

AÇÃO FISIOLÓGICA DA PIRACLOSTROBINA NA ASSIMILAÇÃO DE CO₂ E NA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLANTAS DE FEIJÃO EM DIFERENTES TENSÕES DE ÁGUA NO SOLO

CLEBER JUNIOR JADOSKI¹; JOÃO DOMINGOS RODRIGUES²; ROGÉRIO PERES SORATTO³; CLAUDIANA MOURA DOS SANTOS⁴ E ESSIONE RIBEIRO⁵

¹Pós-Graduando do programa de Pós Graduação em Agronomia/Agricultura – FCA/UNESP, Botucatu/SP, cjadoski@gmail.com

²Professor Titular, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, mingo@ibb.unesp.br

³Professor Adjunto, Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, FCA/UNESP, Botucatu/SP, soratto@fca.unesp.br

⁴Pós-doutoranda, Universidade Federal de Alagoas UFAL, Centro de Ciências Agrárias, Maceió/AL, claudianabio@hotmail.com

⁵Pesquisadora, empresa Arabidopsis Consultoria e Serviços LTDA, Juazeiro/BA, essione.r@hotmail.com

1 RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses de piraclostrobina em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos a diferentes tensões de água no solo, nos parâmetros carboxilativos, na atividade de enzimas ligadas ao combate de espécies reativas de oxigênio (EROs) e na produtividade de grãos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial de parcelas subdivididas com três repetições. As parcelas foram compostas por quatro tensões (-10, -20, -30 e -40 kPa) no qual se testou quatro doses de piraclostrobina (0, 0,050, 0,075 e 0,1 L ha⁻¹ i.a), no início da fase reprodutiva R5. As tensões de -10 e -20kPa não induziram à deficiência hídrica. As tensões de -30 e -40kPa ocasionaram diminuição da atividade carboxilativa, baixa eficiência enzimática e perdas de produtividade. A piraclostrobina alterou positivamente os mecanismos antioxidativos e carboxilativos e também aumentou a produtividade de grãos nas tensões de -20 e -40 kPa.

Palavras-chave: Estrobilurina, Fotossíntese, Déficit hídrico, Radicais livres.

**JADOSKI,C.J; RODRIGUES, J.D; SORATTO, R.P; dos SANTOS, C.M; RIBEIRO E.
PHYSIOLOGICAL ACTION OF PIRACLOSTROBIN ON CO₂ ASSIMILATION AND
ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN BEAN PLANTS AT DIFFERENT SOIL WATER
TENSIONS**

2 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of different levels of pyraclostrobin on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under different soil water tensions, on carboxylate parameters, on the activity of enzymes related to combat reactive oxygen species (ROS) and on grain yield. Randomized blocks in a split-plot design were used with three replicates. Plots consisted of four tensions (-10, -20, -30 and -40 kPa) in which four doses of pyraclostrobin (0, 0.050, 0.075 and 0.1 L ha⁻¹ a.i.) were tested at the beginning of the reproductive stage R5. Tensions of -10 and -20kPa did not lead to water stress.

Tensions of -30 and -40kPa reduced carboxylative activity, lowered enzymatic efficiency and yield. Pyraclostrobin affected positively the antioxidative and carboxylative mechanisms as well as grain yield in tensions of -20 and -40 kPa.

Keywords: strobilurin, photosynthesis, water deficit, free radicals.

3 INTRODUÇÃO

As estrobilurinas compõem um importante grupo químico de fungicidas utilizados pela agricultura mundial. Foram descobertas no início dos anos 80 no fungo *Estrobilorus tenacellus*, que produzia a substância inibindo o crescimento de outros fungos (BARTETT et al., 2011). Quando aplicada em uma cultura para o controle de doenças fúngicas, as moléculas são absorvidas pelas plantas e provocam mudanças em seu metabolismo, isto sem que haja relação ao controle da doença (KOEHLER et al., 2003; KANUNGO; JOSHI, 2014; VENÂNCIO et al., 2003).

A piraclostrobina proporciona melhores efeitos na fisiologia de diferentes culturas quando condicionada a qualquer tipo de estresse, a exemplo da deficiência hídrica (NASON; FARRAR; BARTETT et al, 2011; BALARDIN et al., 2011), a qual induz o estresse oxidativo na planta elevando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos cloroplastos, que são a causa da maioria dos danos às moléculas nas plantas (CARVALHO, 2008). A piraclostrobina alivia os efeitos prejudiciais das EROs produzidos durante o estresse oxidativo, estimulando o aumento da atividade de enzimas antioxidantes como Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Peroxidasas (PODs) (KANUNGO; JOSHI, 2014), o que contribui com a maior resistência nas plantas ao estresse.

Para Jabs (2004) moléculas como piraclostrobina, proporcionam à planta melhor desenvolvimento, promovendo mudanças fisiológicas que permitem: redução do estresse, melhor utilização de CO₂, maior teor de clorofila, redução da produção de etileno permitindo maior duração da vida útil das folhas, e incremento na atividade da enzima nitrato-redutase. Esta enzima tem sido considerada a enzima-chave na sinalização do óxido nítrico (ON). O ON é sintetizado em plantas pela enzima nitrato-redutase que possui uma rota alternativa que reduz de nitrito para ON (STÖHR; STREMIAN, 2006). Os estudos de Brunelli et al. (2001) e Clark et al. (2000), sugerem que o ON pode acionar o mecanismo regulatório da atividade de diferentes enzimas antioxidantes produzidas nos peroxissomos envolvidas no metabolismo das EROs.

Outro fato importante que ocorre com a piraclostrobina, é sua influência no aumento da massa da matéria seca e na produtividade de grãos como constatado em diferentes culturas como trigo (BRYSON; LEANDRO; JONES, 2000), feijão (RAVA, 2002) e soja (FAGAN, 2010; BALARDIN et al., 2011). Para Navarini et al. (2005), esses incrementos variam de acordo com a suscetibilidade ao estresse de cada cultivar que quanto maior a suscetibilidade, maior o incremento. Apesar desses estudos, são escassos trabalhos que avaliam os efeitos da aplicação de estrobilurinas na produtividade das plantas sob condições de seca. Além disso, pouco se sabe sobre o efeito da estrobilurina na cultura do feijão, no que diz respeito à sua interação na taxa de assimilação de carbono e nitrogênio e consequentemente na produtividade e qualidade de grãos.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação da piraclostrobina em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos a diferentes potenciais de água no solo nos parâmetros carboxilativos e na atividade de enzimas ligadas ao combate de espécies reativas de oxigênio (EROs) bem como na produtividade de grãos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de São Manuel da Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrônômicas, em São Manuel-SP no ano agrícola de 2010/2011, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude 22°44'00" sul, longitude 48°34'00", altitude de 740m sobre o nível do mar. O clima é classificado como Mesotérmico Cwa, ou seja, subtropical úmido com estiagem no período do inverno, conforme o sistema internacional de Köppen (KÖPPEN, 1948).

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados em esquema fatorial de parcelas subdivididas com três repetições. As parcelas foram compostas por quatro tensões (-10, -20, -30 e -40 kPa) no qual se testou quatro doses de piraclostrobina (0, 0.050, 0.075 e 0.1L ha⁻¹ i.a), no início da fase reprodutiva R5, ou seja na abertura do primeiro botão floral.

Utilizou-se o Fungicida Comet® como fonte de piraclostrobina, fabricado pela BASF, caracterizado como fungicida sistêmico com 250g L⁻¹ de ingrediente ativo (i.a). A cultivar usada para esse estudo foi feijão Carioca precoce, de crescimento determinado de porte prostrado, com ciclo médio de 70 a 90 dias.

A semeadura foi realizada em estufa tipo túnel com 40m de comprimento por 7m de largura, em canteiros de 2X5m construídos transversalmente no interior da casa de vegetação, e a população de plantas utilizada foi de 250.000 plantas ha⁻¹.

O sistema de irrigação utilizado foi a do tipo localizada, com o gotejo equidistante a 20 cm na linha de semeadura e incluindo uma linha principal de onde saíam às fitas gotejadoras de modo a deixar uniforme a distribuição de água no canteiro. O fluxo de água era controlado por pequenas torneiras no início de cada fita, podendo assim interromper a irrigação do canteiro no momento previsto. Um conjunto de tensiômetros foi instalado para quantificar o potencial hídrico do solo.

A piraclostrobina foi aplicada via pulverização foliar utilizando-se um pulverizador de barras com pressão de CO₂ e bico do tipo leque (110-02). A aplicação da piraclostrobina foi em R5 e logo após iniciou-se o tratamento de estresse hídrico.

Na fase R5 foram realizadas coletas de material vegetal para a quantificação das enzimas Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), Catalase (CAT, EC 1.11.1.6), e Peroxidase (PODS, EC 1.11.1.7) no ápice de cada tensão hídrica aplicada. As amostras foliares foram coletadas na seguinte sequência de suspensão da rega: tensão de -10kPa, dois dias após a interrupção da irrigação, -20kPa a quatro dias, -30kPa a cinco dias e -40kPa a sete dias após a interrupção da irrigação com objetivo de avaliar o melhor tratamento responsivo ao estresse na planta.

As variáveis de trocas gasosas também foram realizadas no ápice de cada tensão hídrica aplicada, onde mensurou-se a taxa de assimilação de CO₂ (A), transpiração, condutância (E), concentração interna de CO₂ (Ci) e transpiração com o uso do "infra red gas analyser" (IRGA). Através da razão A/Ci estimou-se a atividade da enzima rubisco (RubPcase). A eficiência do uso da água (EUA) foi estimada através da razão da eficiência fotossintética pela transpiração (A/E).

A atividade das enzimas peroxidase (POD), foram determinadas segundo metodologia adotada por Teisseire e Guy (2000), e a atividade da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) pela metodologia descrita por Beauchamp e Fridovich (1971) e por Peixoto et al. (1999), respectivamente.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (desdobramento para os índices carboxilativos) e as médias dos tratamentos, comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

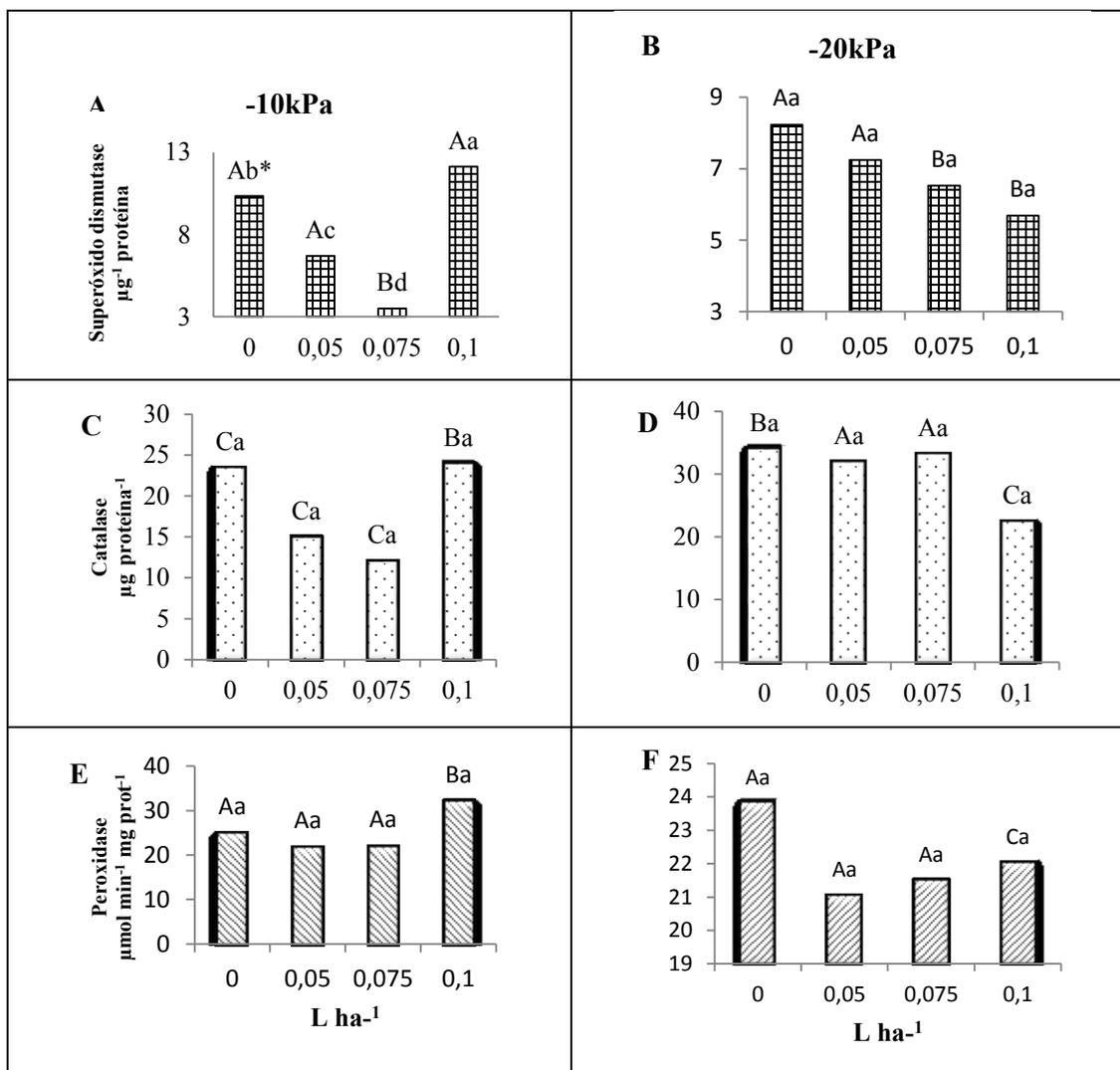
As tensões de -10, -20kPa não influenciaram no sistema antioxidativo das plantas de feijão nas enzimas de SOD, CAT e POD, as quais apresentaram níveis baixos de atividades (Figura 1), o que demonstra ausência de estresse oxidativo nesse período e, contudo nas tensões de -30 e -40kPa houve aumento na atividade de SOD e CAT (Figura 2) o que deve ter sido ocasionado devido ao maior período prolongado de deficiência hídrica na planta de cinco e sete dias respectivamente de estresse. As enzimas SOD e POD constituem a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio, e as alterações em suas atividades e quantidades foram caracterizadas como um indicador de mudança do estado redox em plantas sob condições de seca (ZHANG & KIRKHAM, 1996; SCHWANZ; POLLE, 2001). Feierabend (2005) explica que a catalase é uma ferramenta eficaz no combate aos altos níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), porém, perde eficácia quando há pequena quantidade do peróxido.

Diversos estudos têm demonstrado o papel dos mecanismos antioxidantes enzimáticos na proteção contra o estresse oxidativo secundário induzido pela deficiência hídrica em diferentes culturas como soja e milho (VASCONCELOS et al., 2009) e feijão sob deficiência hídrica (SAGLAMA et al., 2011) e estresse salino (MOHARRAMNEJAD; VALIZADEH, 2014), de acordo aos autores o aumento da atividade de enzimas como SOD, CAT e PODs estão associadas com a manutenção dos níveis de peroxidação de lipídios sob condições de estresse.

Nota-se que há influência dos tratamentos de piraclostrobina nas diferentes tensões aplicadas para a atividade enzimática. Observamos na tensão de -10kPa, a diminuição da produção das enzimas antioxidativas SOD, CAT e POD, quando condicionados aos tratamentos de 0,05 e 0,075L ha^{-1} de piraclostrobina, e aumento dessas enzimas quando o tratamento aplicado foi de 0,1L ha^{-1} (Figura 1A, C e E). Ocorreu para a tensão de -20kPa efeito semelhante, onde os três tratamentos com piraclostrobina diminuíram a produção das enzimas antioxidativas acima citadas (Figura 1B, D e F).

Fato que indica que doses elevadas de piraclostrobina podem estimular o incremento da atividade das enzimas antioxidantes, mesmo com baixo ou ausência de estresse em feijão Carioca. Como também foi relato em testes de campo realizados em folha de bananeira, as plantas tratadas com piraclostrobina duplicaram atividades enzimáticas antioxidantes, o que pode contribuir para tolerância ao estresse (KANUNGO; JOSHI, 2014).

Figura 1. Atividade da superóxido dismutase (A, B, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (C, D, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (E, F, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina ($L \cdot ha^{-1}$) nas tensões de $-10kPa$ e $-20kPa$ com dois e quatro dias respectivamente após a interrupção da irrigação.



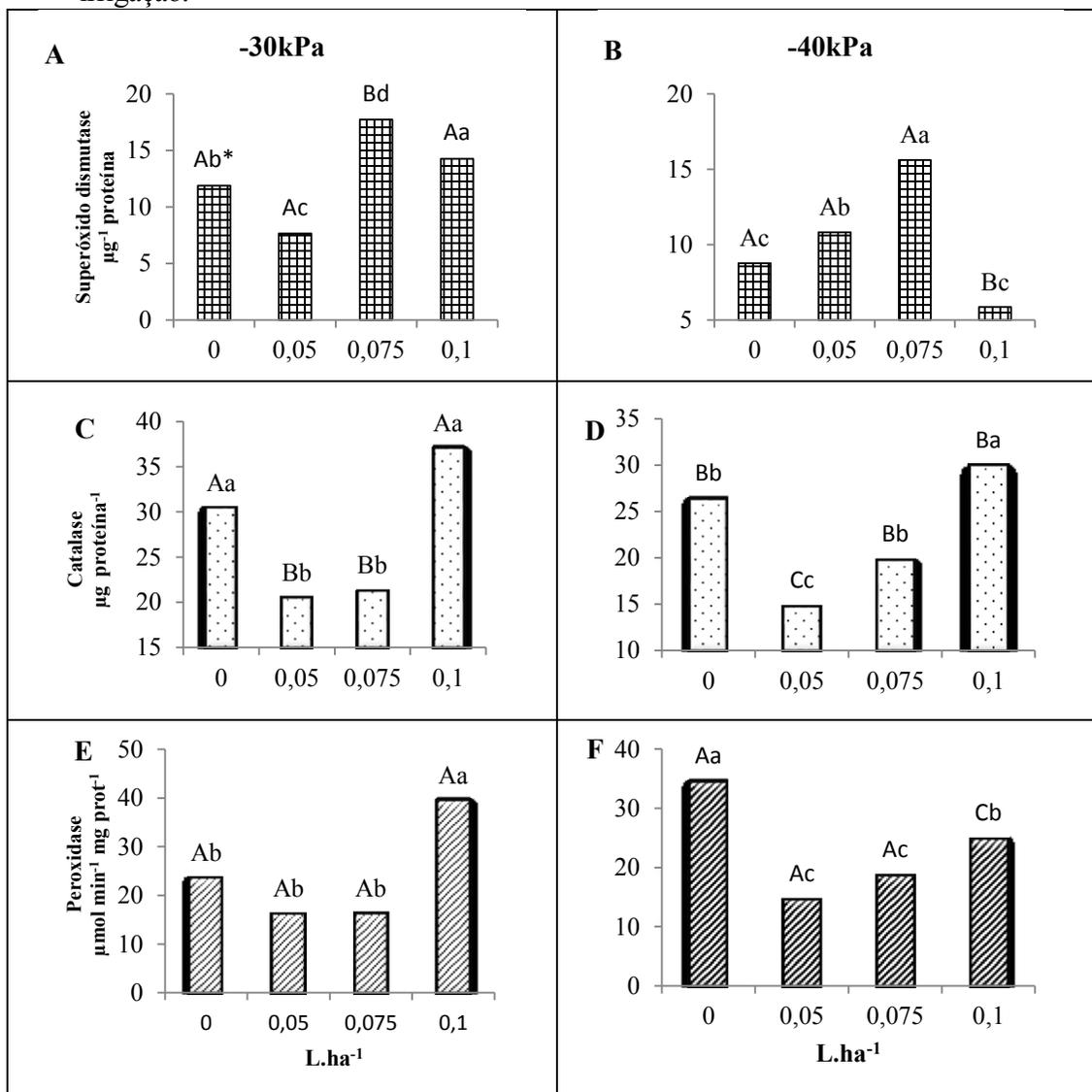
*Para avaliação dos efeitos de DOSES, médias em letras minúsculas. Para avaliação dos efeitos de ESTRESSE, médias em letras maiúsculas. Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

Assim como nos resultados anteriores, na deficiência hídrica de $-30kPa$, também observou-se que no tratamento $0,1L \cdot ha^{-1}$ (Figura 2 A, C e E), aumentou-se a atividade das enzimáticas SOD, CAT e POD respectivamente, resultado este que já era esperado, pois o nível de estresse foi maior. As dosagens de $0,075$ e $0,1L \cdot ha^{-1}$ de piraclostrobina corresponderam às maiores médias de atividade da SOD dentro da deficiência de $-30kPa$, o que é importante para defesa da planta contra o estresse oxidativo. A SOD é considerada a primeira barreira enzimática contra o estresse oxidativo, pois catalisa a dismutação de radicais superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (SHARMA et al., 2012),

desempenhando assim um importante papel no controle de EROs induzido durante a deficiência hídrica.

Contudo, com a tensão de -40kPa , o tratamento de $0,075\text{L ha}^{-1}$ de piraclostrobina aumentou a atividade de SOD e apresentaram a menor atividade de CAT e POD (Figura 2B, D e F), já o tratamento com $0,1\text{L ha}^{-1}$ apresentou redução na atividade de SOD e aumento de CAT. O aumento dessa atividade pode estar relacionado pelo fato da atividade da SOD já tenha cessado devido ao intenso estresse oxidativo ocasionado pela deficiência hídrica na tensão de -40kPa , gerando uma grande quantidade de H_2O_2 , obrigando assim o aumento da atividade da CAT. A atividade da CAT responde de diversas maneiras a deficiência hídrica; ela pode aumentar, diminuir ou permanecer inalterada (ZGALLAÏ; STEPPE; LEMEUR, 2006). Relativa à alternativa de eliminação de H_2O_2 , a catalase é distinguida pela sua eficiência e pela baixa abrangência aos diferentes peróxidos (NICHOLLS et al., 2001).

Figura 2. Atividade da superóxido dismutase (A, B, SOD, EC 1.15.1.1), catalase (C, D, CAT, EC 1.11.1.6) e peroxidase (E, F, POD, EC 1.11.1.7) em diferentes doses de piraclostrobina (L.ha⁻¹) nas tensões de -30kPa e -40kPa com cinco e sete dias respectivamente após a interrupção da irrigação.



*Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias em letras minúsculas. Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias em letras maiúsculas. Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey.

Os efeitos fisiológicos da piraclostrobina ocorrem principalmente nos mecanismos antioxidativos, aumentando a ação protetora no combate dos efeitos maléficos causados pelos radicais livres. Bertelsen, Neergaard e Smedegaard-Petersen, (2001) notaram que os efeitos da piraclostrobina são menos expressos em plantas que não passaram por estresse. Wu e Tiedemann (2001) estudaram os efeitos da azoxistrobina e do epoxiconazole na senescência e estresse oxidativo de plantas de trigo e encontraram

como resultado a redução da senescência das plantas através do aumento do potencial antioxidante, conferindo maior proteção das células aos danos causados pelo oxigênio reativo.

Considerando os parâmetros carboxilativos da cultura, podemos observar a melhor carboxilação em decorrência da tensão de -30kPa e a dose de 0,075L ha⁻¹ de piraclostrobina (Tabela 1). Pode-se verificar que a diminuição da tensão hídrica do solo consequentemente diminuiu a assimilação líquida de CO₂ das plantas (tensões -10, -20 e -30kPa). A tensão de -40kPa, obteve a menor perda de assimilação de CO₂, consequência da maior eficiência de carboxilação (A/Ci) e eficiência do uso da água (Tabelas 2 e 5). O tratamento com piraclostrobina na dose de 0,075L ha⁻¹ de i.a proporcionou melhores taxas de assimilação líquida de CO₂ nas plantas que foram submetidas às condições de tensões hídricas de -10, -20 e -30kPa. Na Tabela 2 verificamos que diminuição da tensão de água no solo diminuiu a eficiência de carboxilação na planta, o que sugere que ocorreu a redução na atividade da Rubisco, pois A/Ci pode ser considerada como a estimativa da atividade da Rubisco, informando sua limitação sob condições de estresse (NIINEMETS, 2009).

Tabela 1. Médias da taxa de assimilação líquida de CO₂ (μmol m².s⁻¹) em plantas de feijoeiro submetidas a diferentes concentrações de piraclostrobina em diferentes tensões de água no solo.

		piraclostrobina L ha ⁻¹ de i.a			
		0	0,05	0,075	0,1
Tensão (kPa)	-10	31,70 Ab*	25,84 Bd	35,20 Ba	28,56 Cc
	-20	24,15 Cc	25,93 Bb	33,50 Ca	22,16 Dd
	-30	22,33 Cc	25,23 Bb	37,60 Aa	20,90 Bd
	-40	30,80 Bb	34,00 Aa	26,26 Dd	30,40 Ac
	cv%	1,87			

*Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Para avaliação dos *efeitos de DOSES*, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas. Para avaliação dos *efeitos de ESTRESSE*, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Tabela 2. Médias da eficiência de carboxilação (A/Ci) em plantas de feijoeiro submetidas a diferentes concentrações de piraclostrobina em diferentes tensões de água no solo.

		piraclostrobina L ha ⁻¹ de i.a			
		0	0,05	0,075	0,1
Tensão (kPa)	-10	0,13 Bb*	0,09 Bc	0,22 Ba	0,14 Ab
	-20	0,10 Cc	0,15 Ab	0,29 Aa	0,11 Cc
	-30	0,10 Ca	0,09 Ba	0,11 Da	0,12 Ca
	-40	0,32 Aa	0,17 Ab	0,15 Cb	0,13 Bc
	cv%	7,05			

*Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Para avaliação dos efeitos de DOSES, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas. Para avaliação dos efeitos de ESTRESSE, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Lawlor e Tezara (2009), relatam que a inibição da fotossíntese é uma das primeiras consequências fisiológicas do estresse hídrico; segundo Dias e Brüggemann (2010), a diminuição da capacidade fotossintética de plantas submetidas à deficiência hídrica pode ser resultante da inapropriada regeneração da rubisco. Porém, ao se aplicar a piraclostrobina, observamos no presente estudo, melhora na resposta da atividade desta enzima nas tensões de -10, -20 e -30kPa, principalmente quando utilizou-se de 0,075 L ha⁻¹ de piraclostrobina.

O menor valor de condutância estomática foi encontrado na tensão de -30kPa e na dose 0,075L ha⁻¹ de piraclostrobina, ajustando a condutância estomática para 0,20mol m⁻² s⁻¹ (Tabela 3). Observa-se que há redução da condutância estomática decorrente do aumento da tensão hídrica no solo. Entretanto, ao aplicar-se a piraclostrobina na dose de 0,1L ha⁻¹, verificou-se a melhor manutenção da condutância estomática das plantas entre as diferentes tensões de água no solo.

Tabela 3. Médias de condutância estomática (mmol m².s⁻¹) em plantas de feijoeiro submetidas a diferentes concentrações de piraclostrobina em diferentes tensões de água no solo.

		piraclostrobina L ha ⁻¹ de i.a			
		0	0,05	0,075	0,1
Tensão (kPa)	-10	0,74 Aa*	0,30 Dd	0,39 Bc	0,47 Cb
	-20	0,66 Ba	0,31 Cc	0,30 Cd	0,61 Bb
	-30	0,37 Cb	0,78 Aa	0,20 Dd	0,24 Dc
	-40	0,35 Dd	0,54 Bb	0,51 Ac	0,71 Aa
	cv%	1,54			

* Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Para avaliação dos efeitos de DOSES, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas. Para avaliação dos efeitos de ESTRESSE, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Observa-se na Tabela 2 que com o aumento da dose de piraclostrobina também aumentou a atividade da enzima rubisco entre as tensões. Em contrapartida, às respostas disponíveis na Tabela 4, é possível observar que a variável transpiração apresentou-se reduzida, conseqüentemente, aumentando a

eficiência do uso da água (EUA) (Tabela 5). Dessa forma, ressaltamos que para a manutenção da condutância estomática no aumento da tensão hídrica, deve ocorrer o equilíbrio dinâmico entre os três fatores da carboxilação: atividade da rubisco (A/Ci), transpiração (E), e eficiência do uso da água (EUA).

Tabela 4. Médias da transpiração ($\text{mmol.vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de feijoeiro submetidas a diferentes concentrações de piraclostrobina em diferentes tensões de água no solo.

		piraclostrobina L ha ⁻¹ de i.a			
		0	0,05	0,075	0,1
Tensão (kPa)	-10	7,69 Ba*	3,65 Cb	4,11 Ab	4,62 Bb
	-20	7,78 Ba	4,52 Cb	4,72 Ab	5,26 Bb
	-30	6,76 Bb	8,46 Aa	2,57 Bd	3,76 Cc
	-40	3,47 Ac	5,61 Bb	4,85 Ab	7,71 Aa
	cv%	8,86			

*Médias seguidas da mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Para avaliação dos efeitos de DOSES, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas. Para avaliação dos efeitos de ESTRESSE, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Tabela 5. Médias da eficiência do uso da água (EUA) ($\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) em plantas de feijoeiro submetidas a diferentes concentrações de piraclostrobina em diferentes tensões de água no solo.

		piraclostrobina L ha ⁻¹ de i.a			
		0	0,05	0,075	0,1
Tensão (kPa)	-10	4,00 Bc*	7,12 Ab	8,56 Ba	6,19 Ab
	-20	3,10 Bc	5,79 Bb	7,10 Ba	4,21 Ab
	-30	3,30 Bb	2,98 Cb	14,67 Aa	5,56 Ab
	-40	11,29 Aa	6,05 Bb	5,41 Bb	3,94 Ab
	cv%	28,81			

*Médias seguidas da mesma letra não diferem a 0,05% pelo teste de Tukey. Para avaliação dos efeitos de DOSES, médias dentro da mesma linha em letras minúsculas. Para avaliação dos efeitos de ESTRESSE, médias dentro da mesma coluna em letras maiúsculas.

Kao e Forseth (1992) sugeriram que o aumento da EUA ocorre devido à manutenção da taxa fotossintética da planta, mesmo com o fechamento parcial dos estômatos. Contudo, quando a concentração de CO₂ for alta, o aumento da eficiência do uso da água é relacionado à transpiração e à condutância estomática.

Segundo Lawlor e Tezara (2009), a condutância estomática é recíproca à resistência estomática e varia em função do processo difusivo da transpiração, abertura estomática e assimilação fotossintética do mesófilo. Dessa forma, o fechamento estomático é um tipo de resistência à deficiência hídrica (LEVITT, 1972).

Grossmann e Retzlaff (1997) constataram que a piraclostrobina aumenta a taxa fotossintética das plantas. Esses autores afirmam que o aumento na fotossíntese líquida está ligado às alterações no ponto

de compensação de CO₂, o que favorece a absorção de dióxido de carbono em oposto à liberação pela respiração. Esse efeito pode ser explicado pela inibição transitória da respiração da planta quando tratada com fungicidas a base de estrobilurinas.

Os resultados obtidos de rendimento de grãos (Tabela 6) mostram que a piraclostrobina melhorou o desempenho produtivo das plantas de feijão sob as diferentes tensões de água no solo. Nas tensões hídricas de -10, -20 e -30 kPa houve menor produtividade de grãos nas plantas às quais não houve o tratamento com piraclostrobina; na tensão de -40kPa houve aumento de produtividade com o tratamento de piraclostrobina a partir das doses de 0,075 e 0,1L ha⁻¹. Observando os dados anteriores de carboxilação, podemos relacionar que a diminuição da produtividade pode estar atrelada à menor eficiência fotossintética, possivelmente causada pela tensão hídrica do solo, contudo, os tratamentos de doses de piraclostrobina auxiliaram no aumento da disponibilidade de carbono somado à maior ação dos agentes oxidantes no metabolismo, aumentando o rendimento de grãos das plantas tratadas.

Tabela 6. Produtividade de grãos em função das doses de piraclostrobina e tensões de umidade do solo.

Tensão (kPa)	Dose piraclostrobina (L ha⁻¹)	Rendimento (g planta⁻¹)
-10	0,0	22,14 C*
	0,05	31,20 A
	0,075	25,70 B
	0,1	25,35 B
		cv:10,7
-20	0,0	23,23 B
	0,05	25,45 B
	0,075	38,74 A
	0,1	27,38 B
		cv:15,0
-30	0,0	23,40 A
	0,05	25,43 A
	0,075	24,10 A
	0,1	26,30 A
		cv:13,2
-40	0,0	22,95 C
	0,05	20,55 D
	0,075	24,66 B
	0,1	28,73 A
		cv:9,9

*Médias seguidas da mesma letra não diferem a 0,05% pelo teste de Tukey para cada tensão de água no solo.

Pimentel e Herbert (1999) discutem que a taxa fotossintética das plantas é comprometida pela deficiência hídrica, o que, geralmente, se reflete em reduções no rendimento de grãos. Fagan et al. (2010), avaliando os efeitos da piraclostrobina nas variáveis fisiológicas da cultura da soja, encontraram efeitos positivos na aplicação da piraclostrobina na carboxilação, obtendo assim aumentos de 7 e 8% na produtividade da cultura.

Em estudos sobre os aspectos fisiológicos de estrobilurinas em plantas de trigo e cevada realizados por Michael (2002) observou-se incrementos da taxa fotossintética e no transporte de elétrons, além da melhoria na eficiência do uso da água e conseqüentemente maior rendimento de grãos das duas

culturas. Outros trabalhos relatam os efeitos fisiológicos da piraclostrobina no aumento da produtividade (BALARDIN et al., 2011; FAGAN et al., 2010; RAVA, 2002).

6 CONCLUSÕES

As tensões de -10 e -20kPa não induziram estresse hídrico. As tensões de -30 e -40kPa ocasionaram diminuição da atividade carboxilativa, baixa eficiência enzimática e perdas de produtividade.

A aplicação da piraclostrobina proporcionou efeitos positivos nos mecanismos antioxidativos e carboxilativos refletindo no aumento da produtividade de grãos nas tensões de -20 e -40kPa.

7 REFERÊNCIAS

- BALARDIN, R. S.; da SILVA, F.D.L.; DEBONA, D.; CORTE, G.D.; FAVERA, D.D.; TORMEN, N.R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.
- BARTETT, D. W. CLOUGH, J.M.; GODFREY, C.R.A.; GODWIN, J.R.; HALL, A.A.; HEANEY, S.P.; MAUND, S.J Understanding the Strobilurin fungicides. **Pesticide Outlook**, London, n. 1, p. 143-148, ago. 2011.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.
- BERTELSEN, J. R.; NEERGAARD, E.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Fungicida effects azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield oh winter wheat. **Plant Pathology**, Oxford, v. 50, n. 2, p. 190-205, 2001.
- BRYSON, R. J.; LEANDRO, L.; JONES, D. R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE-PESTS AND DISEASES, 2000, Farnham. **Proceedings...** Farnham: British Crop Protection Council, 2000. p. 739-747.
- BRUNELLI, L.; YERMILOV, V.; BECKMAM, J. S. Modulation of catalasis peroxidatic and catalytic activity by nitric oxide. **Free Radical Research**, London, n. 3, p. 205-202, 2001.
- CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, Créteil, v. 3, p. 156-165, 2008.
- CLARK, D.; DURNER J.; NAVARRE, D. A.; KLESSIG, D. F. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Piscataway, n. 13, p. 1380-1384, 2000.

DIAS, M. C.; BRÜGGEMANN, W. Limitations of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* under drought stress: gas exchange, chlorophyll fluorescence and Calvin cycle enzymes. **Photosynthetica**, Frankfurt, v. 48, p. 96-102, 2010.

FAGAN, E. B. NETO, D.D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R.B.; YEDA, M.P.; MASSIGNAM, L.F.; de OLIVEIRA, R.F.; MARTINS, K.V. Efeito da aplicação de Piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p.771-777, 2010.

FEIERABEND, J. Catalases in plants: molecular and functional properties and role in stress defense. In: SMIRNOFF, N. (Ed.). **Antioxidants and reactive oxygen species in plants**. Oxford: Blackwell, 2005. p. 101-140.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim methyl in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Pesticide Science**, Oxford, v. 50, p. 11-20, 1997.

JABS, T. Can strobilurins still deliver? **Crop Protection**, Guildford, v. 17, p. 19-20, 2004.

KANUNGO, M.; JOSHI, J. Impact of Pyraclostrobin (F-500) on crop plants. **Plant Science Today**, Trivandrum, n. 1, v. 3, p. 174-178, 2014.

KAO, W-Y; FORSETH, I. N. Responses of gas exchange and phototropic leaf orientation in soybean to soil water availability, leaf water potential, air temperature, and photosynthetic photon flux. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 32, n. 2, p. 153-161, 1992.

KOEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; STIERL, R.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. In: LYR, H.; RUSSELL, P. E.; SISLER, H. D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds III**. Bonn: Agroconcept, 2002. p. 61-74.

KÖPPEN, W. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Econômica. México, 1948, 479p.

LAWLOR, D.W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, p. 561-579, 2009.

LEVITT, L. **Responses of plants to environmental stress**. New York: Academic Press, 1972. 697 p.

MICHAEL, G. **The influence of strobilurin containing fungicides on physiological processes of yield formation in winter wheat varieties**. 2002. 288 f. (Thesis)-Technical University of Munich, Berlin, 2002.

- MOHARRAMNEJAD, S.; VALIZADEH, M. Assessment of oxidative stress tolerance in red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedling under salinity. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, Dhaka, v. 5, n. 6, p. 49-56, 2014.
- NASON, M. A.; FARRAR, J.; BARTLETT, D. Strobilurin fungicides induce changes in photosynthetic gas exchange that do not improve water use efficiency of plants grown under conditions of water stress. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 63, n. 12, p. 1191-1200, 2007.
- NAVARINI, L.; DALLAGNOL, L.J.; BALARDIN, R.S.; MOREIRA, M.T.; MENEGHETTI, R.C.; MADOLOSSO, M.G. Controle químico da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 182-186, 2007.
- NICHOLLS, P.; FITA, I.; LOEWEN, P.C. Enzymology and structure of catalases. **Advances in Inorganic Chemistry**, Maryland Heights, v. 51, 2001. p. 51-106
- NIINEMETS, U.; DÍAZ-ESPEJO, A.; FLEXAS, J.; GALMÉS, J.; WARREN, R. Importance of mesophyll diffusion conductance in estimation of plant photosynthesis in the field. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 8, p. 2271-2282, 2009.
- PEIXOTO, H. P. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.
- PIMENTEL, C.; HERBERT, G. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 11, n. 1, p. 7-11, 1999.
- RAVA, C. A. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e mancha angular do feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 65-69, 2002.
- SAGLAM, A.; SARUHAN, N.; TERZI, R.; KADIOGLU, A. The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, Wien, v. 58, n. 1, p. 60-68, 2011.
- SCHWANZ, P.; POLLE, A. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pedunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO₂ concentrations. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 133-143, 2001.
- SHARMA, P.; BLUSHAN, J.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, New York, v. 2012, p. 1-26, 2012.
- STÖHR, C.; STREMLAU, S. Formation and possible roles of nitric oxide in plant roots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 463-470, 2006.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, Limerick, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.

VASCONCELOS, A. C. F.; ZHANG, X.; ERVIN, E.H.; KIEHL, J. C. Respostas de enzimas antioxidantes a bioestimulantes em plantas de milho e de soja sob estresse hídrico. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 395-402, 2009.

VENÂNCIO, W. S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E.; de SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2003.

WU, Y.; VON TIEDEMANN, A. Physiological effects of Azoxystrobin and Epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Massachusetts, n. 71, p. 1-10, 2001.

ZGALLAÏ, H.; STEPPE, K.; LEMEURE, R. Effects of levels of water stress on leaf water potential, protein and chlorophyll content and anti-oxidative enzymes in tomato plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 48, p. 679-685, 2006.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M. B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. **New Phytologist**, Lancaster, v. 132, p. 361-373, 1996.