

222



## RESPOSTAS FISIOLÓGICAS PARA A TOLERÂNCIA A SECA EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA OBTIDOS A PARTIR DA INTROGRESSÃO DA CONSTRUÇÃO 35S:AtAREB1FL

CARANHATO, A.L.H.<sup>1</sup>; BRAGA, P.<sup>1</sup>; BARBOSA, D.A.<sup>1</sup>; MOLINARI, M.D.C.<sup>1</sup>; FUGANTI-PAGLIARINI, R.<sup>2</sup>; MARIN, S.R.R.<sup>3</sup>; OLIVEIRA, M.F.<sup>3</sup>; MERTZ-HENNING, L.M.<sup>3</sup>; MELO, C.L.P.<sup>3</sup>; NEPOMUCENO, A.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina-PR, andrelhcaranhato@gmail.com; <sup>2</sup>Bolsista CNPq, Embrapa Soja; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

No Brasil, na safra 2015/16, a seca foi um dos principais fatores responsáveis pela perda de aproximadamente 9,7% da capacidade produtiva nacional (Hirakuri, 2016). Já na Argentina, terceiro maior produtor mundial do grão, a previsão é que nesta safra (2017/18) ocorram perdas de quase 20% da produção sojícola total do país devido ao déficit hídrico (USDA, 2018). Com base nestes dados, o desenvolvimento de novas cultivares com tolerância a estresses abióticos torna-se uma ferramenta importante para o incremento da produtividade.

O fator de transcrição (FT) AREB (*ABA-Responsive-Element-Binding*) é uma proteína ABA-dependente, que regula a expressão de genes relacionados à resposta da planta ao déficit hídrico. O Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Soja, gerou vários eventos transgênicos contendo a construção 35S:AtAREB1FL com o marcador molecular de seleção 35S:bar. Dentre estes, o evento 1Ea2939 apresentou maior desempenho em ensaios de campo, com 35 a 44% maior produtividade do que seu *background* convencional (BR16), quando o tratamento com déficit hídrico foi aplicado nas fases de crescimento e reprodução, respectivamente.

Com a intenção de manter a característica de tolerância a seca, diferentes cruzamentos foram realizados com genótipos mais modernos alocados em grupos de maturação contrastantes. A partir desta estratégia, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas fisiológicas relacionadas a taxa fotossintética e condutância estomática de diferentes genótipos de soja obtidos a partir da introgressão da construção 35S:AtAREB1FL.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação durante a safra 2017/18, montado em delineamento de blocos casualizados em modelo fatorial 6x2, sendo composto por seis genótipos (1Ea2939; linhagem oriunda do cruzamento LS93-0375x1Ea2939 – 16T-0005; linhagem oriunda do cruzamento BMX-Desafiox1Ea2939 – 16T-0010; LS93-0375; BMX-Desafio e BR16) em duas condições (Controle e Déficit Hídrico), com nove repetições, sendo as sementes dos cruzamentos pertencentes a geração F<sub>3:4</sub>.

Cada genótipo foi plantado individualmente no dia 31 de outubro de 2017, em vasos com capacidade volumétrica de 1 litro. Os vasos foram preenchidos com 1 kg de mistura substrato:areia (1:1), o substrato utilizado foi constituído de mistura: terra:areia:composto orgânico na proporção 3:2:2 respectivamente. Após o plantio, as plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura programada a 28±2°C. Após dez dias do plantio, foi feita a seleção fenotípica com aplicação do herbicida glufosinato-sal de amônio (Finale<sup>®</sup>) na concentração de 200 g l<sup>-1</sup> (dosagem comercial 1,5 l ha<sup>-1</sup>). Cada planta também teve a presença do transgene confirmada a partir da realização da reação em cadeia da polimerase (PCR).

Durante 22 dias após o plantio, todos os vasos foram irrigados diariamente até o momento em que todos os genótipos alcançaram o estágio de desenvolvimento V<sub>4</sub>. A partir deste ponto, todos os vasos foram ensacados com sacos plásticos que foram amarrados até próximo da região do caule, onde foi adicionada fibra hidrofóbica para



impedir a perda de água para o ambiente. Na região inferior dos vasos dos tratamentos pertencentes a condição controle foi feito um furo no plástico para evitar o acúmulo de água, e então estes vasos continuaram sendo irrigados diariamente com auxílio de uma seringa. Já os vasos pertencentes à condição de déficit hídrico tiveram a suspensão completa da irrigação. Vale ressaltar, que nesta etapa a cultivar LS93-0375 já se encontrava no estágio reprodutivo R<sub>1</sub>, devido ao fato desta cultivar ser superprecoce (Grupo de maturação 4.2).

Os tratamentos experimentais tiveram sua determinação com base na condutância estomática ( $g_s$ ), onde valores inferiores a  $200 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  foram considerados como determinantes para a condição de estresse por déficit hídrico e valores acima deste foram considerados para a condição controle (Salinet, 2009). Todos os genótipos da condição de déficit hídrico, começaram a apresentar  $g_s \leq 200 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$  cinco dias após o início do déficit. Então, no dia 26 de novembro foram realizadas as leituras de condutância estomática e capacidade fotossintética, com o auxílio do analisador portátil de fotossíntese (LI-6400 *Portable Photosynthesis System*, LI-COR, Lincoln, USA).

Conforme a Tabela 1, os genótipos 16T-0010, LS93-0375 e BMX-Desafio apresentaram os maiores valores de  $g_s$ , 0,5254, 0,5114 e 0,5013, respectivamente, na condição controle e o genótipo 1Ea2939 apresentou o menor  $g_s$  com um valor de 0,4553. Já na condição de déficit hídrico o genótipo 1Ea2939 apresentou o maior valor de  $g_s$  quando comparado com os demais genótipos, sendo este de 0,2000. Os genótipos 16T-0010 e 16T-0005 apresentaram uma  $g_s$  de 0,1078 e 0,0804 respectivamente, não havendo diferença entre si. Estes valores foram superiores quando comparados aos seus respectivos parentais BMX-Desafio, BR16 e LS93-0375 que apresentaram valores de  $g_s$  0,04221; 0,0218 e 0,0211, respectivamente.

Segundo Farquhar e Sharkey (1982), uma menor condutância estomática pode limitar a assimilação de  $\text{CO}_2$  e conseqüentemente reduzir a capacidade fotossintética e a taxa de transpiração.

Na Tabela 2, na condição controle, os genótipos que apresentaram maior taxa fotossintética foram a LS93-0375, 16T-0010 e o 1Ea2939 com valores de 18,40, 16,96 e 16,56 respectivamente, não havendo diferença significativa entre si. Existe um consenso na literatura de que o fechamento estomático está ligado a menor taxa fotossintética, porém, mesmo em condições de alta  $g_s$  outros fatores podem ocasionar a queda nesta taxa, como por exemplo, decréscimos na atividade da rubisco (Bota et al., 2004).

Já na condição de déficit hídrico os genótipos que apresentaram maior taxa fotossintética foram o 1Ea2939 e 16T-0010 com 15,07 e 14,22 respectivamente não havendo diferença significativa entre si. O genótipo 16T-0005 também apresentou uma taxa superior que os demais parentais indicando que os genótipos obtidos a partir da introgressão da construção 35S:AtAREB1A apresentaram maior tolerância ao déficit hídrico. Uma maior taxa de tolerância pode estar ligada a eficiência no uso da água disponível no solo, onde o fechamento estomático promoveu a redução da perda de água para o ambiente, permitindo que a planta tenha água disponível por um período mais prolongado (Marinho et al., 2016).

Neste contexto, os genótipos oriundos do cruzamento com o 1Ea2939 apresentaram resultados superiores na condutância estomática, não diferindo estatisticamente entre si, quando comparados com seus respectivos parentais. Os mesmos apresentaram maior taxa fotossintética, indicando que a introgressão da construção 35S:AtAREB1A nos respectivos genótipos, promoveu maior tolerância ao déficit hídrico.



**Tabela 1.** Comparação da condutância estomática de seis genótipos de soja em condição controle e de déficit hídrico.

Populações/Parentais	Genótipos	Condutância ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
		Controle	Déficit Hídrico
Parental	1Ea2939	0,4553 cA	0,2000 aB
LS93x1Ea	16T-0005	0,4868 bcA	0,0804 bcB
BMXx1Ea	16T-0010	0,5254 aA	0,1078 bB
Parental	BMX-Desafio	0,5013 abA	0,0421 cdB
Parental	LS93-0375	0,5114 abA	0,0211 dB
<i>Background</i>	BR16	0,4783 bcA	0,0218 dB

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Comparação da taxa fotossintética de seis genótipos de soja em condição controle e de déficit hídrico.

Populações/Parentais	Genótipos	Taxa fotossintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
		Controle	Déficit Hídrico
Parental	1Ea2939	16,56 abA	15,07 aA
LS93x1Ea	16T-0005	15,35 bA	10,23 bB
BMXx1Ea	16T-0010	16,96 abA	14,22 aB
Parental	BMX-Desafio	15,08 bA	3,88 cB
Parental	LS93-0375	18,40 aA	-0,43 dB
<i>Background</i>	BR16	15,02 bA	-0,02 dB

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,01$ ).

## Referências

BOTA, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? **New Phytologist**, v. 162, n. 3, p. 671-681, 2004.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 317-345, jun. 1982.

HIRAKURI, M. H. **Impactos econômicos de estresses na produção de soja da safra 2015/16**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 7 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 125).

MARINHO, J. P.; KANAMORI, N.; FERREIRA, L. C.; FUGANTI-PAGLIARINI, R.; CARVALHO, J. de F. C.; FREITAS, R. A.; MARIN, S. R. R.; RODRIGUES, F. A.; MERTZ-HENNING, L. M.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; OLIVEIRA, M. C. N. de; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; YOSHIDA, T.; FUJITA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NAKASHIMA, K.; NEPOMUCENO, A. L. Characterization of molecular and physiological responses under water deficit of genetically modified soybean plants overexpressing the AtAREB1 transcription factor. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 34, n. 2, p. 410-426, 2016.

SALINET, L. H. **Avaliação fisiológica e agrônômica de soja geneticamente modificada para maior tolerância à seca**. 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - USP. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba.

USDA. Foreign Agricultural Service. **Oilseeds: world market and trade**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2018.