Methods of studying root systems**. Springer, Berlin, Heidelberg, p.95-114, 1979.

BOLAT, I.; DIKILITAS, M.; ERCISLI, S.; IKINCI, A.; TONKAZ, T. The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. **The Scientific World Journal**, 2014.

BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M.; EDWARDS, E.J.; GUTIERREZ, M.V. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. **Plant, Cell and Environment**, v.26, p.443–450, 2003.

CHOA, B.; BADEL, E.; BURLETT, R.; DELZON, S.; COCHARD, H.; JANSEN, S. Noninvasive measurement of vulnerability to drought-induced embolism by X-ray microtomography. **Plant Physiology**, v.170, p.273-282, 2016.

Ciscar, J. C. The impacts of climate change in Europe (the PESETA research project). **Climatic Change**, v.112, p.1-6, 2012.

CRUZ CD. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum** v.35, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DANTAS, S. A. G; SILVA; F. C. S.; SILVA, L. J.; SILVA, F. L. Strategy for selection of soybean genotypes tolerant to drought during germination. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 16, 2017.

DWEVEDI, A.; KAYASTHA, A.M. Soybean: a Multifaceted Legume with Enormous Economic Capabilities. In: **Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology**, InTech Europe University Campus STeP Ri Slavka Krautzeka 83/A 51000 Rijeka, Croatia, 2011.

F.A.O. stat. **Food Agriculture Organization of the United Nations** (2013) (Statistical database).

FEHR, W.R. **Principles of cultivar development**. Macmillan, New York. P. 536, 1987.

FENTA, B. A.; BEEBE, S. E.; KUNERT, K. J.; BURRIDGE, J. D.; BARLOW, K. M.; LYNCH, J. P.; FOYER, C. H. Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. **Agronomy**, v.20, p.418-435, 2014.

FENTA, B.A.; DRISCOLL, S.P.; KUNERT, K.J.; FOYER, C.H. Characterization of drought tolerance traits in nodulated soybeans: The importance of maintaining photosynthesis and shoot biomass under drought-induced limitations on nitrogen metabolism. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.9, p.181-200, 2011.

FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.564-570, 2002.

HUANG, B.; DUNCAN, R.R.; CARROW, R.N. Drought-resistance mechanisms of seven warm-season turfgrasses under surface soil drying II Root aspects. **Crop Science**, v.37, p.1863-1869, 1997.

HUBBARD, M.; GERMIDA, J.; VUJANOVIC, V. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. **Botany**, v.90, p.137-149, 2012.

HUND, A.; TRACHSEL, S.; Stamp, P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform. **Plant and Soil**, v.325, p.335-349, 2009.

IMADA S.; YAMANAKA N.; TAMAI S. Water table depth effects *Populus alba* fine root growth and whole plant biomass. **Functional Ecology**, v.22, p.1018-1026, 2008.

JARAMILLO, R. E.; NORD, E. A.; CHIMUNGU, J. G.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical burden influences drought tolerance in maize. **Annals of Botany**, v.112, p.429-437, 2013.

KIDOKORO, S.; WATANABE, K.; OHORI, T.; MORIWAKI, T.; MARUYAMA, K.; MIZOI, J.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Soybean DREB1/CBF type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression. **The Plant Journal**, v.81, p.505-518, 2015.

KOBRAEE, S.; SHAMSI, K.; VAGHAR, M.S. Effect of irrigation and micronutrient foliar application on quality and quantity parameters of soybean. **Current Biotica**, v.7, p.275-282, 2014.

KOSTURKOVA, G.; TODOROVA, R.; SAKTHIVELU, G.; AKITHA DEVI, M. K.; GIRIDHAR, P.; RAJASEKARAN, T.; RAVISHANKAR, G. A. Response of bulgarian and indian soybean genotypes to drought and water deficiency in field and laboratory conditions. **General and applied plant physiology**, v.34, p.3-4, 2008.

LIANG, H.; YU, Y.; YANG, H.; XU, L.; DONG, W.; DU, H. Inheritance and QTL mapping of related root traits in soybean at the seedling stage. **Theoretical and Applied Genetics**, v.127, p.2127-37, 2014.

LYNCH, J. P. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. **Annals of Botany**, v.112, p.347-357, 2013.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C.; CANTÃO, F. R. Early evaluation of root morphology of maize genotypes under phosphorus deficiency. **Plant Soil Environ**, v.57, p.135-138, 2011.

MANAVALAN, L. P.; GUTTIKONDA, S. K.; NGUYEN, V. T.; SHANNON, J. G.; NGUYEN, H.T.; Evaluation of diverse soybean germplasm for root growth and architecture. **Plant and Soil**. v.14, p.330-503, 2010.

MANAVALAN, L.P.; GUTTIKONDA, S. K.; TRAN, L. S.P.; NGUYEN, H.T. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. **Plant Cell Physiol**, v.50, p.1260-1276, 2009.

MATSUO, N.; TAKAHASHI, M.; FUKAMI, K.; TSUCHIYA, S.; TASAKA, K. Root growth of two soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars grown under different groundwater level conditions. **Plant Production Science**, v.16, p.374-382, 2013.

MELO, E. F.; FERNANDES-BRUM, C. N.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. D.; CHALFUN-JÚNIOR, A. Anatomic and physiological modifications in seedlings of *Coffea arabica* cultivar Siriema under drought conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, p.25-33, 2014.

NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Efeitos da disponibilidade hídrica no solo sobre a cultura da soja. In **EMBRAPA-CNPQSO. Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil**, Londrina, PR, p. 42-43, 1994.

OYA, T.; NEPOMUCENO, A.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; TOBITA, S.; ITO, O. Drought Tolerance Characteristics of Brazilian Soybean Cultivars - Evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v.7, P.129-137, 2015.

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

PATADE, V.Y.; MAYA, K.; ZAKWAN, A. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. **Research Journal of Seed Science**, v.4, p.125 -136, 2011.

POORTER, H.; BUHLER, J.; Van DUSSCHOTEN, D.; CLIMENT, J.; POSTMA, J. A. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. **Functional Plant Biology**, v.39, p.839-850, 2012.

POSTMA, J. A.; LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma enhances the growth of maize on soils with suboptimal availability of nitrogen, phosphorus, and potassium. **Plant Physiol**, v.156, p.1190-1201, 2011.

PRASAD, P. V. V.; STAGGENBORG, S. A.; RISTIC, Z. Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth and yield processes of crop plants. In: Response of crops to limited water: **Understanding and Modeling Water Stress effects on plant growth processes**, v.301-355, 2008.

PRINCE, S. J.; SONG, L.; QIU, D.; SANTOS, J. V. M.; CHAI, C.; JOSHI, T.; KRAMPIS, K. Genetic variants in root architecture-related genes in a Glycine soja accession, a potential resource to improve cultivated soybean. **BMC genomics**, v.16, p.132, 2015.

PRINCE, S.J.; MUTAVA, R.N.; PEGORARO, C.; OLIVEIRA, A.C.D.; NGUYEN, H.T. Root characters. In *Genomics and Breeding for Climate Resilient Crops*; Kole, C. Ed.; Springer: Berlin, Germany, 2013; p. 67–131.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research** New York: John Wiley and Sons, 1952. 390 p.

SADOK, W.; SINCLAIR, T. R. Crops yield increase under water-limited conditions: review of recent physiological advances for soybean genetic improvement. **Advances in Agronomy**, v.113, p.313–338, 2011.

SCHIERMEIER, Q. Water risk as world warms ‘first comprehensive global impact project shows that water scarcity is a major worry. **Nature**, v.505 p.10, 2014.

SHAHZAD, M. A.; JAN, S. U.; AFZAL, F.; KHALID, M.; GUL, A.; SHARMA, I.; AHMAD, P. Drought stress and morphophysiological responses in plants. **Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach**, p.452-467, 2016.

SHAHZAD, Z.; AMTMANN, A. Food for thought: how nutrients regulate root system architecture. **Current opinion in plant biology**, v.39, p.80-87, 2017.

SHAO, H. B.; CHU, L.Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p.215–225, 2008.

SILVA, T. R. D.; CAZETTA, J. O.; CARLIN, S. D.; TELLES, B. R. Drought-induced alterations in the uptake of nitrogen, phosphorus and potassium, and the

relation with drought tolerance in sugar cane. **Ciência e Agrotecnologia**, v.41, p.117-127, 2017.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3. ed. Boston: Academic Press, 2008. 787p.

SOLIMAN, H. L. A.; HENDAWY, M. H. Selection for drought tolerance genotypes indurum wheat (*Triticum durum* Desf) under in vitro conditions. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.14, p.69-78, 2013.

SONG, L.; PRINCE, S.; VALLIYODAN, B.; JOSHI, T.; SANTOS JUNIOR, V. M.; WANG, J. Genome-wide transcriptome analysis of soybean primary root under varying water-deficit conditions. **BMC Genomics**, v.17, p.57, 2016.

STOLF, R.; MEDRI, M. E.; PIMENTA, J. A.; BOEGER, M. R. T.; DIAS, J.; LEMOS, N. G.; FARIAS, J. R. B. Morpho-anatomical and micromorphometrical evaluations in soybean genotypes during water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.1321-1331, 2009.

STEUDLE, E.; PETERSON, C. A. How does water get through roots? **Journal of Experimental Botany**, v.49, p.775-778, 1998.

SWIGONSKA, S.; WEIDNER, S. Proteomic analysis of response to long-term continuous stress in roots of germinating soybean seeds. **Journal of plant physiology**, v.170, p.470-479, 2013.

TEIXEIRA, L. R.; LUCCA, A.; BRACCINI, D. S.; SCAPIM, C. A. Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol contendo polietileno glicol contendo polietileno glicol. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.30, p.217-223, 2008.

TESFAYE, K.; KRUSEMAN, G.; CAIRNS, J. E.; ZAMAN-ALLAH, M.; WEGARY, D.; ZAIDI, P. H.; ERENSTEIN, O. Potential benefits of drought and heat tolerance for adapting maize to climate change in tropical environments. **Climate Risk Management**, 2017.

THU, N. B. A.; NGUYEN, Q. T.; HOANG, X. L. T.; THAO, N. P.; TRAN, L. S. P. Evaluation of drought tolerance of the Vietnamese soybean cultivars provides potential resources for soybean production and genetic engineering. **BioMed research international**, 2014.

TOGNON, G. B.; PETRY, C.; CUQUEL, F. L. Response to water deficit of *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. **Ciência e Agrotecnologia**, v.36, p.318-324, 2012.

TRACHSEL, S.; KAEPLER, S.M.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Shovelomics: High throughput phenotyping of maize root architecture in the field. **Plant Soil**, v.341, p.75-87, 2011.

TRIPATHI, P.; RABARA, R. C.; REESE, R. N.; MILLER, M. A.; ROHILA, J. S.; SUBRAMANIAN, S.; RUSHTON, P. J. A toolbox of genes, proteins, metabolites and promoters for improving drought tolerance in soybean includes the metabolite coumestrol and stomatal development genes. **BMC genomics**, v.17, p.102, 2016.

UGA, Y.; SUGIMOTO, K.; SATOSHI, S.; OGAWA, S.; RANE, J.; ISHITANI, M.; HARA, N.; KITOMI, Y.; INUKAI, Y.; ONO, K.; KANNO, N.; INOUE, H.; TAKEHISA, H.; MOTOYAMA, R.; NAGAMURA, Y.; WU, J.; MATSUMOTO, T.; TAKAI, T.; OKUNO, K.; YANO, M. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**, v.45, p.1097-1105, 2013.

VIEIRA, F. C. F.; SANTOS JUNIOR, C. D.; NOGUEIRA, A. P. O.; DIAS, A. C. C. Hamawaki, O. T.; Bonetti, A. M. Physiological and biochemical aspects of soybean cultivars submitted to water deficit induced by peg 6000. **Bioscience journal**, v.29, P.542-551, 2013.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1957-1968, 1991.

WALTER, J.; NAGY, L.; HEIN, R.; RASCHER, U.; BEIERKUHNLEIN, C.; WILLNER, E.; JENTSCH, A. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, p.34-40, 2011.

ZAHOR, R.; ZHAO, W.; DONG, H.; SNIDER, J. L.; ABID, M.; IQBAL, B.; ZHOU, Z. Potassium improves photosynthetic tolerance to and recovery from episodic drought stress in functional leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v.119, p.21-32, 2017.

ZHAO, J.; FU, J.; LIAO, H.; HE, Y.; NIAN, H.; HU, Y.; QIU, L.; DONG, Y.; YAN, X. Characterization of root architecture in an applied core collection for phosphorus efficiency of soybean germplasm. **Chinese Science Bulletin**, 2004, 49, 1611–1620.

ZHU, J.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell Environ**, v.33, p.740–749, 2010.

## **CAPÍTULO II: ANATOMIA DE RAÍZES DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO**

## RESUMO

As raízes das plantas assumem importância vital na tolerância à seca, já que são os primeiros órgãos a detectarem o déficit hídrico. Uma melhor compreensão dos efeitos do déficit hídrico em raízes de soja é essencial para orientar os esforços dos melhoristas quanto à seleção de cultivares tolerantes. Sendo assim, o uso de mensurações anatômicas pode auxiliar os programas de melhoramento, já que o déficit hídrico provoca alterações nos tecidos condutores, redução de área celular, espessamento da cutícula, dentre outros fatores. Objetivou-se, portanto, mensurar as alterações anatômicas da região do coleto e do ápice radicular de raízes de cultivares de soja sob déficit hídrico. O déficit hídrico foi simulado em laboratório com o uso do polietilenoglicol no potencial osmótico de  $-0,2$  MPa, dissolvido em solução nutritiva. Quinze dias após a imposição do estresse, foram coletadas amostras próximo ao coleto e a  $0,5$  cm do ápice da raiz principal. Estas foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em resina metacrilato. Procedeu-se secções transversais de  $5\mu\text{m}$ , os quais foram corados com azul de toluidina. Feito isso, realizou-se os registros fotográficos, para posteriormente, proceder com as medições dos caracteres anatômicos. O déficit hídrico provocou alterações anatômicas nas raízes das cultivares de soja. Sob déficit hídrico, as cultivares apresentaram menor área de sessão transversal total, bem como a redução da área de sessão transversal do córtex e do cilindro central na região do coleto, quando comparadas à condição controle. Também sob déficit hídrico, houve maior espessamento da epiderme e maior diferenciação dos tecidos vasculares na condição sob déficit hídrico, do que na condição controle. BRS 184 ( $0,44\text{ mm}^2$ ) e CD 229 RR ( $0,41\text{ mm}^2$ ) apresentaram maior área de sessão transversal de floema sob déficit hídrico. Para a variável área de sessão transversal de xilema, sob déficit hídrico, 63% das cultivares apresentaram maiores médias, quando comparadas à condição controle. O déficit hídrico provoca alterações anatômicas nas raízes das cultivares de soja. As cultivares apresentam elevada variabilidade para todas as variáveis analisadas, quando submetidas ao déficit hídrico. Esse tipo de estresse acelera o processo de diferenciação dos tecidos. As cultivares CD 229, BRS 184 e CD2797 RR apresentam potencial tolerância ao estresse hídrico por seca.

**Palavras chaves:** *Glicine max* L.; PEG 6000; caracteres anatômicos.

## ABSTRACT

The plant roots assume vital importance in drought tolerance, since are the first organs to detect the water deficit. A better understanding of the effects of water deficit on soybean roots is essential to guide the efforts of breeders in the selection of tolerant cultivars. Therefore, the use of anatomical measurements may aid breeding programs, since the water deficit causes alterations in conductive tissues, reduction of cell area, cuticle thickening, among other factors. The objective was to measure the anatomical alterations of the coleto region and the apex of roots of soybean cultivars under water deficit. The water deficit was simulated in laboratory with the use of polyethylene glycol at the osmotic potential of -0.2 MPa, dissolved in nutrient solution. Fifteen days after the imposition of stress, samples were collected near the coleto and 0.5 cm from the apex of the main root. These were dehydrated in increasing ethylic series and included in methacrylate resin. Cross sections of 5 $\mu$ m were obtained, which were stained with toluidine blue. Once this was done, the photographic records were taken, and later, the measurements of the anatomical characters were carried out. The water deficit caused anatomical changes in the roots of soybean cultivars. Under water deficit, the cultivars showed a smaller total cross-sectional area, as well as reduction of the cross-sectional area of the cortex and central cylinder in the coleto region when compared to the control condition. Also under water deficit, there was greater thickening of the epidermis and greater differentiation of vascular tissues in the condition of water deficit, than in the control condition. BRS 184 (0.44 mm<sup>2</sup>) and RR 229 RR (0.41 mm<sup>2</sup>) presented greater cross-sectional area of phloem under water deficit. For the cross-sectional area of xylem, under water deficit, 63% of the cultivars presented higher averages when compared to the control condition. The water deficit causes anatomical changes in the roots of soybean cultivars. The cultivars present high variability for all analyzed variables, when submitted to water deficit. This type of stress accelerates the process of tissue differentiation. The cultivars CD 229, BRS 184 and CD2797 RR present potential tolerance to water stress due to drought.

**Key Words:** *Glicine max* L.; PEG 6000; anatomical characters.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine Max* L.) é uma das culturas mais importantes no mundo, principalmente pelo seu alto valor nutricional (Armendariz et al., 2016) e a sua utilização na produção de bicompostíveis (Veza et al., 2018). Dentre os cereais e as leguminosas, a soja tem se destacado como a principal cultura brasileira em função do seu retorno econômico ao produtor (IBGE 2016). O Brasil se apresenta como o segundo maior produtor mundial, com uma produção de 113,923 milhões de toneladas, perdendo apenas para os Estados Unidos (Embrapa 2017).

Embora a soja tenha apresentado altas produtividades no Brasil, com o agravamento das condições climáticas esta cultura pode apresentar perdas de até 40% da produção ao ano (Thao e Tran, 2012) já que apresenta sensibilidade ao déficit hídrico (Manavalan et al., 2010). Devido ao potencial dano causado por este tipo de estresse, vários estudos visando compreender os mecanismos de resposta das culturas quando submetidas ao déficit hídrico têm sido realizados (Ennageh et al., 2010; Bauerle et al., 2011; Fu et al., 2012; Ghanbari et al., 2012; Dayer et al., 2017; Fernández et al., 2017).

O polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) vem sendo utilizado em laboratório para simular o déficit hídrico (Huanget et al., 2013; Soliman e Hendawy 2013; Dantas, et al., 2017; Flores et al., 2017). Trata-se de um dos produtos mais utilizados para simulação deste tipo de estresse. Isto se deve ao fato do PEG 6000 ser um produto quimicamente inerte, atóxico, além de não ser absorvido pelas sementes, já que se apresenta em moléculas maiores (Villela et al., 1991). Ademais, ele facilita o acesso e avaliação do sistema radicular (Soliman e Hendawy 2013). O potencial osmótico de -0,2 MPa foi recomendado para a discriminação de cultivares de soja tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico na fase de germinação (Dantas et al., 2017). Outro estudo demonstrou que em condição de campo, o potencial hídrico do solo no ponto de murcha permanente para a cultura da soja se encontra próximo a 250 Kpa (Procópio et al., 2004).

Uma melhor compreensão dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas é vital para melhorar as práticas de manejo das culturas, e para orientar os esforços dos melhoristas em períodos de mudanças climáticas (Chaves et al., 2003). Na tentativa de entender o comportamento das cultivares, os programas de melhoramento de soja têm buscado aliar o estudo de características fisiológicas, morfoanatômicas,

genéticas e bioquímicas às mensurações clássicas para identificar cultivares tolerantes ao déficit hídrico. Quando as plantas são submetidas ao déficit hídrico, modificações anatômicas ocorrem. Os tecidos podem apresentar redução do tamanho das células, espessamento da parede celular (Tenhaken, 2015), alterações nas relações dos tecidos condutores, espessamento da cutícula, dentre outros fatores (Fang e Xiong, 2014; Zheng et al., 2017).

As raízes podem ser consideradas sensores que detectam mudanças de potencial na solução do solo, e desempenham papel importante na tolerância das plantas ao déficit hídrico (Shao et al., 2008). No caso da soja, os relatos encontrados até o presente momento demonstram que o déficit hídrico provoca alterações anatômicas nas raízes (Makbul et al., 2011), como por exemplo, redução da área de seção transversal do ápice da raiz e do córtex, e aumento da diferenciação dos tecidos (Lavres Junior et al., 2009; Oya et al., 2009; Makbul et al., 2011; Purushothaman et al., 2013). Entretanto, os resultados já obtidos se mostram incipientes, já que os estudos, em geral, utilizam um número reduzido de cultivares, e são focados no estágio reprodutivo. Apenas um estudo realizado recentemente nos Estados Unidos avaliou anatomia de 41 linhagens de soja em estágio vegetativo, sob déficit hídrico (Prince et al., 2017).

Dada a importância assumida pela soja, e tendo em vistas as lacunas existentes quanto à anatomia radicular de cultivares brasileiras de soja em condição de déficit hídrico, no estágio inicial, estudos que visem à caracterização anatômica, de forma detalhada, se mostram bastante pertinentes. O entendimento acerca dos feixes vasculares, se há presença de aerênquimas, alterações da epiderme, a velocidade com que os tecidos se diferenciam, dentre outras características é crucial para estabelecer as primeiras estratégias ao se trabalhar com déficit hídrico em soja. Sendo assim, o uso das mensurações anatômicas apresenta extrema importância para os programas de pré-melhoramento, já que quando aliadas às mensurações clássicas, podem contribuir para a seleção de cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico.

Objetivou-se, portanto, mensurar as alterações anatômicas da região do coleto e do ápice radicular de raízes de cultivares de soja em condição de déficit hídrico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Dezenove cultivares comerciais de soja foram avaliadas em laboratório (Tabela 1). Todas as cultivares são indicadas para região Centro-Oeste do Brasil. As cultivares, MG/BR46 e BRS 239 são conhecidas pela sua tolerância ao déficit hídrico na fase reprodutiva (Nepomuceno et al., 1994), enquanto BR 16 e Embrapa 59 são considerados sensíveis ao déficit hídrico quando este é acometido nessa mesma fase (Oya, et al., 2004).

**Tabela 1:** Cultivares de soja recomendadas para a região Centro-Oeste do Brasil.

Cultivares	GMR	Altura (cm)	Cor da flor	Crescimento
BRS 239*	6,9	72	Branca	Determinado
MG/BR46*	8,1	75	Roxa	Determinado
Embrapa 59**	7,1	80	Roxa	Determinado
BR 16**	7,6	80	Branca	Determinado
CD 219 RR	7,6	99	Branca	Determinado
P98Y11	7,6	87	Branca	Determinado
BRS 133	7,3	80	Branca	Determinado
CD 230 RR	7,6	92	Roxa	Determinado
BRS MG 68	8,0	75	Roxa	Determinado
W787 RR	7,6	85	Branca	Indeterminado
BRS 256 RR	8,0	85	Branca	Determinado
BRS 216	6,8	72	Branca	Determinado
BRS Valiosa RR	8,1	71	Roxa	Determinado
CD 217	8,0	92	Roxa	Determinado
BRS 245 RR	7,3	75	Branca	Determinado
BRS 282	6,9	85	Branca	Determinado
CD 229 RR	7,3	85	Roxa	Indeterminado
BRS 184	6,7	80	Roxa	Determinado
CD 2792 RR	7,9	70	Roxa	Determinado

\*, \*\* cultivares tolerantes e sensíveis ao déficit hídrico, respectivamente, conforme estudos de Nepomuceno et al. (1994) e Oya, et al. (2004).

GMR: Grupo de Maturidade Relativa.

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial composto por dois fatores e quatro repetições. Os fatores foram disponibilidade hídrica (controle e estresse) e cultivar.

As sementes foram inicialmente tratadas utilizando o fungicida carbendazim e thiran, no seu formulado comercial denominado Derosal Plus. Procedeu-se com a germinação das sementes. Para isto, duas folhas de papel Germitest foram umedecidas com dois tipos de soluções, em um volume equivalente a 2,5 vezes ao seu peso seco. A primeira solução composta apenas de água destilada, a qual

representou a condição controle, sem a imposição do estresse por déficit hídrico. A segunda solução foi composta por 178,4 g L<sup>-1</sup> de Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) (Villela et al., 1991), dissolvido em água destilada perfazendo o potencial osmótico de - 0,2 MPa, conforme sugerido por Dantas et al. (2017). Esta última solução foi utilizada para simular déficit hídrico (condição estresse). Passados os sete dias destinados a germinação das sementes, quatro plântulas normais, medindo aproximadamente 5 cm, incluindo a raiz e os cotilédones, foram aleatoriamente retiradas de cada tratamento, e colocadas entre duas folhas de papel Germitest, para desenvolvimento de raiz segundo metodologia modificada proposta por Hund et al. (2009).

As folhas de papel Germitest foram umedecidas com dois tipos de soluções, utilizando-se volumes equivalentes a 2,5 vezes o peso seco com dois tipos de soluções. A primeira consistiu apenas de solução nutritiva (condição controle) segundo Fernandes et al. (2002). A segunda solução foi composta por solução nutritiva + 178,4 g L<sup>-1</sup> de PEG 6000 (Villela et al. 1991) perfazendo um potencial osmótico de - 0,2 MPa (condição simulando o estresse por déficit hídrico) conforme recomendado por Dantas et al. (2017). Os papéis abertos foram embalados em sacos plásticos transparentes a fim de manter a umidade. Em seguida, foram presos em prateleiras de BODs (Biochemical Oxygen Demand), onde foram mantidos por 15 dias a fim de favorecer o desenvolvimento do sistema radicular. Os papéis foram umedecidos com as respectivas soluções, a cada 5 dias.

Decorridos 15 dias, os sacos plásticos foram retirados e amostras de duas regiões foram coletadas: uma região do caule, próximo ao coleto e a outra a 0,5 cm do ápice da raiz principal. Tais amostras foram armazenadas em FAA (90 mL de etanol a 70% a 5 mL de ácido acético glacial para 5 mL de formaldeído a 38% para proceder as análises anatômicas de todas as cultivares.

Para caracterização anatômica, as amostras coletadas na região do coleto e do ápice da raiz foram subamostradas em uma porção de 0,5 cm de comprimento. Em seguida, as subamostras foram desidratadas em série etílica crescente e posteriormente incluídas em resina metacrilato (Historesin, Leica®), de acordo com as recomendações do fabricante e emblocadas em histomoldes plásticos.

Secções transversais de 5µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2155, Leica), com o auxílio de navalhas de

vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina a pH 4,0 (O'Brien et al., 1964) por 5 minutos. As lâminas foram montadas com resina sintética (Permount®).

As observações e registros fotográficos foram obtidos em microscópio estereoscópio Olympus SZH e microscópio Olympus AX70, com sistema U-Photo, acoplado a uma câmera fotográfica digital e microcomputador com o programa de captura de imagens Axion Vision. De posse das imagens, procederam-se as medições com o auxílio do programa Image-Pro® Plus, versão 4.5.

Na região do coleto avaliaram-se as seguintes variáveis: área de sessão transversal total, do córtex, do cilindro central, do tecido vascular, do xilema, do floema, da medula e a espessura da epiderme. Para área de sessão transversal do floema, considerou-se a região de câmbio. Avaliou-se também a espessura da epiderme. Para isso, foram realizadas cinco medições da espessura da epiderme em um mesmo corte.

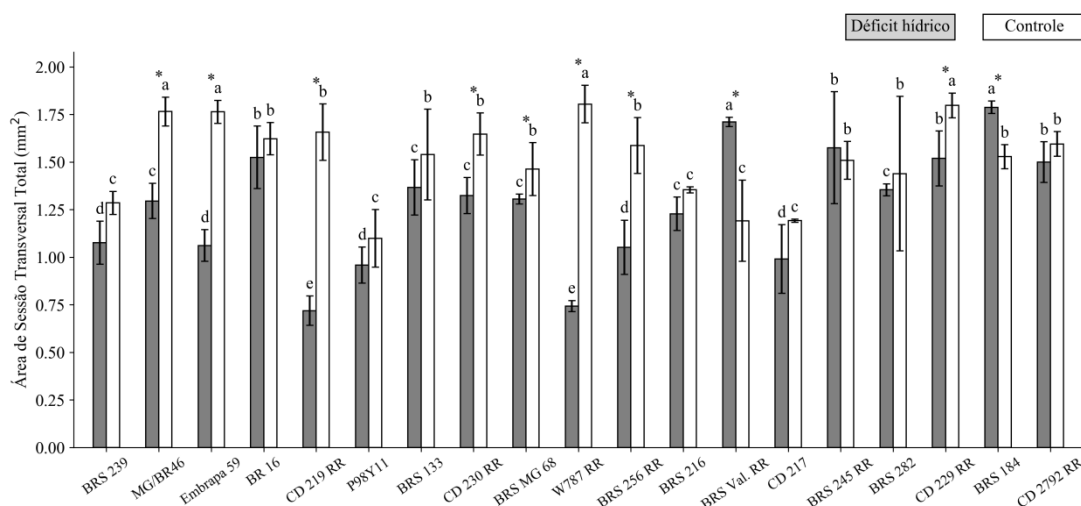
Na região do ápice da raiz, foi mensurada a área de sessão transversal total, bem como a diferenciação dos tecidos. A diferenciação dos tecidos foi determinada, levando-se em consideração a diferenciação dos elementos de vaso.

Após obtenção dos dados, procederam-se as análises de variância (ANOVA). As médias do fator disponibilidade hídrica foram confrontadas utilizando o teste F e as médias do fator cultivar, agrupadas pelo teste Skott-Knott, ambos a 5% de probabilidade, e, quando necessário, os desdobramentos das interações disponibilidade hídrica x cultivar foram realizados. Todas as análises foram processadas utilizando-se o software estatístico Genes (Cruz, 2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação disponibilidade hídrica x cultivar foi significativa para todas as variáveis ( $p$ -valor  $< 0,05$ ).

Na condição estresse (sob déficit hídrico), a maioria das cultivares apresentaram menor área de sessão transversal total, quando comparadas à condição controle (Figura 1). A redução média da condição controle para a condição estresse foi de aproximadamente 16%. A redução de área de sessão transversal indica raízes mais finas. Houve alta variabilidade entre as cultivares quando submetidas ao déficit hídrico, com formação de cinco grupos pelo teste Scott-Knott. Na condição controle, as cultivares foram alocadas em apenas três grupos. A maior média, na condição controle, foi verificada para a cultivar W787 RR (1,80 mm<sup>2</sup>), seguida das cultivares CD 229 RR (1,79 mm<sup>2</sup>), MG/BR46 (1,76 mm<sup>2</sup>) e Embrapa 59 (1,76 mm<sup>2</sup>), todas elas pertencentes a um mesmo grupo pelo teste Scott-Knott. A cultivar W787 foi a que teve maior redução da área de sessão transversal total (58%). As duas últimas cultivares (MG/BR46 e Embrapa 59) são consideradas respectivamente, tolerante e sensível ao déficit hídrico na fase reprodutiva (Nepomuceno et al., 1994; Oya, et al., 2004).

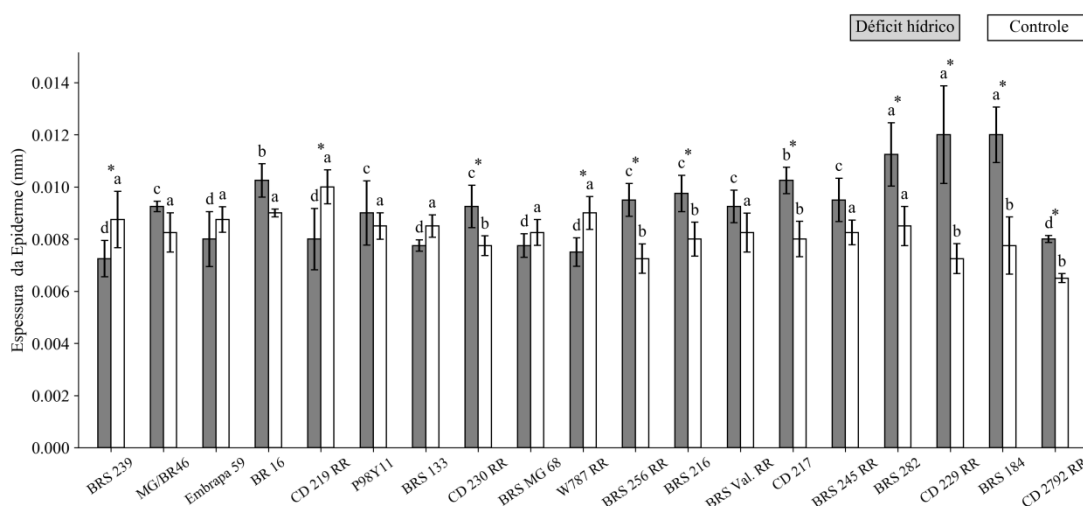


**Figura 1:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal total de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

O decréscimo da área de sessão transversal total na região do coleto ocorre devido à redução de água nos tecidos, o que afeta o crescimento e a expansão de células vegetais (Munawarti et al., 2014). Segundo Gunes et al. (2008) sob déficit hídrico, o alongamento celular pode ser inibido pela interrupção do fluxo de água do xilema para as células de alongamento. Desta forma, a redução na taxa de divisão celular pode reduzir a síntese de novos elementos de vasos, diminuindo assim, a área envolvida com o transporte de água.

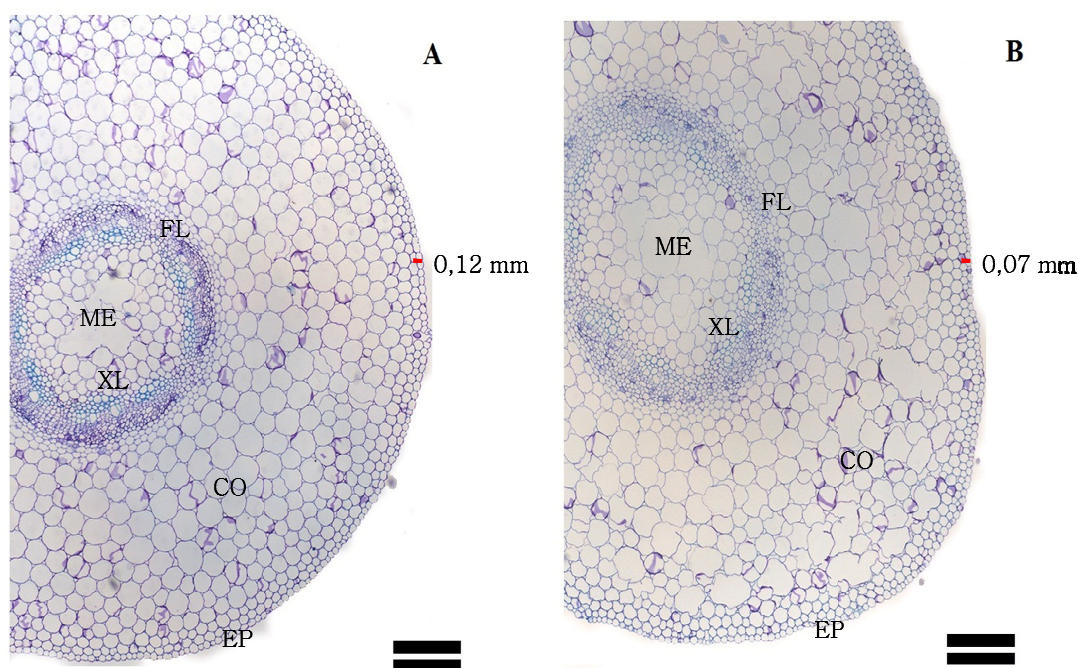
O fato das cultivares terem apresentado raízes mais finas na condição sob déficit hídrico pode ser explicado como um mecanismo encontrado pela planta para evitar problemas relacionados à cavitação. De acordo com Brodribb et al. (2003), a cavitação nada mais é que um processo no qual uma fase de vapor é introduzida na coluna de água do xilema originando o chamado embolismo, o qual, por sua vez, provoca quebra de continuidade no transporte de água. Assim sendo, o desenvolvimento de raízes mais finas parece ser uma importante estratégia desenvolvida pelas raízes, para lidar com o déficit hídrico.

A epiderme é um tecido responsivo a alterações ambientais (Melo et al., 2007). Na condição sob déficit hídrico, 68% das cultivares apresentaram maior espessura da epiderme do que na condição controle (Figura 2).



**Figura 2:** Médias e desvios padrões da espessura da epiderme de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

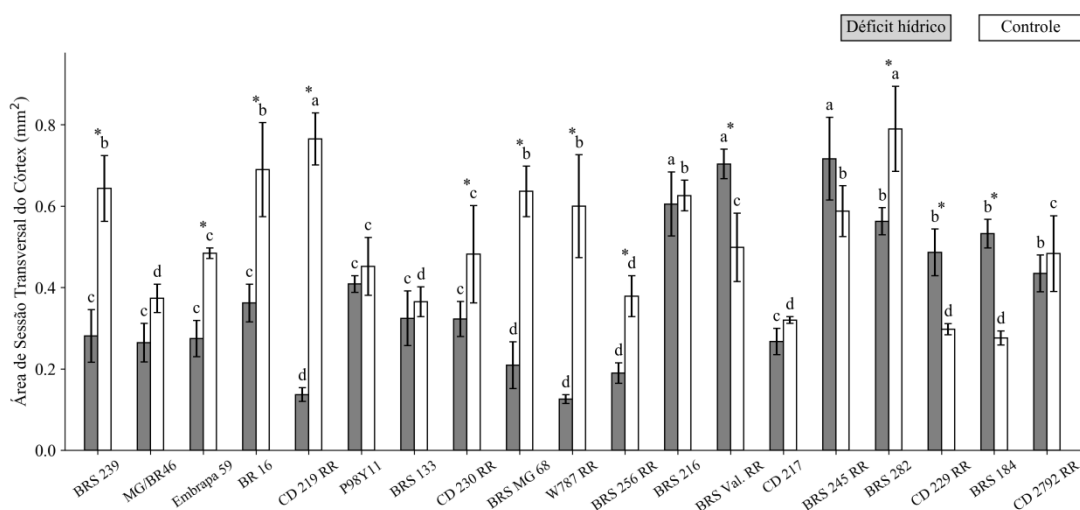
Na condição estresse, as cultivares alocadas no grupo “a” merecem destaque em relação às demais cultivares, por apresentarem maiores médias de espessura de epiderme. Houve aumento de 71% para a cultivar CD 229 RR, quando comparada à condição controle. Considerando a média geral da espessura da epiderme das cultivares na condição sob déficit hídrico, o aumento foi de aproximadamente 12%, em relação à condição controle. Os resultados indicam que o maior espessamento da epiderme pode atuar como um filtro, na absorção de água e nutrientes pelas raízes (Galmes et al., 2012). Sendo assim, estas cultivares provavelmente desenvolveram este mecanismo na tentativa de lidar com a restrição hídrica, a fim de reduzir a perda de água. Na Figura 3, para fins ilustrativos, encontra-se disposto a espessura da epiderme da cultivar CD 229 RR



**Figura 3:** Espessura da epiderme da região do coleto da cultivar CD 229 RR na condição controle (A) e na condição sob déficit hídrico (B). EP: espessura da epiderme; CO: córtex; FL: floema; XL: xilema; ME: medula. Barras = 100  $\mu$ m.

Na condição sob déficit hídrico, 15 das 19 das cultivares apresentaram menores médias de área de sessão transversal do córtex, quando comparadas à condição controle (Figura 4). A cultivar CD 219 RR foi a que apresentou maior redução de área de sessão transversal do córtex (82%). Também as cultivares BRS 239, BR 16, BRS MG 68, W 787 RR apresentaram redução acentuada de área de sessão transversal do córtex. Stolf et al. (2009), estudaram o efeito do déficit hídrico nas cultivares de soja MG/BR 46 e BR16, tidas pelos autores como padrão tolerante

e sensível ao estresse, respectivamente. Eles observaram redução considerável da região do córtex para ambas as cultivares. Estes autores mencionaram que esta redução é esperada quando cultivares de soja são submetidas ao esse tipo de estresse. Na condição controle, observaram-se maiores médias, comparadas às apresentadas na condição sob déficit hídrico para a maioria das cultivares. As amplitudes variaram de 0,27 a 0,78 mm<sup>2</sup> para as cultivares BRS 184 e BRS 282, respectivamente.



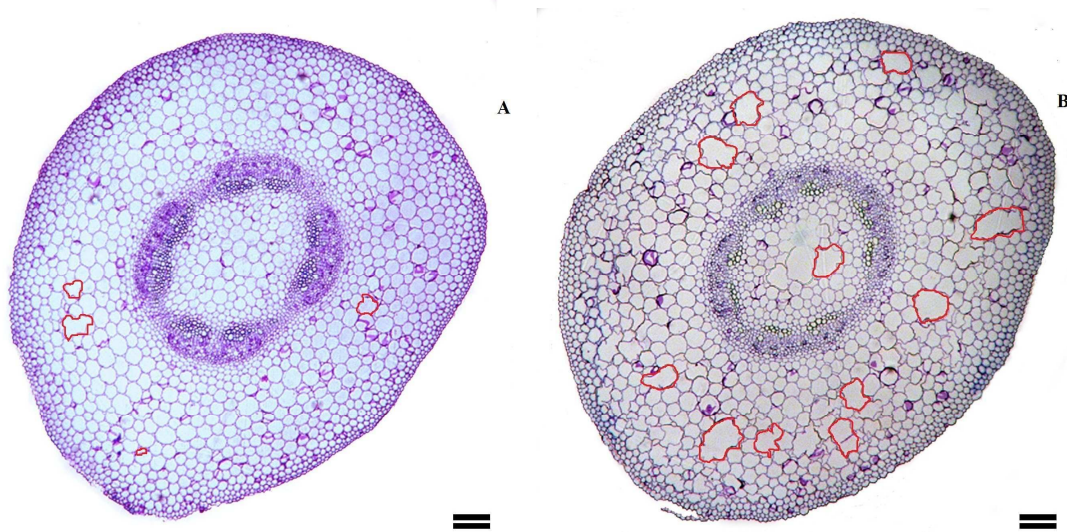
**Figura 4:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do córtex de cortes anômicos realizados na região do colete de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Em caráter qualitativo, foi observado que, de maneira geral, sob déficit hídrico, as amostras apresentaram células do córtex ovaladas, de menor tamanho, bem organizadas e em maior número de camadas celulares (Figura 3). Segundo Purushothamane et al. (2013), o córtex é constituído de tecido parenquimático e desempenha um papel importante na regulação do transporte de água e outras substâncias através das vias apoplásticas e simplásticas. Esses autores, ao submeter seis oleaginosas diferentes ao déficit hídrico, 35 dias após o plantio, verificaram que a soja (cultivar JS 9305) foi a que mais reduziu tecido cortical. Eles também observaram células corticais mais comprimidas e relativamente pequenas. Enfatizaram ainda, que sob restrição hídrica, estas células tendem a ser mais compactas.

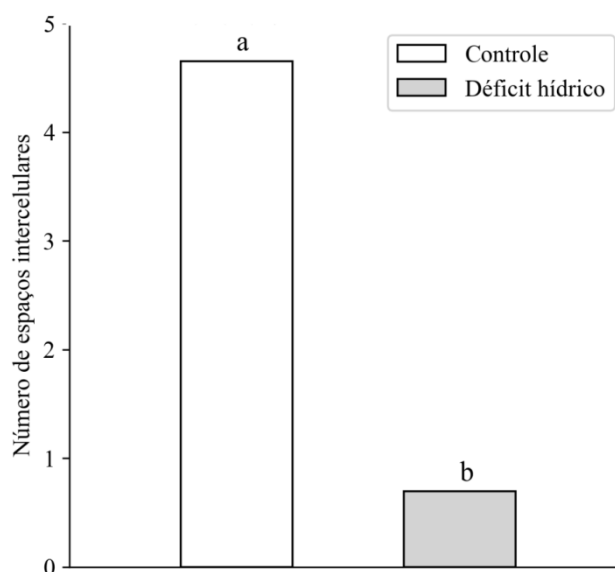
Essa redução do tamanho do córtex pode estar associada à redução do tamanho médio das células que o compõem e não necessariamente ao número de camadas celulares (Armendariz et al., 2016). Chimungu et al. (2014), relataram que o declínio no número de células corticais da raiz favorece tolerância ao déficit hídrico no milho, reduzindo as atividades metabólicas. Guerfel et al.(2009), também mencionaram que tecidos expostos a ambientes com baixa disponibilidade hídrica tendem a apresentar redução no tamanho da célula. Uma diminuição acentuada no tamanho médio das células pode ser atribuída, ainda, à redução da elasticidade da parede celular da raiz (Barceló et al., 1986). Ademais, esta redução pode ser uma adaptação útil das plantas à seca ao reduzir os custos metabólicos da exploração do solo (Lynch, 2013).

Em cereais, características do córtex da raiz, como espessura, contagem celular, área e tamanho da célula, são fortes preditores de flexibilidade radicular, para penetrar nas camadas duras do solo (Prince et al., 2017). No caso da soja, os autores supracitados mencionam que as células corticais da raiz podem desempenhar papel benéfico no aumento do rendimento desta cultura, quando submetida ao déficit hídrico. Eles também sugerem que as alterações na região do córtex são mecanismos de adaptação das cultivares de soja a este tipo de estresse.

Observou-se a presença de espaços intercelulares nas cultivares estudadas (Figura 5), havendo diferença significativa para o número de espaços intercelulares nas duas condições (P-valor <0,05 %) (Figura 6).



**Figura 5:** Espaços intercelulares na cultivar CD 219 RR na condição sob déficit hídrico (A) e na condição controle (B) em cortes anatômicos realizados na região do coleto. Barras = 100  $\mu$ m.



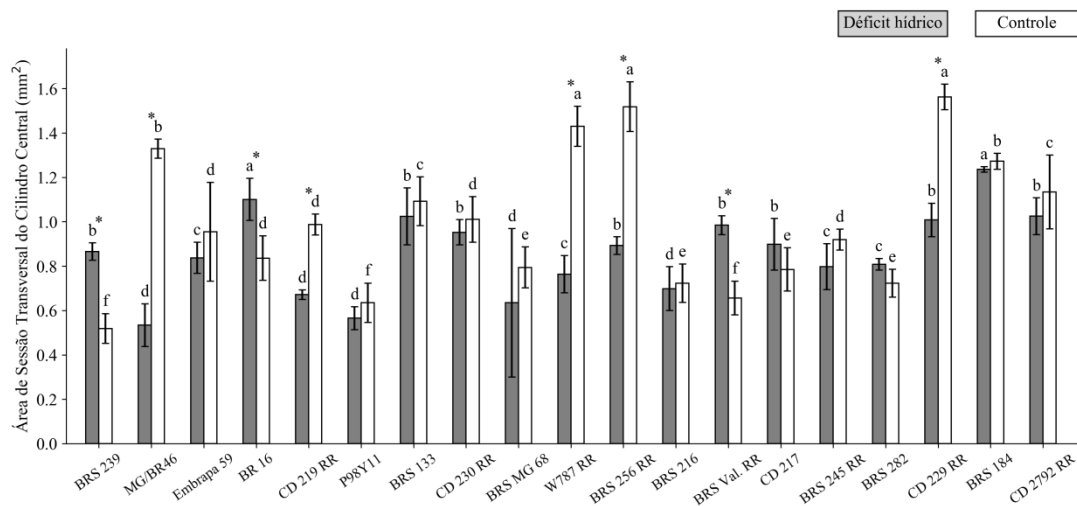
**Figura 6:** Número de espaços intercelulares em cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste F a 5% de probabilidade.

Constatou-se que na condição sob déficit hídrico, 57% das cultivares apresentaram pequenos espaços intercelulares. Por outro lado, na condição controle, foi observado um total de 84% das cultivares com presença de espaços intercelulares e estes apresentaram-se em maior número e mais espessos. Makbul et al (2011), analisando a anatomia da raiz da cultivar de soja Nazlıcan verificaram a presença de espaços intercelulares na presença e ausência do déficit hídrico. Em seus estudos, Stolf et al. (2009) também encontraram a presença de espaços intercelulares em folhas das cultivares MG/BR46 e BR 16 submetidas ao déficit hídrico. Contrariamente, Purushothaman et al. (2013) não encontraram espaços intercelulares nas raízes da cultivar de soja JS 9305 submetida ao estresse hídrico 35 dias após o plantio em condição de campo.

Estes espaços vazios encontrados nas cultivares curiosamente encontravam-se tanto próximos da epiderme quanto da região da medula (Figura 5). De acordo com Saleem et al. (2010), o parênquima cortical pode servir como uma área de armazenamento de nutrientes e água. No milho, foi relatado que as células corticais da raiz e o aerênquima cortical conferem desempenho melhorado da planta em solos sob déficit hídrico (Zhu et al., 2010; Jaramillo et al., 2013; Chimungu et al., 2015). De acordo com Zhu et al. (2010) uma maior quantidade de espaços intercelulares pode permitir maior exploração do solo e aquisição de água. Segundo este autor,

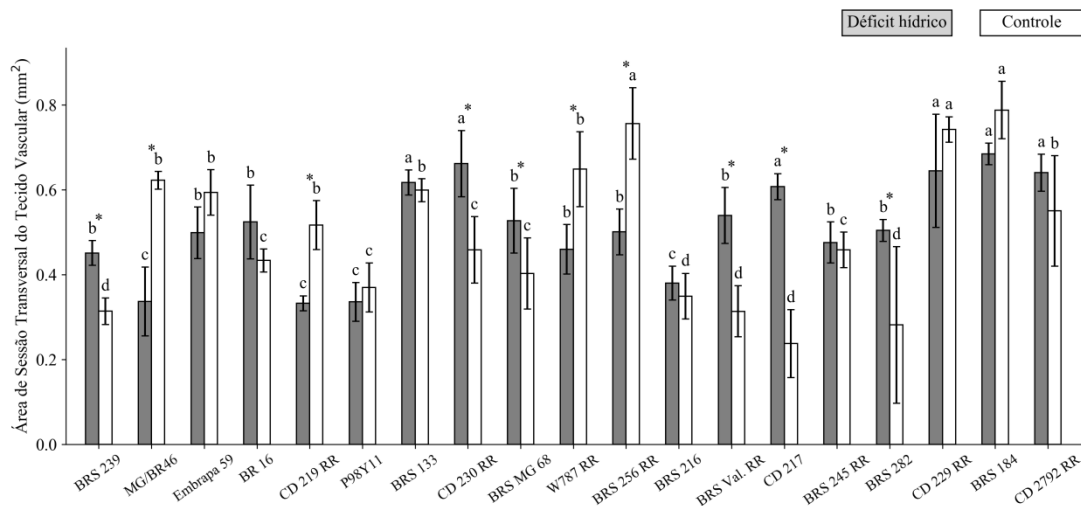
estas estruturas decrescem o consumo metabólico de raízes em crescimento devido à diminuição da presença de células em respiração.

Na condição sob déficit hídrico, as cultivares apresentaram médias inferiores para a variável área de sessão transversal do cilindro central (Figura 7). Houve redução média de 14% da área de sessão transversal do cilindro central. A amplitude de 0,53 mm<sup>2</sup> (MG/BR 46) a 1,23 mm<sup>2</sup> (BRS 184) demonstra a existência de elevada variabilidade entre as cultivares. Na condição controle as cultivares foram alocados em um maior número de grupos pelo teste Scott-Knott. As cultivares agrupadas no grupo “a”, juntamente com a cultivar MG/BR 46, na condição controle, foram as que apresentaram maiores variações de comportamento quando submetidas às duas condições de disponibilidade hídrica.



**Figura 7:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do cilindro central de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

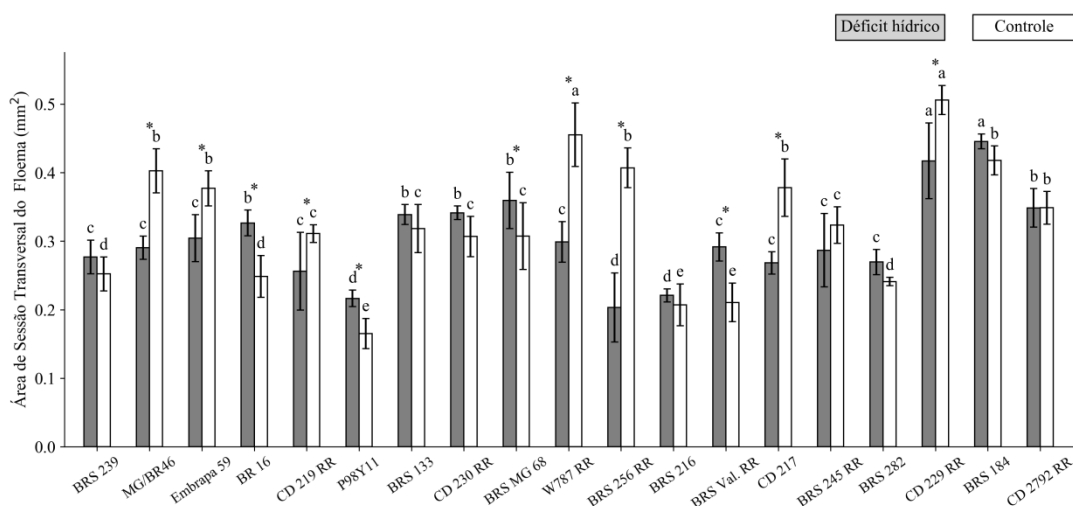
Na condição sob déficit hídrico, também foram observadas alterações entre as cultivares para a variável área de sessão transversal do tecido vascular (Figura 8).



**Figura 8:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do tecido vascular de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Houve amplitude de 0,33 a 0,68 mm<sup>2</sup>, para MG/BR 46 e BRS 184, respectivamente. Foi verificado que oito das dezenove cultivares apresentaram redução da área de tecido vascular quando submetidas à condição sob déficit hídrico. Ao impor déficit hídrico em um cultivar de soja, Makbul et al. (2011) observaram que a área de tecido vascular foi diminuída pela baixa umidade do solo. Estes autores relacionaram esta redução de área como uma adaptação desta cultivar ao estresse aplicado. As cultivares MG/BR 46, CD 219 RR, W787 RR e BRS 256 foram as que mais reduziram área de tecido vascular na presença do déficit hídrico. Os tecidos vasculares se apresentaram bem organizados nas duas condições (controle e estresse), com nítida identificação do floema e xilema. De acordo com Castro et al. (2009) estes órgãos exibem variações na sua estrutura para manter a funcionalidade e, assim, melhorar a adaptabilidade das plantas aos diferentes tipos de ambientes a que são expostas.

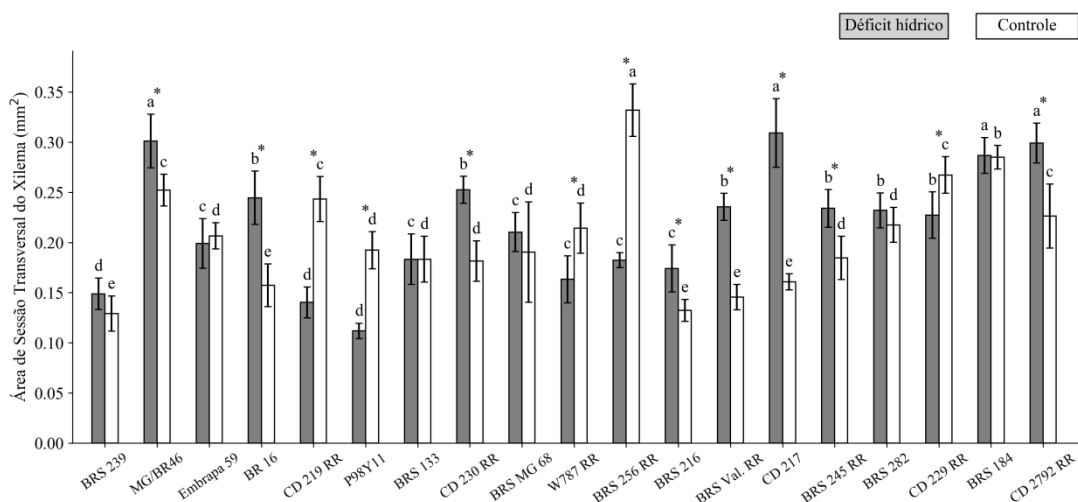
Na condição sob déficit hídrico, assim como observado nas variáveis anteriores, a área de sessão transversal de floema apresentou variação entre as cultivares, com formação de 4 grupos pelo teste Scott-Knott (Figura 9). Algumas cultivares apresentaram médias levemente superiores quando comparadas à condição controle. Este aumento de área pode estar relacionado ao maior número de células nesta região.



**Figura 9:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do floema de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

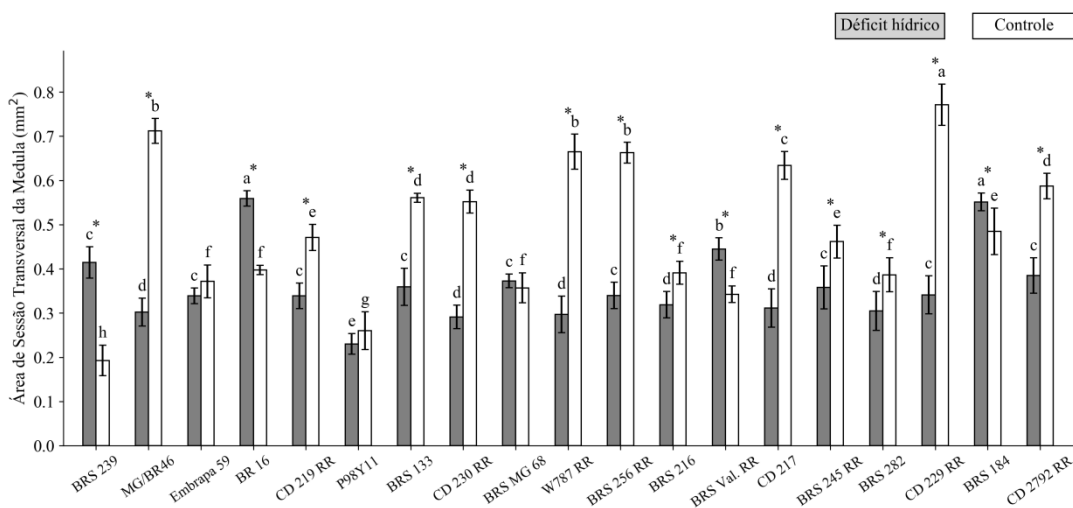
De maneira geral, na condição sob déficit hídrico, 63% das cultivares apresentaram maiores áreas de sessão transversal do xilema (Figura 10). Houve variação de 0,11 a 0,30 mm<sup>2</sup> para as cultivares P98Y11 e CD 17 respectivamente. Prince et al. (2017), ao submeterem 41 linhagens de soja ao déficit hídrico, observaram variação para área de xilema de 0,03 a 3,66 mm<sup>2</sup>. Pode-se inferir que embora tenha sido observada tendência de menor área de cilindro central, há maior produção de tecido xilemático e maior proporção de xilema por área de sessão transversal total quando as cultivares são impostas ao déficit hídrico. Isto indica que as plantas de soja alteram a estrutura anatômica das raízes frente ao déficit hídrico imposto. Vale destacar que o déficit hídrico foi mantido por quinze dias, no estágio inicial de desenvolvimento, permitindo essa alteração na anatomia das raízes.

Peña-Valdivia et al. (2010), verificaram que um genótipo de feijão comum apresentou aumento do diâmetro do xilema com o aumento déficit hídrico. Os elementos de xilema, os quais conduzem a água, desempenham papel vital não apenas na absorção, como também no transporte de nutrientes e água do sistema radicular para toda a planta (Stedle e Peterson, 1998). Recentemente, Kadam et al. (2015) demonstraram que em trigo as características do xilema a citar o número de elementos de metaxilema são fundamentais para melhor eficiência do uso da água.



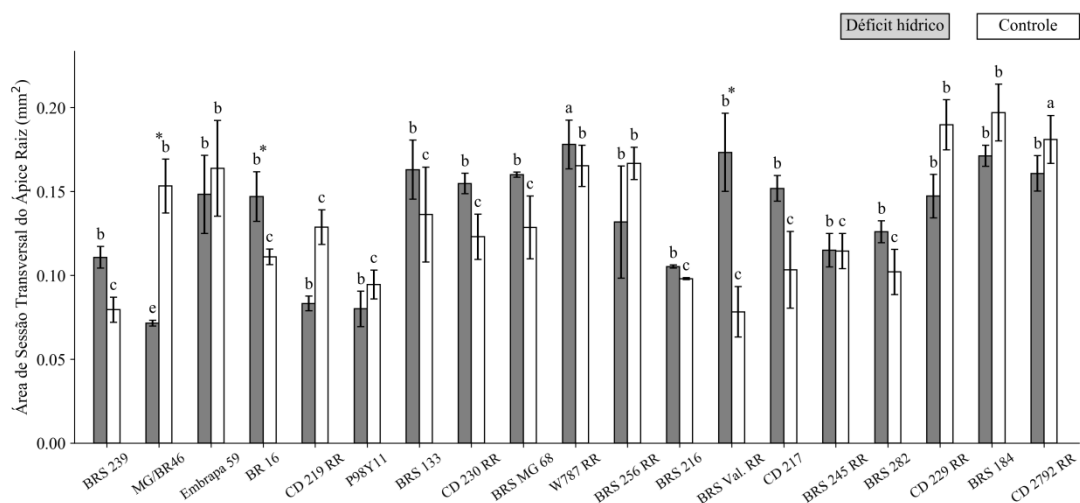
**Figura 10:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do xilema de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Na condição sob déficit hídrico, as cultivares BR 16, BRS 184 (grupo “a”) apresentaram os maiores valores médios para a variável área de sessão transversal de medula (Figura 11). Na condição controle, de maneira geral, foram encontradas as maiores médias, comparadas às encontradas na condição sob déficit hídrico.



**Figura 11:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal da medula de cortes anatômicos realizados na região do coleto de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Quanto à região do ápice caulinar, na condição sob déficit hídrico, as cultivares apresentaram alta variabilidade para área de sessão transversal do ápice da raiz (Figura 12). Verificou-se formação de 5 grupos, com médias variando de 0,07 a 0,17 mm<sup>2</sup> para as cultivares MG/BR46 e BRS 184, respectivamente. Na condição controle, a cultivar BRS 184 também apresentou o maior valor médio para esta variável 0,19 mm<sup>2</sup>. Prince et al. (2017) trabalhando com linhagens de soja submetidas ao déficit hídrico, no estágio V1, observaram redução da área de sessão transversal do ápice da raiz. A cultivar MG/BR 46, foi a que mais reduziu área de sessão transversal do ápice da raiz, quando submetida ao déficit hídrico. A redução foi de aproximadamente 50%.



**Figura 12:** Médias e desvios padrões de área de sessão transversal do ápice da raiz de cortes anatômicos realizados na região do ápice da Raiz de cultivares de soja submetidas à condição de déficit hídrico e à condição controle. Médias seguidas de letras minúsculas em barras de mesma cor constituem grupos homogêneos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. O asterisco indica diferença significativa entre a condição de déficit hídrico e condição controle dentro da cultivar, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Na condição sob déficit hídrico foi possível observar maior diferenciação dos tecidos vasculares e cilindro central dos cortes transversais realizados no ápice da raiz (Tabela 2 e Figura 13). Cerca de 88% das amostras apresentaram tecidos diferenciados. Apenas em sete cultivares não houve 100% de diferenciação, quando submetidas ao estresse.

Por outro lado, na condição controle, verificou-se que a diferenciação ocorreu mais lentamente. Aproximadamente 75% das amostras da seção transversal realizados a 0,5 cm do ápice radicular das cultivares de soja apresentaram tecidos

diferenciados (Tabela 2). Das cultivares em estudo, seis delas MG/BR46, CD 219 RR, BRS 133, CD 230 RR, BR 16 RR e CD 2792 RR apresentaram apenas 50% de diferenciação na condição controle (Tabela 2). Este resultado indica que o déficit hídrico favoreceu a maturação dos tecidos evidenciando a rápida alteração anatômica das raízes frente ao estresse imposto. A maior velocidade de diferenciação indica tecidos aptos para condução de água e nutrientes. Até o presente momento não se tem estudos na literatura, relacionando o déficit hídrico com a maior diferenciação dos tecidos em soja. No entanto, para esta cultura, já foi demonstrado que o processo de diferenciação é acelerado por outros tipos de estresses. Lavres Junior et al (2009), Por exemplo, verificaram que maiores concentrações de manganês influenciam diretamente na velocidade de diferenciação de cultivares de soja.

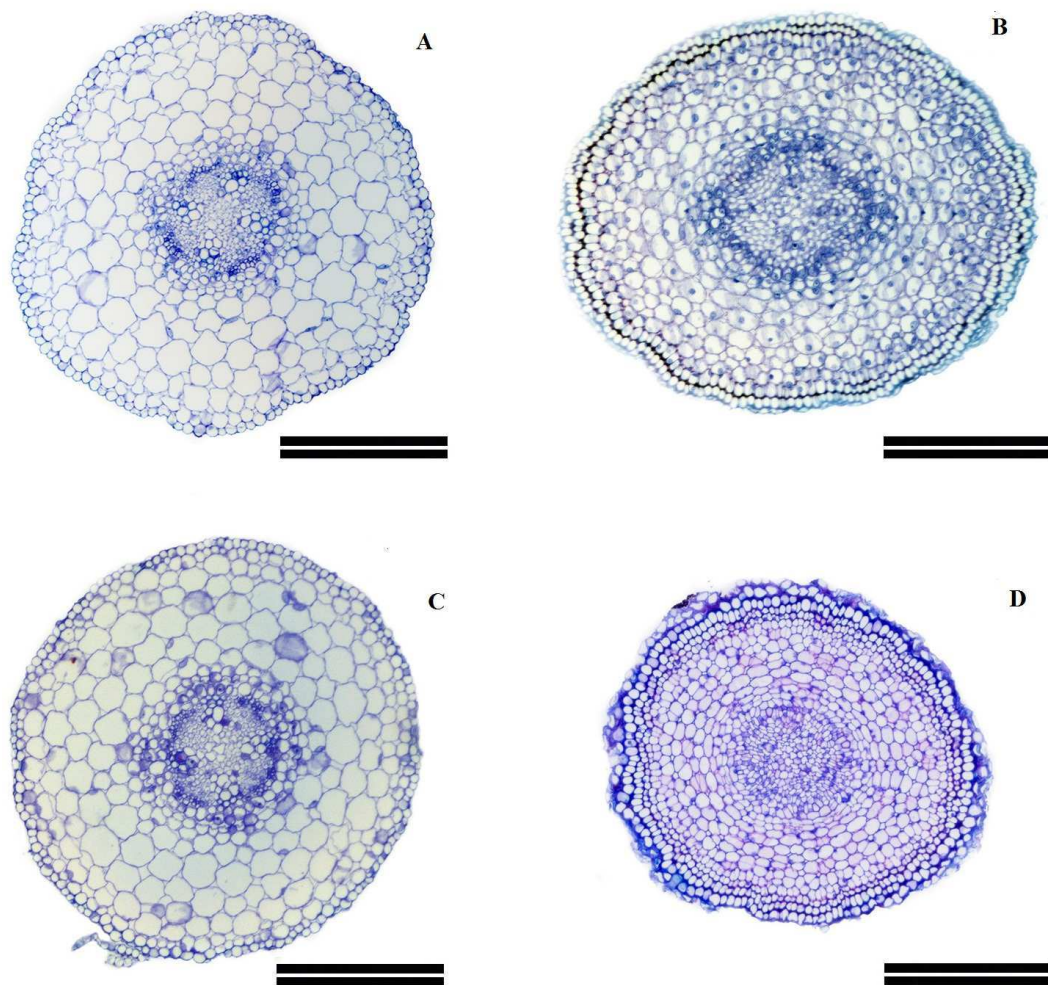
**Tabela 2:** Diferenciação dos tecidos do ápice da raiz de 19 cultivares de soja submetidas à condição controle e à condição sob déficit hídrico.

Cultivar	Controle				Estresse			
	Repetição				Repetição			
	1	2	3	4	1	2	3	4
BRS 239	+	+	+	+	+	+	+	+
MG/BR 46	-	-	+	-	+	+	+	+
Embrapa 59	+	+	-	+	+	+	+	+
BR 16	+	+	+	-	-	+	+	+
CD 219 RR	-	+	-	+	+	+	+	+
P98Y11	-	+	+	+	+	+	+	-
BRS 133	-	+	-	+	+	+	+	+
CD 230 RR	-	+	-	+	+	-	+	+
BRS MG 68	+	+	+	+	+	-	+	+
W787 RR	+	+	+	-	+	+	+	-
BRS 256	+	+	+	-	+	+	+	+
BRS 216	-	+	+	-	+	+	+	+
BRS Valiosa RR	+	+	+	+	-	+	+	+
CD 217	+	+	+	+	+	-	+	+
BRS 245 RR	+	+	+	+	+	+	+	+
BRS 282	+	+	+	+	+	+	-	+
CD 229 RR	+	+	+	+	+	+	+	+
BRS 184	+	-	+	+	+	+	+	+
CD 2792 RR	+	+	-	-	+	-	+	+

O sinal “+” indica amostras com tecidos completamente diferenciados e o sinal “-” indica amostras com tecidos não diferenciados.

Quanto às cultivares utilizadas como padrão de tolerância e sensibilidade ao déficit hídrico (Nepomuceno et al., 1994; Oya, et al., 2004), salienta-se que a cultivar BRS 239 (tolerante) apresentou 100% de diferenciação na condição sob déficit hídrico e na condição controle. A cultivar MG/BR 46 (tolerante) apresentou 100% de diferenciação na condição sob déficit hídrico e apenas 25% na condição controle. A Embrapa 59 (sensível) apresentou 100% de diferenciação na condição sob déficit hídrico e 75% na condição controle, ao passo que, a cultivar BR 16 (sensível) apresentou o mesmo comportamento, com 75% de diferenciação dos tecidos quando imposta às duas condições de disponibilidade hídrica.

Na figura 13, encontra-se evidenciado as diferenças encontradas para 2 das 19 cultivares estudadas, na condição controle e na condição estresse. Na condição sob déficit hídrico, as cultivares apresentaram elementos de vasos bem arranjados, células corticais íntegras e epiderme perfeitamente estruturada. A integridades das células corticais, desempenham papel fundamental nos processos de transporte e absorção de nutrientes (Lavres Junior et al., 2009). Rosolem et al. (2005) também destacaram a importância do arranjo destes tecidos para maior eficiência no processo de absorção. Não se observou presença de espaços intercelulares na região do ápice da raiz das cultivares de soja em nenhum das duas condições de disponibilidade hídrica.



**Figura 13:** Tecidos celulares de cortes anatômicos do ápice da raiz de soja da cultivar CD 219 RR na condição sob déficit hídrico (A) e na condição controle (B) e da cultivar BRS 133 na condição sob déficit hídrico (C) e na condição controle (D). Barras = 100 µm.

De acordo com os resultados atuais, nem todas as cultivares tidas como padrão de tolerância e sensibilidade, apresentaram a mesma tendência de comportamento esperado. Entretanto, vale a pena ressaltar que nos trabalhos de Nepomuceno et al.(1994) e Oya et al. (2004) o déficit hídrico foi imposto no estágio reprodutivo da soja, que é uma fase bastante sensível. Ademais, nesta fase todos os tecidos e órgãos já foram formados, o que justifica esta diferença em seus desempenhos. Segundo Akram (2011) os órgãos reprodutivos não apresentam mecanismos adaptativos como à produção de osmólitos para tolerar o déficit hídrico.

Stolf et al. (2009) também utilizaram as cultivares de soja MG/MR 46 e BR 16 como padrões de tolerância e sensibilidade, respectivamente, ao déficit hídrico. No entanto, ao aplicar o estresse e avaliar a anatomia radicular, relataram que as

diferenças encontradas para estas cultivares anteriormente, em condições de campo e no estágio reprodutivo, não foram relacionadas aos seus resultados anatômicos. Estes mesmos autores sugeriram ainda que, além da anatomia, provavelmente outros mecanismos fisiológicos e metabólicos estão envolvidos na tolerância ao estresse hídrico da soja. Bray (2004) menciona que mecanismos moleculares e fisiológicos atuam na diferenciação de genótipos de soja quanto à tolerância ao déficit hídrico (Bray, 2004). Também Fahad et al. (2014), menciona que as espécies cultivadas consideradas tolerantes à seca, normalmente apresentam mecanismos morfofisiológicos que permitem a manutenção da produção sob limitada disponibilidade de água.

Conforme exposto pelos autores supramencionados (Stolf et al., 2009), a soja utiliza muitas estratégias para otimizar o uso da água, quando submetida ao déficit hídrico. Já foi elucidado que sob déficit hídrico a soja apresenta elevadas variações na anatomia da raiz (Makbul et al., 2011). Os resultados aqui encontrados, sugerem, de maneira bastante evidente, que o déficit hídrico desempenha importante papel na modificação das características anatômicas em raízes de soja.

Para melhor compreensão de tais modificações, estudos com aplicação de estresse mais intenso, com maior tempo de exposição ao estresse, bem como outras áreas de amostragem na região da raiz, provavelmente serão úteis em discriminar cultivares de soja tolerantes ao déficit hídrico. Segundo Rahnama et al. (2011) e Mwenye et al. (2016) as respostas das plantas ao déficit hídrico irão depender da intensidade e duração do estresse, da espécie, e do seu estágio de desenvolvimento. Neste estudo, o estresse foi imposto durante quinze dias após a germinação das sementes, e as amostras foram obtidas de duas regiões: coleto e ápice da raiz.

De maneira geral, em nosso estudo, quando impostas ao déficit hídrico, as cultivares de soja apresentaram redução da área de sessão transversal total, do córtex e do tecido vascular, com a presença de células menores e melhor organizadas na região do córtex e da medula. Observou-se ainda maior área de sessão transversal de xilema com maior proporção dos vasos xilemáticos. O déficit hídrico também favoreceu o desenvolvimento de menos espaços intercelulares e em menor número, e, além disso, aumentou a velocidade de diferenciação dos tecidos do ápice da raiz. Prince et al. (2017) observaram que linhagens de soja submetidas ao déficit hídrico no estágio V1 (quando as folhas unifolioladas se encontram completamente desenvolvidas) alteram a anatomia da raiz, contribuindo especialmente com a

redução da área de sessão transversal do ápice da raiz e do córtex. Estes autores sugerem que as alterações dessas estruturas anatômicas podem afetar o transporte de água.

Os relatos atuais da literatura propõem que cultivares de soja tolerantes ou adaptadas ao déficit hídrico, costumam apresentar redução da área de sessão transversal do córtex, do tecido vascular e do ápice da raiz, além de apresentar maior diferenciação dos tecidos (Lavres Junior et al., 2009; Oya et al., 2009; Makbul et al., 2011; Purushothaman et al., 2013; Prince 2017). Sendo assim, as cultivares MG/BR 46, CD 219 RR e BRS 256 apresentam potencial de tolerância déficit hídrico.

Por fim, vale destacar que até o presente momento, as poucas pesquisas envolvendo anatomia de raiz para a cultura da soja se encontram focadas no estágio reprodutivo e em grande maioria envolvendo outros tipos de estresses que não aquele provocado pelo déficit hídrico (Armendariz et al., 2016; Dolatabadian et al., 2011; Lavres Junior et al., 2009; Santos et al., 2017). Recentemente, apenas um estudo foi realizado nos Estados Unidos, avaliando anatomia de raiz sob restrição hídrica no estágio V1 (Prince et al., 2017). Pesquisas brasileiras que avaliem caracteres anatômicos de raízes de diferentes cultivares de soja sob déficit hídrico, especialmente na fase inicial de desenvolvimento, ainda são incipientes. Sendo assim, as alterações anatômicas observadas neste estudo muito contribuirão para um melhor entendimento acerca do comportamento das cultivares comerciais avaliadas quanto à tolerância ao déficit hídrico. Ademais, nossos resultados podem auxiliar os melhoristas de soja em decisões futuras. Sugerimos, para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na tolerância à seca, aliar estes resultados às respostas morfológicas e fisiológicas das cultivares.

## **CONCLUSÕES**

As cultivares apresentam elevada variabilidade para todas as variáveis analisadas, quando submetidas à condição sob déficit hídrico.

O déficit hídrico provoca alterações anatômicas nas raízes de cultivares de soja, tais como, redução da área de sessão transversal total, do córtex e do tecido vascular, maior área de sessão transversal de xilema com maior proporção dos vasos xilemáticos.

O déficit hídrico reduz a expansão das células, espaços intercelulares além de aumentar a velocidade de diferenciação dos tecidos.

As cultivares MG/BR 46, CD 219 RR e BRS 256 apresentam potencial tolerância ao déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALEEM, H.; LEE, G.; BOERMA, R.H. Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. **Theor Appl Genet**, v.122, p.935-46, 2011.

AKRAM, M. Growth and yield components of wheat under water stress of different growth stages. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v.36, p.455-468, 2011.

ARMENDARIZ, A. L.; TALANO, M. A.; TRAVAGLIA, C.; REINOSO, H.; OLLER, A. L. W.; AGOSTINI, E. Arsenic toxicity in soybean seedlings and their attenuation mechanisms. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.98, p.119-127, 2016.

BANSAL, R.; SRIVASTAVA, J. P. Effect of waterlogging on root anatomy and nitrogen distribution in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). **Indian Journal of Plant Physiology**, v.22, p.130-134, 2017.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C.; ANDREU, I.; GUNSÉ, B. Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) I. Effects of Cd on water potential, relative water content, and cell wall elasticity. **Journal of Plant Physiology**, v.125, p.17-25, 1986.

BAUERLE, T. L.; CENTINARI, M.; BAUERLE, W. L. Shifts in xylem vessel diameter and embolisms in grafted apple trees of differing rootstock growth potential in response to drought. **Planta**, v.234, p.1045-1054, 2011.

BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M.; EDWARDS, E.J.; GUTIERREZ, M.V. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. **Plant, Cell and Environment**, v.26, p.443-450, 2003.

CHACA, M. P.; VIGLIOCCO, A.; REINOSO, H.; MOLINA, A.; ABDALA, G.; ZIRULNIK, F.; PEDRANZANI, H. Effects of cadmium stress on growth, anatomy and hormone contents in *Glycine max* (L.) Merr. **Acta physiologia e plantarum**, v.36, 2815-2826, 2014.

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v.30, p.239-264, 2003.

CHIMUNGU, J. G.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Reduced root cortical cell file number improves drought tolerance in maize. **Plant Physiology**, v.166, p. 1943-1955, 2014.

CHIMUNGU, J. G.; LOADES, K. W.; LYNCH, J. P. Root anatomical phenes predict root penetration ability and biomechanical properties in maize (*Zea mays*). **Journal of Experimental Botany**, v.66, p.3151-3162, 2015.

CHOA, B.; BADEL, E.; BURLETT, R.; DELZON, S.; COCHARD, H.; JANSEN, S. Noninvasive measurement of vulnerability to drought-induced embolism by X-ray microtomography. **Plant Physiology**, v.170, p.273-282, 2016.

CRUZ CD. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, p. 271-276, 2013.

DANTAS, S. A. G; SILVA; F. C. S.; SILVA, L. J.; SILVA, F. L. Strategy for selection of soybean genotypes tolerant to drought during germination. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 16, n. 2, 2017.

DAYER, S.; PEÑA, J. P.; GINDRO, K.; TORREGROSA, L.; VOINESCO, F.; MARTÍNEZ, L.; ZUFFEREY, V. Changes in leaf stomatal conductance, petiole hydraulics and vessel morphology in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Chasselas) under different light and irrigation regimes. **Functional Plant Biology**, v.44, p.679-693, 2017.

DOLATABADIAN, A.; SANAVY, S. A. M. M.; GHANATI, F. Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. **Notulae Scientia Biologicae**, v.3, p.41, 2011.

EMBRAPA, 2017. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja na alimentação. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/soja-na-alimentacao>> Acesso em: 15/02/2017.

ENNAJEH, M.; VADEL, A. M.; COCHARD, H.; KHEMIRA, H. Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.85, p.289-294, 2010.

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

FANG, Y.; XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.72, p.673-689, 2014.

FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.564-570, 2002.

FERNÁNDEZ-De-UÑA, L.; ROSSI, S.; ARANDA, I.; FONTI, P.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, B. D.; CAÑELLAS, I.; GEA-IZQUIERDO, G. Xylem and Leaf

Functional Adjustments to Drought in *Pinus sylvestris* and *Quercus pyrenaica* at Their Elevational Boundary. **Frontiers in plant science**, v.8, p.1200, 2017.

FLORES, J.; PÉREZ-SÁNCHEZ, R. M.; JURADO, E. The combined effect of water stress and temperature on seed germination of Chihuahuan Desert species. **Journal of Arid Environments**, v.146, p.95-98, 2017.

FU, P. L.; JIANG, Y. J.; WANG, A. Y.; BRODRIBB, T. J.; ZHANG, J. L.; ZHU, S. D.; CAO, K. F. Stem hydraulic traits and leaf water-stress tolerance are co-ordinated with the leaf phenology of angiosperm trees in an Asian tropical dry karst forest. **Annals of Botany**, v.110, p.189-199, 2012.

GHANBARI, A. A., SHAKIBA, M. R., TOORCHI, M., & CHOUKAN, R. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. **European Journal of Experimental Biology**, v.3, p.487-492, 2013.

GUERFEL, M.; BACCOURI, O.; BOUJNAH, D.; CHAIBI, W.; ZARROUK, M. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.119, p.257-263, 2009.

GUNES, A.; PILBEAM, D.J.; INAL, A.; BAGCI, E.G.; COBAN, S. Influence of silicon on antioxidant mechanisms and lipid peroxidation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. **Journal of Plant Interactions**, v.2, p. 105-113, 2008.

HUANG, H.; SONG, S. Change in desiccation tolerance of maize embryos during development and germination at different water potential PEG-6000 in relation to oxidative process. **Plant physiology and biochemistry**, v.68, p.61-70, 2013.

HUND, A.; TRACHSEL, S.; Stamp, P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform. **Plant and Soil**, v.325, p.335-349, 2009.

IBGE. Banco de dados agregados Pesquisas: Produção Agrícola Municipal. 2016. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/estProdAgr\\_20\\_503.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_20_503.pdf)>. Acesso em: novembro, 2016.

LAVRES JUNIOR, J.; MALAVOLTA, E.; NOGUEIRA, N. D. L.; MORAES, M. F.; REIS, A. R.; ROSSI, M. L.; CABRAL, C. P. Changes in anatomy and root cell ultrastructure of soybean genotypes under manganese stress. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.395-403, 2009.

LYNCH, J. P. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. **Annals of Botany**, v.112, p.347-357, 2013.

MAKBUL, S.; GULER, N. S.; DURMUŞ, N.; GUVEN, S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v.35, p.369-377, 2011.

MELO, H. D.; CASTRO, E. D.; SOARES, A. M.; MELO, L. D.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v.34, p.145-153, 2007.

MUNAWARTI, A.; TARYONO, T.; SEMIARTI, E.; SISMINDARI, S. morphological and biochemical responses of glagah (*Saccharum spontaneum* L.) Accessions to drought stress. **The Journal of Tropical Life Science**, v.4, p.61-66, 2014.

MWENYE, O. J.; VAN RENSBURG, L.; VAN BILJON, A.; VAN DER MERWE, R. The role of proline and root traits on selection for drought-stress tolerance in soybeans: a review. **South African Journal of Plant and Soil**, v.33, p.245-256, 2016.

NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Efeitos da disponibilidade hídrica no solo sobre a cultura da soja. In EMBRAPA-CNPQSO. Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, Londrina, PR, p. 42-43, 1994.

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

PEÑA-VALDIVIA, C. B.; SÁNCHEZ-URDANETA, A. B.; MEZA RANGEL, J.; JUÁREZ MUÑOZ, J.; GARCÍA-NAVA, R.; CELIS VELÁZQUEZ, R. Anatomical root variations in response to water deficit: wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Biological research**, v.43, p.417-427, 2010.

PRINCE, S. J.; MURPHY, M.; MUTAVA, R. N.; DURNELL, L. A.; VALLIYODAN, B.; SHANNON, J. G.; NGUYEN, H. T. Root xylem plasticity to improve water use and yield in water-stressed soybean. **Journal of experimental botany**, v.68, p.2027-2036, 2017.

PRINCE, S. J.; MURPHY, M.; MUTAVA, R. N.; ZHANG, Z.; NGUYEN, N. A.; KIM, Y. H.; PATHAN, S. M.; SHANNON, G. J.; VALLIYODAN, B.; NGUYEN, H. Evaluation of high yielding soybean germplasm under water limitation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.58, p.475-491, 2016.

PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; DONAGEMMA, G. K.; MENDONÇA, E. S. Ponto de murcha permanente de soja, feijão e plantas daninhas. **Planta daninha**, v.22, p.35-41, 2004.

PURUSHOTHAMAN, R.; ZAMAN-ALLAH, M.; MALLIKARJUNA, N.; PANNIRSELVAM, R.; KRISHNAMURTHY, L.; GOWDA, C. L. L. Root anatomical traits and their possible contribution to drought tolerance in grain legumes. **Plant Production Science**, v.16, p.1-8, 2013.

RAHNAMA, A.; MUNNS, R.; POUSTINI, K.; WATT, M. A screening method to identify genetic variation in root growth response to a salinity gradient. **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.69–77, 2011.

RAJAEI, H.; YAZDANPANA, P.; DADBIN, M.; HAGHIGHI, A. A. K.; SEPASKHAH, A. R.; ESLAMZADEH, T. Comparison of root anatomy and xylem vessel structure in rain-fed and supplementary irrigated ‘Yaghooti-Syah Shiraz’ grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v.54, p.297-302, 2013.

ROSOLEM, C. A.; SACRAMENTO, L. V. S.; OLIVEIRA, D. M. T. Kinetics of zinc uptake and anatomy of roots and leaves of coffee trees as affected by zinc nutrition. **Journal of Plant Nutrition**, v.28, p.2101-2112, 2005.

SALEEM, A. B.; CHADDERTON, P.; PERGIS-SCHOUTE, J.; HARRIS, K. D.; SCHULTZ, S. R. Methods for predicting cortical UP and DOWN states from the phase of deep layer local field potentials. **Journal of Computational Neuroscience**, v.29, p.49-62, 2010.

SANTOS, E. F.; SANTINI, J. M. K.; PAIXÃO, A. P.; JÚNIOR, E. F.; LAVRES, J.; CAMPOS, M.; REIS, A. R. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.113, p.6-19, 2017.

SOLIMAN, H. L. A.; HENDAWY, M. H. Selection for drought tolerance genotypes durum wheat (*Triticum durum* Desf) under in vitro conditions. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.14, p.69-78, 2013.

STOLF, R.; MEDRI, M. E.; PIMENTA, J. A.; BOEGER, M. R. T.; DIAS, J.; LEMOS, N. G.; OLIVEIRA, M. C. N.; BROGIN, R. L.; YAMANAKA, N.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L. Morpho-anatomical and micromorphometrical evaluations in soybean genotypes during water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.1321-1331, 2009.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.33, p.215-225, 2008.

TENHAKEN, R. Cell wall remodeling under abiotic stress. **Plant Science**, v.5, p.771, 2015.

TOMBESI, S.; JOHNSON, R. S.; DAY, K. R.; DEJONG, T. M. Relationships between xylem vessel characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size-controlling capacity of peach rootstocks. **Annals of Botany**, v.105, p.327–331, 2010.

VACULÍK, M.; KONLECHNER, C.; LANGER, I.; ADLASSNIG, W.; PUSCHENREITER, M.; LUX, A.; HAUSER, M. T. Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. **Environmental Pollution**, v.163, p.117-126, 2012.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1957-1968, 1991.

VEZZA, M. E.; LLANES, A.; TRAVAGLIA, C.; AGOSTINI, E.; TALANO, M. A. Arsenic stress effects on root water absorption in soybean plants: Physiological and morphological aspects. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.123, p.8-17, 2018.

ZHENG, H.; ZHANG, X.; MA, W.; SONG, J.; RAHMAN, S. U.; WANG, J.; ZHANG, Y. Morphological and physiological responses to cyclic drought in two contrasting genotypes of *Catalpa bungei*. **Environmental and Experimental Botany**, v.138, p.77-87, 2017.

ZHU, J.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell e Environment**, v.33, p.740-749, 2010.

## **CONCLUSÕES GERAIS**

O déficit hídrico provoca alterações na germinação, morfologia e na anatomia de raízes de cultivares de soja.

Há variabilidade entre as cultivares de soja para cada uma das características estudadas e estas se mostram úteis para discriminação de cultivares de soja.

As cultivares BRS 184 e CD 2792 RR, assim como MG/BR 46, CD 219 RR e BRS 256 apresentam-se superiores às demais, com potencial de tolerância ao déficit hídrico.