



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

JOÃO VITOR DA SILVA

**SUPEREXPRESSÃO DE ORTÓLOGOS AO *AtAREB1*
E APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABSCÍSICO
EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO**

JOÃO VITOR DA SILVA

**SUPEREXPRESSÃO DE ORTÓLOGOS AO *AtAREB1*
E APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABSCÍSICO
EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Agronomia.

Orientadora: Dr^a Liliane Marcia Mertz Henning

Londrina

2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S586 da Silva, João Vitor .
Superexpressão de ortólogos ao AtAREB1 e aplicação exógena de ácido abscísico em soja sob déficit hídrico / João Vitor da Silva. - Londrina, 2026.
69 f. : il.

Orientador: Liliane Marcia Mertz Henning.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2026.
Inclui bibliografia.

1. Transgenia - Tese. 2. Estresse hídrico - Tese. 3. Mudanças climáticas - Tese. 4. Fitormônios - Tese. I. Mertz Henning, Liliane Marcia . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. III. Título.

CDU 66

JOÃO VITOR DA SILVA

**SUPEREXPRESSÃO DE ORTÓLOGOS AO *AtAREB1*
E APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABSCÍSICO
EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Agronomia.

Dr^a Liliane Marcia Mertz Henning
Embrapa Soja/Universidade Estadual de Londrina
- UEL

Dr. Dennis Santiago da Costa
Instituto Federal do Paraná - IFPR

Dr. José Salvador Simoneti Foloni
Embrapa Soja

Londrina. 09 de março de 2026

SILVA, João Vitor. **Superexpressão de ortólogos ao *AtAREB1* e aplicação exógena de ácido abscísico em soja sob déficit hídrico**. 2026. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

Resumo

Na safra 2025/2026 o Brasil lidera a produção mundial de soja (*Glycine max*) com, aproximadamente, 178 milhões de toneladas, representando 42% do total global. Apesar dos dados positivos, é comum haver reduções na produtividade em função de períodos de déficit hídrico, principalmente durante os estágios de formação dos componentes de rendimento. As projeções climáticas indicam um cenário de aumento da frequência e intensidade de períodos de seca, reforçando a necessidade de estratégias de melhoramento voltadas à tolerância ao déficit hídrico. Nesse contexto, a superexpressão de genes envolvidos com a tolerância ao déficit hídrico, relacionados a via do hormônio Ácido Abscísico (ABA), representa uma importante estratégia. A superexpressão do fator de transcrição *AtAREB1* de *Arabidopsis thaliana* na linhagem transgênica de soja 1Ea2939 promoveu o aumento da sensibilidade das plantas ao ABA, causando o fechamento dos estômatos, redução do crescimento da planta e síntese de enzimas que protegem as plantas contra o estresse osmótico. Contudo, cultivares transgênicas enfrentam restrições regulatórias, com necessidade de demorados e onerosos estudos de biossegurança, o que torna relevante o estudo de genes ortólogos nativos do genoma do organismo alvo. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo compreender os efeitos do ABA nos mecanismos de resposta à seca em soja por meio da geração de plantas transgênicas superexpressando ortólogos do gene *AtAREB1*, pela atualização do *background* genético da linhagem 1Ea2939 e por meio da aplicação exógena de ABA em plantas de soja. A transformação genética da cultivar elite BRS 573 via *Agrobacterium tumefaciens* resultou em eficiências de 2,61%, 1,79% e 1,24% para as construções contendo o gene *AtAREB1*, e seus potenciais ortólogos, *Glyma.04G039300* e *Glyma.06G040400*, respectivamente. Esses valores são compatíveis com os encontrados na literatura para cultivares elite. A obtenção de eventos transgênicos na cultivar BRS 573 representou a atualização do *background* genético da linhagem tolerante à seca 1Ea2939 para uma base de maior potencial produtivo. Visando determinar os efeitos da aplicação exógena de ABA sobre respostas fisiológicas e agrônômicas da cultura sob déficit hídrico, foi avaliada a aplicação exógena de ABA nas doses de 50, 100 e 200 μ M via radicular na cultivar BR 16 e na linhagem 1Ea2939 submetidas ao déficit hídrico nos estádios fenológicos R1 e R5. Foi observada redução temporária da condutância estomática e da fotossíntese, com respostas dependentes da dose e do genótipo. A linhagem tolerante 1Ea2939 apresentou menor sensibilidade à redução da fotossíntese após a aplicação de ABA quando comparada à cultivar suscetível BR 16, indicando maior estabilidade fisiológica associada à ativação constitutiva da via mediada por *AREB1*. Em ambos os genótipos, os efeitos do ABA exógeno foram transitórios, com recuperação fisiológica após alguns dias, sugerindo absorção e degradação do fitormônio no substrato. Os resultados indicam que a modulação fisiológica promovida pelo ABA demonstrou ser uma estratégia promissora para o aumento da tolerância da soja ao déficit hídrico, resultando na preservação da biomassa de vagens e grãos na cultivar sensível sob restrição hídrica.

Palavras-chave: *Glycine max*; Fator de transcrição; Mudanças Climáticas; Seca; Fitormônios.

SILVA, João Vitor. **Overexpression of *AtAREB1* orthologs and exogenous application of abscisic acid in soybean under water deficit.** 2026. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

Abstract

In the 2025/2026 season, Brazil leads global soybean (*Glycine max*) production with approximately 178 million tons, representing 42% of the world total. Despite these positive figures, productivity losses due to water deficit periods are common, particularly during the developmental stages of yield components. Climate projections indicate a scenario of increased frequency and intensity of droughts, reinforcing the need for breeding strategies focused on drought tolerance. In this context, the overexpression of genes involved in water deficit tolerance related to the Absciscic Acid (ABA) hormonal pathway represents an important strategy. The overexpression of the *Arabidopsis thaliana* transcription factor *AtAREB1* in the 1Ea2939 transgenic soybean line promoted increased plant sensitivity to ABA, causing stomatal closure, reduced plant growth, and the synthesis of enzymes that protect plants against osmotic stress. However, transgenic cultivars face regulatory restrictions requiring long and costly biosafety studies, which underscores the importance of studying native orthologous genes within the target organism's genome. Thus, this study aimed to understand the effects of ABA on drought response mechanisms in soybean through the generation of transgenic plants overexpressing orthologs of the *AtAREB1* gene, the update of the genetic background of the 1Ea2939 line, and the exogenous application of ABA in soybean plants. Genetic transformation of the elite cultivar BRS 573 via *Agrobacterium tumefaciens* resulted in efficiencies of 2.61%, 1.79%, and 1.24% for constructs containing the *AtAREB1* gene and its potential orthologs, *Glyma.04G039300* and *Glyma.06G040400*, respectively. These values are consistent with those found in the literature for elite cultivars. Obtaining transgenic events in the BRS 573 cultivar represented an update of the genetic background of the drought-tolerant line 1Ea2939 to a base with higher yield potential. To determine the effects of exogenous ABA application on the crop's physiological and agronomic responses under water deficit, root-zone applications of ABA at doses of 50, 100, and 200 μM were evaluated in the BR 16 cultivar and the 1Ea2939 line subjected to water deficit at the R1 and R5 phenological stages. A temporary reduction in stomatal conductance and photosynthesis was observed, with responses depending on both dose and genotype. The tolerant line 1Ea2939 showed lower sensitivity to photosynthesis reduction following ABA application compared to the susceptible cultivar BR 16, indicating greater physiological stability associated with the constitutive activation of the AREB1-mediated pathway. In both genotypes, the effects of exogenous ABA were transient, with physiological recovery occurring after a few days, suggesting uptake and degradation of the phytohormone in the substrate. The results indicate that the physiological modulation promoted by ABA is a promising strategy for increasing soybean tolerance to water deficit, resulting in the preservation of pod and grain biomass in the sensitive cultivar under water restriction.

Keywords: *Glycine max*; Transcription factor; Climate change; Drought; Phytohormones.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	9
1.1.	OBJETIVOS	10
1.1.1.	Objetivo Geral	10
1.1.2.	Objetivos Específicos	11
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1.	SOJA: HISTÓRICO E MELHORAMENTO	12
2.2.	PANORAMA ECONÔMICO DA SOJA.....	13
2.3.	EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO	14
2.4.	MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FUTURO DA CADEIA PRODUTIVA.....	16
2.5.	AÇÃO DO ABA SOB ESTRESSE OSMÓTICO	17
2.6.	A CASCATA DE REGULAÇÃO TRANSCRICIONAL INDUZIDA POR ABA.....	19
2.7.	O FATOR DE TRANSCRIÇÃO <i>AtAREB1</i>	20
2.8.	ORTÓLOGOS AO GENE <i>AtAREB1</i> EM SOJA	21
CAPÍTULO 1. SUPEREXPRESSÃO DE ORTÓLOGOS AO <i>AtAREB1</i> EM SOJA E ATUALIZAÇÃO DE <i>BACKGROUND</i> DA LINHAGEM 1EA2939		24
3.	INTRODUÇÃO.....	24
4.	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1.	CONSTRUÇÃO DOS VETORES	26
4.2.	TRANSFORMAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA.....	27
4.2.1.	Cultivo De <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	27
4.2.2.	Preparo Dos Explantes De Soja Para Transformação.....	27
4.2.3.	Infecção Dos Explantes	28
4.2.4.	Regeneração E Seleção	28
4.2.5.	Aclimatização	29
4.2.6.	Identificação De Plantas Transgênicas	30

5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.	CONCLUSÃO.....	35
 CAPÍTULO 2. APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABCSÍCIO EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS		
7.	INTRODUÇÃO.....	36
8.	MATERIAL E MÉTODOS	38
8.1.	CONDIÇÕES DE CULTIVO	38
8.2.	AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS	38
8.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
9.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
10.	CONCLUSÃO.....	53
11.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
12.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS		64
ANEXO A - Procedimentos para preparo do meio LB Líquido		64
ANEXO B - Procedimentos para preparo do meio de Co-Cultivo Líquido (CCM).....		64
ANEXO C - Procedimentos para preparo do Meio de Germinação (MG).....		65
ANEXO D - Procedimentos para preparo do Meio de Co-Cultivo Sólido (CCM)		65
ANEXO E - Procedimentos para preparo do Meio de Indução de Multibrotamento 1 (SIM1)		66
ANEXO F - Procedimentos para preparo do Meio de Indução de Multibrotamento 2 (SIM2) - Com agente seletivo		66
ANEXO G - Procedimentos para preparo do Meio de Alongamento (SEM).....		67
ANEXO H - Procedimentos para preparo do meio Meio de Enraizamento (RM)		67
ANEXO I – Ajustes De Regressão Para Os Parâmetros De Condutância Estomática E Fotossíntese Em Função Das Doses De Ácido Abscísico		68

1. INTRODUÇÃO GERAL

O grão de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das principais *commodities* produzidas mundialmente, sendo direcionado, principalmente, para a alimentação humana e animal e para a produção de biocombustíveis, além do potencial de uso em diversos outros setores agroindustriais. Na safra 2025/2026 o Brasil lidera a produção mundial de soja com uma produção estimada em 178 milhões de toneladas, cerca de 42% do total produzido mundialmente neste período (USDA, 2026).

Apesar dos dados positivos, é comum a ocorrência de reduções na produtividade da soja em função de períodos de déficit hídrico. Em comparação com outras culturas de grãos como o milho, a soja apresenta uma tolerância relativamente maior à escassez de água durante sua fase vegetativa. No entanto, ela é muito sensível ao estresse hídrico durante a fase reprodutiva, quando há a formação dos componentes de rendimento, especificamente o florescimento (R1-R2) e o enchimento dos grãos (R5-R6) (Sentelhas *et al.*, 2015).

Um estudo realizado pela Embrapa, utilizando dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) e Ipea (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada), estimou que os estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul obtiveram, em conjunto, um prejuízo causado pela seca de US\$14,9 bilhões na safra 2021/2022 (Embrapa, 2023). As projeções para a produção de soja no Brasil, considerando o contexto do aquecimento global, apontam para um cenário de aumento da frequência de períodos de seca, o que pode resultar em impactos mais graves nas plantações, além das perdas históricas causadas por veranicos (Kothari *et al.*, 2022).

Em plantas de soja, o déficit hídrico resulta em reduções significativas quanto ao número de vagens, peso e número de grãos e na proporção de matéria seca. Entre os fatores desencadeados pela falta de água que corroboram para tal resultado, destacam-se: a redução na atividade de enzimas que atuam no metabolismo de nitrogênio, além da regulação negativa de genes ligados ao metabolismo desse nutriente. Essas mudanças acarretam em queda na eficiência de utilização de nitrogênio, o que leva a uma diminuição no conteúdo de nitrogênio e, conseqüentemente, a um acúmulo de nitrato (Du *et al.*, 2020).

A baixa disponibilidade de água para as plantas, geralmente, está associada a fatores como a alta radiação solar e temperaturas elevadas; relação esta que pode levar à

formação de compostos oxidativos capazes de danificar as células vegetais, resultando em um declínio no desenvolvimento da planta (Thomas; Costa, 2010).

Um dos principais fatores de remediação ao estresse abiótico é o ácido abscísico (ABA), hormônio capaz de atuar direta e indiretamente nos processos fisiológicos das plantas afetadas pela indisponibilidade hídrica. O efeito direto desse fitormônio se baseia, principalmente, na regulação da condutância estomática, sendo capaz de fechar os estômatos para reduzir a perda de água por transpiração e evitar a cavitação, por exemplo (Taiz *et al.*, 2017; Taiz; Zeiger, 2004; Netting, 2000). Além disso, o ABA atua como regulador da ação do etileno, mitigando a ação desse na zona radicular, portanto, evitando a senescência dessas estruturas (Spollen *et al.*, 2000).

Quanto ao seu efeito indireto, o acúmulo de ABA ativa uma via de transdução de genes envolvidos na atenuação dos efeitos prejudiciais ocasionados pelo estresse osmótico e outras condições abióticas (Cutler *et al.*, 2010; Taiz *et al.*, 2017; Umezawa *et al.*, 2010). Entre os genes ativos pela via de regulação mediada por ABA, está o fator de transcrição *AtAREBI*, o qual é envolvido na resposta da planta ao estresse hídrico e na adaptação fisiológica, desempenhando um papel crucial na sobrevivência das plantas sob condições de déficit hídrico por meio do aumento da transcrição de genes traduzidos em proteínas atenuadoras do estresse osmótico (Fujita *et al.*, 2005).

Dessa maneira, o presente estudo foi dividido em dois capítulos a fim de compreender e avaliar a influência do hormônio ABA nos mecanismos de resposta à seca em soja. O primeiro capítulo teve por objetivo gerar plantas transgênicas de soja superexpressando os genes candidatos a ortólogos do gene *AtAREBI* em soja, além de realizar uma atualização do *background* genético da linhagem 1Ea2939. O segundo capítulo, teve por objetivo avaliar a influência da aplicação exógena de ABA nas respostas fisiológicas e agronômicas da soja.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Compreender os efeitos do ABA nos mecanismos de resposta à seca em soja por meio da geração de plantas transgênicas superexpressando ortólogos do gene *AtAREBI*, pela atualização do *background* genético da linhagem 1Ea2939 e por meio da aplicação exógena de ABA.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Obter vetores para superexpressão dos genes de soja (Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400) ortólogos ao fator de transcrição *AtAREB1* de *Arabidopsis thaliana*;
- Obter plantas transgênicas de uma cultivar elite de soja expressando o gene *AtAREB1*;
- Obter plantas transgênicas de soja com aumento na expressão dos genes (Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400) ortólogos ao *AtAREB1*;
- Identificar, por PCR, a inserção dos genes Glyma.04G039300, Glyma.06G040400 e do gene *AtAREB1* nas plantas obtidas através da cultura de tecidos;
- Avaliar o efeito da aplicação exógena de ABA nas respostas fisiológicas e agrônômicas da soja sob déficit hídrico no período reprodutivo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SOJA: HISTÓRICO E MELHORAMENTO

Nativa da China, estima-se que a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] tenha sido domesticada por volta de 6.000 a 9.000 anos atrás (Carter-Júnior *et al.*, 2004). Os primeiros registros de experimentos realizados com soja no Brasil remontam ao século XIX, quando um agricultor da Bahia iniciou o cultivo. No ano de 1891, o Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo (IAC) iniciou seus testes com essa planta, sendo expandidos para o Rio Grande do Sul. O plantio visando o melhoramento genético de soja teve início na década de 1920, na Estação Experimental de São Simão - SP, onde ocorreram os primeiros testes com hibridações e seleção, assim gerando as primeiras cultivares. O cultivo comercial da soja no Brasil foi realizado primeiramente no Rio Grande do Sul, no ano de 1914, sendo que o interesse econômico começou a ser demonstrado a partir de 1940. Por conta das exigências climáticas das cultivares obtidas através do material estadunidense, a produção nesse período permaneceu limitada ao Sul do país (Calvo; Kiihl, 2006).

A partir da década de 60, a cultura da soja começou a demonstrar maior importância econômica, passando a ser empregada na entressafra do trigo, a principal planta cultivada no Sul nesse período. Outro fator que alavancou a popularidade da cultura foi o aumento na produção de suínos e aves, que aumentou a necessidade do farelo de soja para a alimentação desses animais. Por volta de 1970, por conta da valorização do grão de soja, estudos visando a adaptação dessa cultura aos ambientes brasileiros passaram a receber maior investimento. Em virtude da demanda por tecnologia, em 1975, a Embrapa Soja (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa de Soja) foi fundada. A adaptação da soja a regiões tropicais foi um dos maiores avanços alcançados pela pesquisa brasileira. Isso foi possível graças à introdução do gene da juvenilidade longa na soja, fator de extrema importância para obtenção de cultivares adaptadas a baixas latitudes, possibilitando o cultivo no Centro-Oeste do país (Mertz-Henning; Nepomuceno, 2024).

Após a sanção da Lei de Proteção de Cultivares (Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997), empresas privadas passaram a também trabalhar com o melhoramento, impulsionando a área de pesquisa e desenvolvimento. A chegada da tecnologia de transgenia ao Brasil ocorreu em 1998, com a soja RR (*Roundup*® Ready) com a introdução

de um gene bacteriano que confere tolerância ao herbicida glifosato, o que facilitou o manejo de plantas espontâneas nas lavouras (Calvo; Kiihl, 2006; Mertz-Henning; Nepomuceno, 2024). A partir de então, diversos outros eventos obtidos por transgenia vieram sendo aprovados, contando com modificações como a resistência a um ou mais herbicidas, a capacidade de síntese de proteínas *Cry* para o controle de insetos ou tolerância ao estresse hídrico, por exemplo (Brasil, 2024). Com a ascensão de tecnologias que possibilitam a edição genômica, como CRISPR/Cas, está sendo possível obter avanços com linhagens de soja que apresentam qualidade de óleo elevada, resistência patógenos e tolerância estresse abiótico, entre outros (Fu *et al.*, 2022; Gao *et al.*, 2024; Melo *et al.*, 2023; Yao *et al.*, 2023).

2.2. PANORAMA ECONÔMICO DA SOJA

O grão de soja é uma das principais *commodities* produzidas mundialmente, direcionado a três principais segmentos agroindustriais, a alimentação humana e animal e a produção de biocombustíveis. No caso da alimentação humana, pode-se citar diversos produtos provenientes dessa leguminosa, como o óleo de soja, a farinha de soja, utilizada na indústria de panificação, o leite de soja (extrato proteico de soja) e a proteína isolada de soja, importantes alternativas na nutrição de pessoas lactointolerantes, a proteína texturizada de soja (PTS) e o tofu (queijo de soja), muito consumidos pelo público vegetariano, o molho shoyu, o missô (pasta de soja), entre diversos outros. Para a alimentação animal, o farelo ou torta de soja pode ser aproveitado para a formulação de rações para bovinos, equinos, aves, peixes, pets, etc; podendo também ser utilizado diretamente na alimentação de algumas espécies ou na produção de silagem. Além dos principais destinos citados, a soja possui empregabilidade para inúmeras outras funções. O ácido oleico é utilizado na síntese de lubrificantes automotivos, sabões e sabonetes, enquanto a lecitina aplicada como emulsionante na fabricação chocolates, cosméticos e fármacos (Boschiero, 2023).

Na safra 2025/2026 o Brasil ocupa a liderança do ranking mundial de países produtores de soja, com uma produção estimada em 178 milhões de toneladas, cerca de 42% do total produzido mundialmente neste período, seguido pelos Estados Unidos (27%), Argentina (11%), China (5%), Paraguai (3%), Índia (2%), Rússia (2%), Canadá (2%), Ucrânia (1%), e Bolívia (1%) (USDA, 2026). Dessa produção, um total de 127,406 milhões de toneladas produzidas pelo Brasil foram exportados na forma de grão (104.798

Mt), farelo (21.295 Mt) e óleo (1.313 Mt), enquanto o consumo total foi de 84.313 milhões de toneladas, sendo que desse consumo a parcela de 55.811 Mt se deu em grão, 18.581 Mt na forma de farelo e 9.921 Mt em óleo (Abiove, 2025).

2.3. EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO

A água representa cerca de 90% do peso total da planta de soja e outras herbáceas, sendo necessária em diversos processos bioquímicos e fisiológicos, atuando como solvente no transporte de minerais, gases e outros compostos. Além disso, a água atua na regulação térmica por meio do mecanismo de transpiração (Costa, 2001). A escassez de água durante o desenvolvimento da soja é a principal limitação à manifestação do real potencial de produtividade da cultura, apresentando-se como um dos fatores que mais contribuem na inconstância de valores de produção obtidos na comparação entre safras (Embrapa, 2020).

A desidratação celular acarretada pelo déficit hídrico afeta negativamente diversos mecanismos fisiológicos básicos. Com isso, o potencial hídrico (Ψ) do apoplasto diminui a ponto de ficar menor que o do simplasto, reduzindo assim o turgor celular. O aumento da resistência hidráulica é favorecido, diminuindo a pressão nos vasos condutores, o que pode levar à cavitação, que afeta de forma negativa a absorção de nutrientes. Em decorrência dos efeitos primários, consequências secundárias adversas podem ser desencadeadas, entre as quais podem ser apontadas: a redução da expansão celular, abscisão foliar, o maior direcionamento do carbono para formação radicular, a citotoxicidade iônica, citorrise, a desestabilização de membranas e de proteínas e, em casos mais severos, a morte celular. Por conta da dissociação funcional entre os fotossistemas ocasionada pela desidratação, os elétrons livres gerados pelos centros de reação não são direcionados pelas moléculas de NADP^+ , resultando na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que atuam como inibidores da síntese proteica, oxidam pigmentos fotossintéticos e podem levar à peroxidação dos lipídeos de membrana (Taiz *et al.*, 2017).

Outro mecanismo desencadeado pelo estresse hídrico é a síntese e acumulação de ácido abscísico (ABA), responsável por, em primeiro momento, impulsionar o fechamento estomático, o que reduz as trocas gasosas. A principal finalidade do fechamento dos estômatos é evitar o fenômeno de cavitação nos vasos condutores, que pode provocar prejuízos ligados à condução de água e, por consequência, à transpiração

e translocação de minerais e metabólitos. A redução na transpiração também é proporcionada pelo fechamento dessas estruturas, porém, é um efeito secundário, já que o aumento da tensão de água no xilema também é capaz de provocar o fechamento estomático (Netting, 2000; Taiz *et al.*, 2017). Apesar da menor perda de água ocasionada pelo fechamento dos estômatos, a capacidade fotossintética da planta também tende a ser reduzida, já que a restrição na absorção de dióxido de carbono (CO_2) limita esse processo (Steppe *et al.*, 2015).

Por ser uma planta de metabolismo C_3 , a soja está ainda mais sujeita a desequilíbrios metabólicos causados pelo estresse hídrico em comparação a plantas C_4 e CAM. Em plantas C_3 , o déficit hídrico afeta rapidamente a entrada de CO_2 e as reações bioquímicas internas, levando a fortes desequilíbrios metabólicos. O déficit hídrico leva ao fechamento dos estômatos, limita CO_2 , comprometendo a produção de ATP/RuBP e o balanço de carbono e nitrogênio, o que acarreta em intensos desequilíbrios metabólicos e estresse oxidativo (Flexas, 2002; Flexas *et al.*, 2004; Karami *et al.*, 2023, 2025; Lawlor *et al.*, 2002; Qiao *et al.*, 2024).

O período de desenvolvimento mais crítico quanto à exposição ao déficit hídrico compreende os estágios de formação dos componentes de rendimento, que têm início com a floração [R1, pela escala de Fehr; Caviness (1977)], até a fase de enchimento dos grãos (R5) (Sentelhas *et al.*, 2015). Em estudos que avaliaram diferentes cultivares de soja durante o período de 15 safras, foram detectadas maiores produtividades com a quantidade de 650 – 700 mm de água durante o ciclo completo. Além do volume de água adequado durante o ciclo, a distribuição desse valor é de extrema importância. Em tratamentos com plantas submetidas ao déficit hídrico, mesmo com volumes totais aproximados de 700 mm, houveram decréscimos no rendimento do grão, principalmente quando a falta de água foi induzida durante o período reprodutivo. O volume de água adequado para suprir as demandas metabólicas da cultura durante a fase reprodutiva se encontra entre 120 - 300 mm, havendo a necessidade de uma distribuição adequada durante essa fase que não haja uma limitação na produção de grãos (Farias *et al.*, 2009).

No estudo de Du *et al.* (2020), plantas de soja de distintas cultivares submetidas a um déficit induzido pelo período de 45 dias demonstraram redução no acúmulo de biomassa nas raízes, caules, paredes de vagens e sementes. Na cultivar mais afetada o número de vagens, o número de sementes e o peso das sementes foram reduzidos em 64,60%, 63,55% e 68,60%, respectivamente, sob estresse hídrico em comparação com o controle. A cultivar menos afetada apresentou decréscimos de 36,25%, 60,41% e 57,03%

para os mesmos parâmetros, nessa ordem. A concentração de malondialdeído (MDA), um indicador de estresse oxidativo, aumentou significativamente sob estresse hídrico, com incrementos variando de 52,86% a 90,11%. No mesmo estudo, nos tratamentos com indução de déficit hídrico, foi possível observar reduções variáveis na expressão dos genes *GmNR* (-43,60% a -63,26%), *GmNiR* (-49,64% a -72,41%), *GmGS* (-42,44% a -51,55%) e *GmGOGAT* (-37,34% a -44,92%), que traduzem as seguintes enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio: nitrato redutase, nitrito redutase, glutamina Sintase e glutamato oxigenase, respectivamente. A regulação negativa desses genes ocasiona a queda de eficiência da assimilação de nitrogênio, resultando em um acúmulo de nitrato nas folhas das plantas sob estresse (Du *et al.*, 2020).

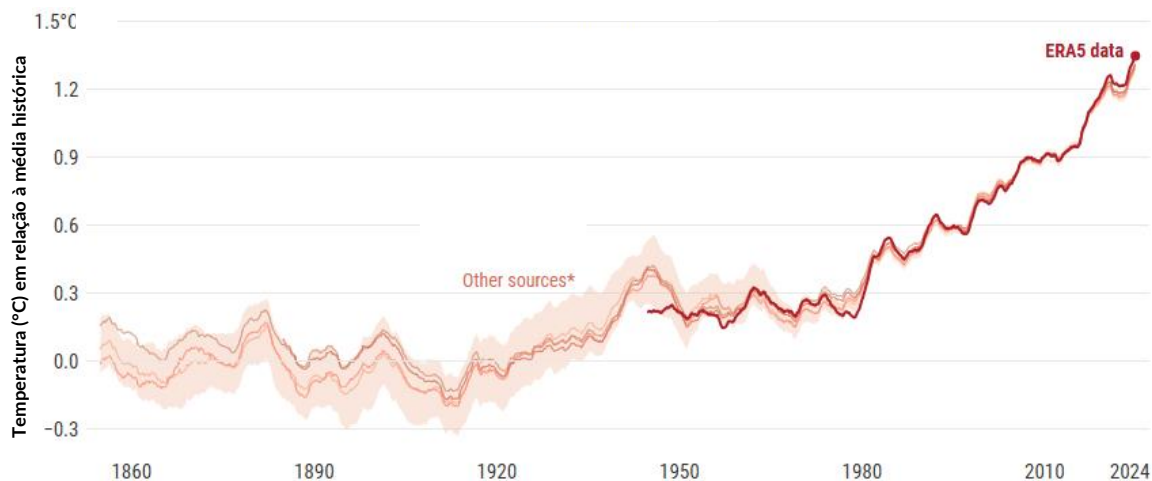
Um estudo realizado pela Embrapa, utilizando dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), estimou os prejuízos na produtividade de soja nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul na safra 2021/2022, que foi afetada por um longo período de estiagem. Ao comparar as médias de produtividades obtidas entre os anos, foi calculada a perda em cada um dos estados em questão entre as safras de 2001/2002 a 2021/2022, indicando, assim, decréscimos para os estados RS, SC, PR e MS de 28, 10, 27 e 18 sc.ha⁻¹, respectivamente. Desse modo, estima-se que o déficit hídrico reduziu a produção de soja em 179(RS), 7(SC), 154(PR) e 63(MS) milhões de sacas nos estados citados. Em suma, o valor de 403 milhões de sacas de soja, considerando preço médio de maio/2022 de US\$ 36,79 por saca de 60 kg, apontado pelo o Ipea (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada), traduziu-se em um dano econômico estimado em US\$ 14,9 bilhões para a safra 2021/2022, o que seria equivalente a perda de 40% de toda a área ocupada pela cultura no Brasil (Embrapa, 2023).

2.4. MUDANÇAS CLIMÁTICAS E FUTURO DA CADEIA PRODUTIVA

O ano de 2024 foi considerado o mais quente de toda a história, em 175 anos de avaliações meteorológicas. De acordo com o conjunto de dados ERA5 (*European Centre for Medium-Range Weather Forecasts ECMWF Reanalysis v5*) a temperatura média global foi de 15,10°C, um aumento de 0,72°C em comparação com a média do período de 1991 a 2020. Além disso, esse valor representa 1,60°C a mais que em nível pré-industrial de 1850 a 1900 (Copernicus, 2025). Em um cenário de altas emissões, o aquecimento global tende a ser intensificado, possibilitando um aumento de até 4,4°C na temperatura do planeta até o ano de 2.100 (IPCC, 2023). Os valores das médias históricas

das temperaturas do ar da superfície terrestre nesses períodos em comparação com as apresentadas nos anos de 2024 podem ser visualizadas no gráfico a seguir (Figura 1).

Figura 1. Médias da temperatura atmosférica (janeiro de 1940 a dezembro de 2024).



Fonte: Copernicus, 2025.

Tais mudanças tendem a afetar os níveis e a distribuição de precipitação, radiação solar, umidade relativa do ar e ventos (IPCC, 2023). A radiação solar, assim como temperaturas elevadas, resulta em um maior nível de evaporação da água da superfície do solo, levando à diminuição do seu conteúdo de água (Khamidov *et al.*, 2023). Esses fatores também tendem a aumentar a taxa de transpiração das plantas, ao buscarem um equilíbrio térmico (Taiz *et al.*, 2017).

A maior parcela das áreas produtoras de soja no Brasil é dependente da água proveniente da chuva, já que sistemas de irrigação possuem custos muito elevados (Embrapa, 2023). As projeções futuras para a produção de soja no Brasil, considerando o contexto do aquecimento global, indicam um cenário de aumento da frequência de períodos de seca, o que pode resultar em impactos mais graves nas plantações, além das perdas históricas causadas por veranicos (Kothari *et al.*, 2022).

2.5. AÇÃO DO ABA SOB ESTRESSE OSMÓTICO

Entre os diversos hormônios vegetais atrelados à adaptação das plantas a distintas condições de estresse, o ABA possui uma das respostas mais imediatas, podendo alcançar concentrações até 50 vezes maiores nas folhas de plantas expostas ao déficit hídrico, o que caracteriza a mudança mais brusca de concentração de um fitormônio sob efeito de

condições do ambiente (Taiz; Zeiger, 2004). O acúmulo de ABA nas folhas leva ao fechamento estomático, processo que auxilia na redução da probabilidade de formação de bolhas no xilema (cavitação), também diminuindo a perda de água para a atmosfera ocasionada pela transpiração (Netting, 2000; Taiz *et al.*, 2017).

Em resumo, o ABA atua na sinalização entre a zona radicular e parte aérea das plantas, proporcionando o fechamento dos estômatos antes mesmo que haja variações no Ψ das folhas (Davies *et al.*, 2010). O controle do fechamento estomático proporcionado pelo ABA é mediado pela regulação do conteúdo de íons K^+ das células-guarda, além de íons Cl^- e de alguns ácidos orgânicos na membrana plasmática e tonoplasto destas células (Müller-Röber *et al.*, 1998). No citoplasma, quinases podem atuar na fosforilação de determinados canais aniônicos (*SLAC1*) e de canais de potássio (*KATI*), induzindo o fechamento estomático em resposta ao efeito do ABA (Lee *et al.*, 2009; Pilot, 2001). Nas raízes, o acúmulo de ABA restringe a síntese de etileno, que pode reduzir a expansão radicular sob desidratação (Spollen *et al.*, 2000).

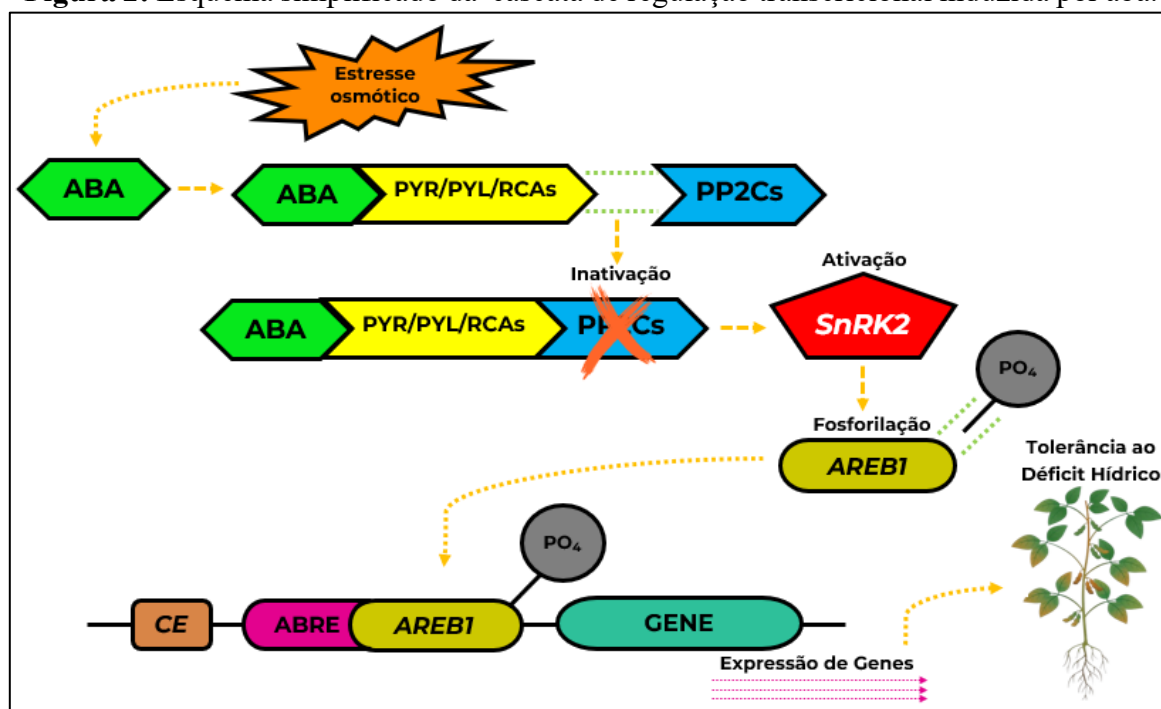
Além do estresse osmótico (hídrico ou por salinidade) o ABA também é capaz de atuar na remediação de outras condições, como estresse pelo frio ou por choque térmico, por exemplo. Em ambos os casos, uma extensa rede de transdução desencadeada pelo acúmulo de ABA, proporciona, por meio de diferentes vias, a regulação na expressão de genes envolvidos na modulação de estresses abióticos, o aumento da síntese de determinadas enzimas e na assimilação de alguns elementos, fatores estes que resultam em alterações fisiológicas capazes de aumentar a tolerância da planta ao estresse (Cutler *et al.*, 2010; Taiz *et al.*, 2017; Umezawa *et al.*, 2010).

Efeitos benéficos da aplicação de ABA exógeno em soja também são evidenciados. Por exemplo, a aplicação de 10 μ M do fitormônio por via radicular foi capaz de aumentar os níveis de ABA acumulados nas folhas, de forma a diminuir a condutância estomática e mantendo o conteúdo relativo de água (RWC) da planta durante o período de déficit hídrico induzido. Isso resultou em melhores taxas fotossintéticas e relações hídricas foliares (He *et al.*, 2019). A pulverização de 300 mg/L de ABA aumentou a produtividade da soja ao melhorar a alocação e a distribuição de carbono para as sementes. O ABA exógeno também melhorou a qualidade das sementes, uma vez que não afetou os níveis de proteína, mas aumentou a concentração de óleo (Travaglia *et al.*, 2009).

2.6. A CASCATA DE REGULAÇÃO TRANSCRICIONAL INDUZIDA POR ABA

Para tentar amenizar os efeitos do déficit hídrico, a planta tende a potencializar a síntese de ABA, aumentando sua concentração intracelular. Esse acúmulo do fitormônio é detectado pelas chamadas proteínas *START* (*Steroidogenic Acute Regulatory Protein-Related Lipid-Transfer*), os receptores de ABA *PYR/PYL/RCARs* (*Pyrabactin Resistance1/Pyr1-Like/Regulatory Components of ABA Receptors*), que reconhecem e se ligam às moléculas de PP2C (fosfatase 2C do grupo A), promovendo a inibição da atividade dessa enzima. A fosfatase PP2C regula negativamente a sinalização de ABA, desfosforilando e, dessa forma, inativando proteínas serinas/treoninas quinase da família *SnRK2* (*Sucrose non-Fermenting Related Kinase2*) de subclasse III (*SRK2D/SnRK2.2*, *SRK2E/SnRK2.6* e *SRK2I/SnRK2.3*). Logo, a inibição de PP2C acaba resultando em um acúmulo de *SnRK2s*, possibilitando a fosforilação das regiões conservadas dos fatores de transcrição (*TFs*) *AREB/ABF* e, portanto, os ativando. A ativação desses fatores leva à expressão de genes *AREB/ABF*, que regulam diversos genes *downstream* ao se ligarem ao elemento responsivo a ABA (*ABRE*) localizado na região promotora desses (Cutler *et al.*, 2010; Fujita *et al.*, 2011; Taiz *et al.*, 2017; Umezawa *et al.*, 2010). *ABRE* é um elemento cis conservado que possui 8 pb (PyACGTGG/TC) e sequência principal ACGT (Nakashima *et al.*, 2009; Fujita *et al.*, 2011).

Figura 2: Esquema simplificado da cascata de regulação transcrricional induzida por aba.



Fonte: O autor, 2026.

Entretanto, uma cópia independente de um elemento *ABRE* não é capaz de proporcionar a expressão gênica responsiva ao ABA. Para atuar eficientemente como elemento *cis* ativo, *ABRE* necessita estar próximo de outras de suas cópias ou de um elemento de acoplamento, entre os quais podem ser citados: *CE1* (elemento de acoplamento1) e *CE3* (elemento de acoplamento3); e *DRE* (elemento responsivo à desidratação) /*CRT* (*C-repeat*) elemento *cis* (principal elemento *cis* na via independente de ABA (Shen *et al.*, 1996; Narusaka *et al.*, 2003).

As PP2Cs também relacionam-se a outras proteínas atreladas a distintos mecanismos de resposta ao ABA. Como exemplos, podemos citar outras proteínas quinase, proteínas sensoras de Ca_2^+ , fatores de transcrição e canais iônicos. A interação entre PP2Cs e as proteínas citadas garante a regulação da atividade destas por meio da desfosforilação de determinados resíduos de serina ou treonina (Taiz *et al.*, 2017).

2.7. O FATOR DE TRANSCRIÇÃO *ATAREB1*

Fatores de transcrição (*TFs*) são proteínas que regulam determinados genes, controlando a ativação ou desativação destes ao se ligarem a elementos *cis* nas regiões promotoras *upstream* do alvo. Entre os *TFs* ligados a expressão gênica reativa aos níveis de ABA acumulados por conta de condições de estresse, evidenciam-se os pertencentes a família *AREB* (*ABA-responsive element binding protein*)/*ABF* (*ABRE-binding factor*) classificados como zíper básico de leucina (bZIP). Em *Arabidopsis thaliana*, foram identificados nove *TFs* pertencentes à subclasse *AREB/ABF*, entre os quais encontram-se: *AREB1/ABF2*, *AREB2/ABF4*, *ABF1* e *ABF3* (Fujita *et al.*, 2005, 2011, 2013).

AREB1 é um dos principais elementos reguladores da expressão gênica que atuam sobre efeitos de estresse osmótico em resposta ao ABA em *Arabidopsis thaliana*. Esse fator de transcrição controla a expressão de genes que codificam as proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*), ligadas à tolerância ao estresse hídrico, atuando na estabilização de estruturas celulares, como membranas e proteínas (Fujita *et al.*; 2005). Em plantas de soja com a superexpressão de *AREB1*, foi possível detectar maiores níveis de clorofila e performances fotossintéticas superiores em condições de déficit hídrico. Os valores de condutância estomática desses transgênicos também foram superiores, o que além de proporcionar maiores níveis de transpiração, garantiram maiores eficiências fotossintéticas (Caranhato *et al.*, 2022; Fuhrmann-Aoyagi *et al.*, 2021). Em comparação com a cultivar convencional, plantas geneticamente modificadas (GMs) de soja com

introdução do gene *AtAREBI* demonstraram-se mais eficientes quanto ao uso da água e à carboxilação (Fuhrmann-Aoyagi *et al.*, 2021). Além disso, a inserção de *AREBI* apresentou efeitos positivos sobre o crescimento e estabelecimento de plantas de soja, principalmente na regulação do crescimento de mudas, também afetando positivamente a adaptação das plantas em condições de alto teor de sal, maior calor e estresse oxidativo (Kim *et al.*, 2004).

No trabalho de Melo *et al.* (2023), plantas de soja expressando o *TF AREBI* apresentaram-se saudáveis e com uma coloração verde, demonstrando uma alta taxa de sobrevivência, mesmo após 30 dias de seca induzida. Após 20 dias sem irrigação, as plantas transgênicas exibiram maior estabilidade que as plantas controle, cujas folhas apresentaram deformações, mudanças de tonalidade e sinais de desidratação, muito provavelmente por conta do acúmulo de EROs. As plantas transgênicas apresentaram conteúdo relativo de água superior sob estresse hídrico, o que corroborou para a mitigação das perdas de biomassa em comparação ao controle. Também houve um maior acúmulo de açúcares, importantes reguladores do equilíbrio osmótico, mesmo sob irrigação. A expressão dos genes codificantes das enzimas SOD (Superóxido Dismutase), CAT (Catalase) e APX (Ascorbato Peroxidase) foi superior no GM submetido à seca, concordantemente ao maior teor dessas enzimas, que atuam na modulação de compostos responsáveis pelo estresse oxidativo (EROs e H_2O_2 , por exemplo). Os efeitos desencadeados pelo *AREBI* durante o período de déficit hídrico possibilitaram a recuperação das plantas após a reidratação.

Um dos melhores exemplos que podem ser citados é a linhagem 1Ea2939, que mesmo sendo submetida ao déficit hídrico em casa de vegetação e campo, manteve um desempenho fisiológico superior a cultivar BR 16, sua parental convencional. A linhagem transgênica apresenta maior eficiência intrínseca no uso da água (A/gs) e índice de área foliar em condições não irrigadas, o que contribui para conservação hídrica. Sob estresse hídrico foram verificadas maiores taxas de crescimento apical, condutância estomática, fotossíntese, além de maiores produtividades (Embrapa, 2023; Fuganti-Pagliarini *et al.*, 2017, Marinho *et al.*, 2015).

2.8. ORTÓLOGOS AO GENE *ATAREBI* EM SOJA

Os progressos alcançados através da transgenia com genótipos de soja GMs nos últimos anos têm enfrentado restrições quanto ao uso em lavouras comerciais. Isso se

deve aos elevados custos exigidos para a regulamentação desses produtos (Embrapa, 2023). Após a introdução de um gene exógeno ao genoma de uma planta, esta passa a ser considerada transgênica. Para liberação comercial, são necessários estudos para garantir a biossegurança, processo que, além de demorado, tem alto custo (Brasil, 2005).

Com o objetivo de acelerar o processo de liberação de cultivares, a técnica de edição genômica via tecnologia CRISPR/Cas demonstra-se promissora, uma vez que os produtos resultantes dessa técnica são obtidos por pequenas alterações no genoma, como a inserção ou deleção de poucos pares de bases nitrogenadas, desta forma, dependendo das alterações realizadas, podem ser considerados como um produto não-OGM isentos, portanto, das regras impostas pela legislação para a liberação de produtos transgênicos, como estabelecido de acordo com a Resolução Normativa N°16, de 15 de janeiro de 2018 (Brasil, 2018).

O processo de edição genômica é resultado da combinação de duas técnicas biotecnológicas, a transgenia e a edição via CRISPR propriamente dita. Inicialmente, a maquinaria de edição é transferida via transgenia e integrada ao genoma da planta, a qual se deseja editar. A maquinaria de edição é composta de três elementos principais: o gene Cas, responsável por realizar o corte da dupla fita; o guia, o qual direciona a enzima Cas à posição específica de edição; e o marcador de seleção, gene que permite a identificação e seleção de eventos transgênicos. O primeiro passo para a edição gênica é a obtenção de plantas transgênicas, que contêm a maquinaria de edição, esta, por sua vez, irá localizar, através do guia, o gene a ser editado, o qual encontra-se em qualquer parte do genoma da planta, não estando ligado à região onde a maquinaria se insere, desta forma, por autofecundação, a maquinaria de edição e o *locus* editado segregam independentemente. Esse fenômeno permite, após a autofecundação, a seleção de plantas editadas não-transgênicas. O *knock-out* ou silenciamento gênico, ocorre devido a um truncamento da proteína, resultante da inserção de *stop-códons* no gene alvo, isto ocorre devido a mutações que alteram a fase de leitura, por inserções ou deleções de pares de bases. Estas mutações *Indel* ocorrem devido a um erro do mecanismo de reparo do DNA da planta, que é ativado após a quebra da fita dupla por meio da enzima Cas (Molinari *et al.*, 2020).

Para tirar proveito dos benefícios citados, torna-se essencial o estudo de genes nativos do genoma do organismo alvo, que possam garantir características semelhantes aos genes exógenos de interesse já avaliados. Nesse sentido, dois genes encontrados em soja foram estudados, demonstrando serem interessantes alternativas para o melhoramento visando tolerância ao déficit hídrico. Os genes em questão são:

Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400; que, ao serem comparados, apresentaram similaridades de sequência de 68,6% e 64,6% ao fator de transcrição *AtAREB1*, respectivamente. Portanto, acabaram sendo categorizados como ortólogos ao *AtAREB1* (Marin *et al.*, 2021).

CAPÍTULO 1. SUPEREXPRESSÃO DE ORTÓLOGOS AO *AtAREB1* EM SOJA E ATUALIZAÇÃO DE *BACKGROUND* DA LINHAGEM 1EA2939

3. INTRODUÇÃO

O gene *AtAREB1*, identificado na espécie modelo *Arabidopsis thaliana*, é um fator de transcrição que se liga ao motivo do elemento responsivo ao ácido abscísico (ABRE) na região promotora de genes induzíveis por Ácido Abscísico (ABA) (Fujita *et al.*, 2005). Esse gene está envolvido na resposta da planta ao estresse hídrico e na adaptação fisiológica, desempenhando um papel crucial na sobrevivência das plantas sob condições de déficit hídrico. O déficit hídrico eleva os níveis de ABA, que se liga a receptores específicos, formando complexos enzimáticos que ligam-se a fatores de transcrição *AtAREB1*. A ativação do *AtAREB1* leva à regulação positiva de genes que são importantes na resposta ao estresse hídrico. Essa melhoria está associada a maior atividade de enzimas antioxidantes, maiores níveis de açúcares solúveis e melhor eficiência no uso da água, o que ajuda a regular o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, a manutenção da clorofila e, por consequência, maior sobrevivência geral das plantas (Melo *et al.*, 2020).

Em soja, a superexpressão do fator de transcrição *AtAREB1* aumentou a sensibilidade das plantas ao ácido abscísico, promovendo o fechamento dos estômatos, redução do crescimento da planta e síntese de enzimas que protegem as plantas contra o estresse osmótico (Marinho *et al.*, 2015). Diversos estudos apresentaram efeitos positivos quanto a resposta ao estresse hídrico em soja com a introdução do gene *AtAREB1* (Caranhato *et al.*, 2022; Fuganti-Pagliarini *et al.*, 2017; Fuhrmann-Aoyagi *et al.*, 2021; Leite *et al.*, 2014; Marinho *et al.*, 2015; Neumaier *et al.*, 2022; Winck *et al.*, 2023).

Os progressos alcançados através da transgenia com genótipos de soja geneticamente modificados (GMs) nos últimos anos têm enfrentado restrições quanto ao uso em lavouras comerciais. Isso se deve aos elevados custos exigidos para a regulamentação desses produtos (Embrapa, 2023). Após a introdução de um gene exógeno ao genoma de uma planta, esta passa a ser considerada transgênica. Para liberação comercial, são necessários estudos para garantir a biossegurança, processo que, além de demorado, tem alto custo.

No estudo de Marin *et al.* (2021), foi detectada a ortologia quanto ao *AtAREB1* para dois genes pertencentes ao genoma da soja, sendo eles: Glyma.04G039300 (com 68.6% de similaridade) e Glyma.06G040400 (com 64.6% de similaridade). A depender

da técnica a ser utilizada, a superexpressão de um gene encontrado no próprio genoma da planta a ser melhorada não configura transgenia. Nesse contexto, torna-se de extrema importância o estudo de genes nativos do próprio genoma do alvo, que garantam características semelhantes aos genes exógenos introduzidos por transgenia nesse organismo.

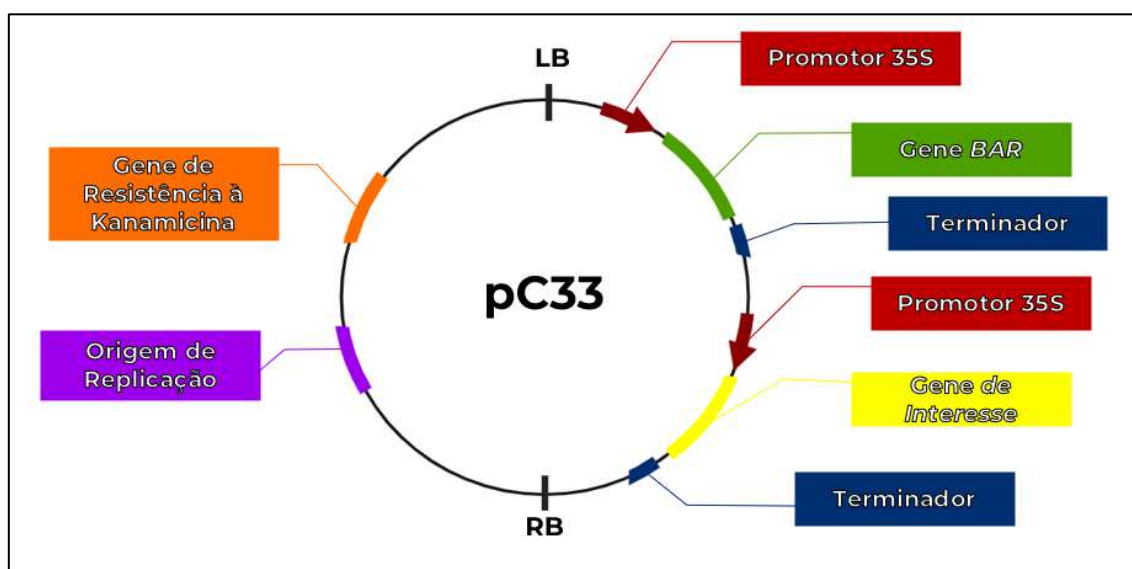
Portanto, este trabalho teve por objetivo gerar plantas transgênicas de soja com aumento na expressão dos dois genes candidatos a ortólogos ao gene *AtAREB1* em soja. Além disso, também foi realizada a atualização do *background* genético da linhagem 1Ea2939 da cultivar de soja BR 16 para a cultivar elite BRS 573.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. CONSTRUÇÃO DOS VETORES

Os vetores utilizados no processo de transformação das plantas de soja foram sintetizados a partir de um “backbone” de um vetor modular (pC33) e contém entre as bordas direita e esquerda (RB e LB) o gene *BAR*, capaz de conferir resistência ao herbicida glufosinato de amônio, o que permite a seleção das plantas transformadas, e as sequências dos genes alvos (Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400), todos esses elementos sob controle do promotor 35S. Além dos elementos alocados entre as extremidades esquerda e direita (LB e RB), o vetor base possui o gene que garante tolerância ao antibiótico kanamicina, possibilitando a seleção de colônias de bactérias transformadas nas etapas seguintes (Figura 2).

Figura 2: Modelo simplificado do vetor modular pC33.



Fonte: O autor, 2024.

Após a síntese dos vetores, os mesmos foram clonados e multiplicados por transformação em *Escherichia coli* (Cepa *DH5α*), e posterior extração do DNA plasmidial por *miniprep*. Em seguida foi realizada a transformação em *Agrobacterium tumefaciens* a partir da metodologia de transformação de bactérias por choque térmico (Embrapa, 2015).

4.2. TRANSFORMAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA

As etapas referentes à transformação de plantas e cultura de tecidos foram realizadas de acordo com a “Metodologia para transformação de soja via *Agrobacterium tumefaciens*” descrita na Circular Técnica 128 da Embrapa (Kanamori *et al.*, 2017). A composição e modo de preparo de cada um dos meios de cultivo empregados estão descritos nos anexos deste trabalho (Anexos A-H). As construções foram nomeadas de acordo com os seguintes códigos: 8E (*AtAREBI*), 8S (Glyma.04G039300) e 8T (Glyma.06G040400).

4.2.1. Cultivo De *Agrobacterium tumefaciens*

O pré-inóculo foi obtido a partir de uma colônia isolada de *Agrobacterium tumefaciens* contendo a construção alvo, a qual foi transferida para 5 mL de meio Luria Bertani (LB) líquido com adição dos antibióticos rifampicina e espectinomicina à proporção de 50 µg mL⁻¹. Após o período de 24h sob agitação em incubadora orbital a 170 rpm à temperatura de 28°C, 50 µL do pré-inóculo foi transferido para um Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio LB líquido com adição dos mesmos antibióticos, e incubado em seguida nas mesmas condições por 16h. O crescimento bacteriano foi monitorado por leitura da densidade óptica a 600 nm (DO₆₀₀) da cultura, que deve se manter entre 0,6 - 0,9. Após a DO₆₀₀ adequada ser atingida, o inóculo foi centrifugado a 5.500 rpm por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o sedimento bacteriano ressuspenso em 50 mL de meio de Co-Cultivo Líquido (CCM Líquido).

4.2.2. Preparo Dos Explantes De Soja Para Transformação

Para a desinfecção, sementes de soja da cultivar BRS 573 foram dispostas em placas de Petri (60 mm). As placas abertas foram mantidas em recipiente hermeticamente fechado por 16 horas, onde as sementes foram expostas ao gás cloro, produzido pela adição de 5 mL de ácido clorídrico concentrado a 36% em 100 mL de hipoclorito de sódio comercial 2,5%. Após o período de esterilização o recipiente contendo as placas foi aberto dentro de uma câmara de fluxo laminar, onde as sementes foram mantidas por 30 minutos para remoção do gás, sendo as placas posteriormente fechadas, vedadas com filme PVC e mantidas em refrigeração até o início do processo de transformação.

No dia que antecede as transformações, as sementes foram depositadas com o hilo para baixo em Meio de Germinação (GM), sobre o qual foram adicionados 5 mL de água estéril. Essas sementes foram mantidas em câmara de crescimento com condições de fotoperíodo (F), temperatura (T) e umidade relativa (UR) controladas (F24h/T25°C/UR60%) para hidratação durante 16h. Após o período de hidratação, foi adicionada água destilada estéril até a completa submersão das sementes, as quais permaneceram assim até sua utilização.

4.2.3. Infecção Dos Explantes

Com auxílio de pinça e bisturi estéreis, as sementes foram cortadas no sentido horizontal na região próxima ao hilo, sendo que a metade contendo o embrião foi utilizada nas próximas etapas. A região da radícula foi removida por um pequeno corte, mantendo-se cerca de um terço do embrião. O tegumento foi retirado e os dois cotilédones foram separados por meio de um corte ao longo do eixo embrionário.

Para expor o meristema apical e, conseqüentemente, aumentar o potencial de infecção, os primórdios foliares foram removidos e, com auxílio de uma microescova de aço inoxidável, são causadas injúrias na região do meristema apical (abaixo dos primórdios foliares). O processo de injúria foi realizado dentro do meio de co-cultivo (CCM Líquido), no qual as bactérias contendo o vetor de transformação foram ressuspensas. Com as placas envoltas em papel alumínio, os explantes foram mantidos em meio de co-cultivo líquido por, aproximadamente, 30 minutos.

Posteriormente, os explantes foram transferidos com a parte adaxial voltada para baixo em placas de Petri contendo meio CCM Sólido, sobre uma folha de papel de filtro estéril. As placas foram vedadas com filme PVC, o qual deve ser perfurado para permitir as trocas gasosas, e posteriormente as placas foram incubadas por cinco dias em câmara de crescimento (F16h/T25°C/UR60%).

4.2.4. Regeneração E Seleção

Após o cultivo em meio CCM Sólido, a região do hipocótilo foi cortada e os explantes foram submetidos a um processo de lavagem da seguinte forma: três enxágues em água destilada autoclavada, uma lavagem em solução de água e hipoclorito de sódio 1% (2:1) por um minuto, seguido de três enxágues em água destilada autoclavada. Os

processos de lavagem e enxágues foram repetidos por duas vezes. Por fim, os explantes foram secos em placas de Petri contendo camada tripla de papel-filtro estéril.

Após a lavagem e secagem, os explantes foram transferidos para potes contendo Meio de Indução de Multibrotamento (SIM1), a parte aérea deve estar dentro do meio de cultura para induzir a formação de multibrotos. Os explantes em meio SIM1 foram incubados por 15 dias em câmara de crescimento (F16h/T25°C/UR60%). Em seguida, os explantes foram subcultivados em Meio de Indução de Multibrotamento 2 (SIM2), onde permaneceram por mais 15 dias nas mesmas condições descritas anteriormente. Na sequência, a base dos cotilédones foi cortada para expor novos tecidos e, em seguida, foram transferidos para o Meio de Alongamento (SEM), e incubados em câmara de crescimento (F16h/T25°C/UR60%).

Transferências regulares (cada 15 dias) para novos recipientes contendo meio SEM seguiram sendo realizadas. A cada transferência, um novo corte na base do explante foi feito. Os subcultivos periódicos em meio SEM foram contínuos até o início da alongação dos explantes. Quando os brotos atingiram cerca de 3 cm, os mesmos foram cortados e imersos em uma solução de ácido indolbutírico (1 mg mL^{-1}), então, transferidos para copos plásticos contendo Meio de Enraizamento (RM). Os explantes alongados permaneceram em câmara de crescimento (F16h/T25°C/UR60%) até o enraizamento, que foi considerado a partir do surgimento de raízes secundárias, por no mínimo duas semanas.

4.2.5. Aclimatização

As plantas foram retiradas do meio RM e o excesso de meio de cultura foi removido por lavagem em água corrente. As plantas foram transplantadas para um copo plástico contendo substrato composto por terra, areia e composto orgânico na proporção de 3:2:2. Os copos foram cobertos com sacos plásticos e mantidos em câmara de crescimento (F16h/T25°C/UR60%) por, ao menos, uma semana, seguida da abertura gradual do saco plástico.

Após a fase de aclimação, foram coletadas amostras de folhas para confirmar a transformação por meio de PCR. As plantas transformadas foram então transferidas para casa de vegetação.

4.2.6. Identificação De Plantas Transgênicas

A identificação de transgenia nas plantas obtidas foi realizada por meio de PCR, empregando primers específicos do promotor do gene de interesse (6-Areb-Prom-F: AGGTCTCATCAAGACGATCTAC e 35S-2: GATAGTGGGATTGTGCGTCA). Para uma reação de 25 μL foram utilizados: 16,3 μL de água ultra pura, 2,5 μL do tampão de reação (10x), 1 μL de MgCl_2 (50 mM), 1 μL de dNTP (10 mM), 1 μL do iniciador *Forward* (5uM), 1 μL do iniciador *Reverse* (5 μM), 0,2 μL de Taq DNA polimerase (5U μL^{-1}) e 2uL de DNA (50ng/uL).

A condição de amplificação foi configurada da seguinte maneira: desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguido por 35 ciclos de desnaturação 95°C por 30 s, anelamento a 57°C por 30 s, extensão a 72°C por 45 s, seguido por 72°C por 7 min. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%, contendo brometo de etídeo em tampão TB (tampão borax). Foram misturados 10 μL da reação de PCR em 2 μL de tampão de carregamento 6x (azul de bromofenol-glicerol). Os géis foram submetidos a uma tensão de 100V por 1h. Por fim, a presença de amplificação foi observada em transiluminador.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas transgênicas foram identificadas a partir da amplificação de fragmento de 716pb (Figura 3). Foram gerados totais de 10 transgênicos para a construção 8E, 18 transgênicos para construção 8S e 25 transgênicos para construção 8T. Após a identificação dos transgênicos positivos, esses foram transplantados para vasos em casa de vegetação para posterior avanço de geração.

Figura 3: Identificação de plantas transgênicas por PCR. *: Bandas de plantas transgênicas positivas; +: controle positivo; -: controle negativo; B: Branco; L: Letter.



Fonte: O autor, 2025.

Figura 4: Plantas transgênicas transplantadas para vasos em casa de vegetação.



Fonte: O autor, 2025.

A eficiência de transformação genética das plantas de soja foi calculada a partir da razão entre o número de plantas transgênicas obtidas e o número total de explantes no meio de indução de multibrotamento (SIM1). Dessa forma, as eficiências obtidas foram de 2,61% para a construção 8E, 1,79% para a construção 8S e 1,24% para a construção 8T. Esses valores estão em conformidade com o que é reportado na literatura, mesmo havendo diferenças metodológicas entre protocolos de transformação de soja via *Agrobacterium* descritos (Xu *et al.*, 2022). No trabalho de Paz *et al.* (2006), estudo utilizado como base para o desenvolvimento da técnica aplicada no presente trabalho,

foram verificadas taxas de obtenção de explantes transformados variando entre 1,40 a 8,70%, com uma eficiência geral de transformação de 3,80%.

Entre os principais fatores que interferem na frequência de transgenia, estão: o tamanho do fragmento a ser inserido, o genótipo empregado, o tipo de explante (cotilédone, nós cotiledonares, calos, embriões, etc), o agente seletivo e seu respectivo gene de seleção, o tipo de injúria realizada no explante para a exposição do meristema apical, a adição de outros agentes químicos (hormônios, antibióticos, antioxidantes, adjuvantes, etc), entre diversos outros. Dentre os fatores citados, a eficiência de transgenia está principalmente atrelada ao genótipo base utilizado, sendo que, no geral, cultivares elite apresentam maior recalcitrância à transformação quando comparadas a linhagens modelo altamente suscetíveis (como a Williams, Williams79, Williams 82, Jack e Thorne) amplamente empregadas na identificação e caracterização de genes via transgenia (Paz *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2022). Por isso, é importante ressaltar que, no estudo base citado anteriormente, os genótipos utilizados foram todos de linhagens que apresentam alto índice de transformação pelo método aplicado, entre as quais estão: Thorne, Williams, Williams 79, e Williams 82 (Paz *et al.*, 2006).

Os resultados encontrados por Jia *et al.* (2015) indicam que a variação da eficiência de transformação dependente do genótipo ocorre, entre outros fatores, pela susceptibilidade dos genótipos à *Agrobacterium*, sendo os genótipos Williams 82, Shennong 9 e Bert, considerados de alta eficiência para esse tipo de transformação (6,71%, 5,32% and 5,13%, respectivamente). Os autores propuseram que, nos nós cotiledonares, hormônios como o ácido giberélico (GA) e o ribosídeo de zeatina (ZR) são fitorreguladores positivos para a transformação da soja mediada por *Agrobacterium*, facilitando a germinação e o crescimento e aumentando o número de células no ciclo de síntese de DNA, respectivamente. Por outro lado, o acúmulo de ácido abscísico (ABA), jasmonato de metila (MeJA), polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD) podem acarretar a uma resposta negativa na transformação da soja mediada por *Agrobacterium*, reprimindo a germinação e o crescimento e induzindo reações de defesa. Os níveis de GA dos genótipos considerados de alta eficiência foram maiores do que os dos genótipos de baixa eficiência, enquanto que o ABA mostrou a resposta oposta, o que sugere que o material de reserva dos genótipos de alta eficiência é degradado de forma mais rápida para garantir energia e nutrientes ao crescimento e diferenciação do nó cotiledonar.

O ABA e as enzimas protetoras PPO e POD tem envolvimento nas respostas ao ataque de patógenos e ferimentos, portanto, o maior acúmulo dessas enzimas nos

genótipos de baixa eficiência indica intensas reações de defesa. PPO e POD são capazes de oxidar polifenóis em quinonas (compostos antimicrobianos), que apresentam alta toxicidade à *Agrobacterium*, causando escurecimento do tecido e morte celular parcial com objetivo de evitar a infecção causada pela bactéria. Por isso torna-se interessante a utilização de antioxidantes na composição dos meios (Jia *et al.*, 2015).

Além dos fatores bioquímicos apresentados, a execução das etapas de transformação também devem ser levadas em consideração, já que, por se tratar de um processo manual, dificilmente as condições são exatamente replicadas em dias diferentes, além de que isso também varia de acordo com a experiência dos operadores.

Uma cultivar que apresenta uma tecnologia específica (como a tolerância à seca) só terá real valor se sua base genética apresentar potencial produtivo maior ou semelhante às demais cultivares lançadas no mercado de uma região. Além disso, a transformação direta de uma cultivar elite proporciona que etapas de retrocruzamento, necessárias para resgatar características agronômicas desejáveis, sejam puladas, assim reduzindo o tempo de obtenção e evitando o efeito de arrasto genético (*linkage drag*) que ocorre em cruzamentos tradicionais (Gao *et al.*, 2025; Hao *et al.*, 2020). A linhagem 1Ea2939 foi obtida pela inserção do fator de transcrição *AtAREB1* na cultivar de soja BR 16. Esse processo de transgenia resultou em plantas tolerantes ao déficit hídrico, com redução nas perdas de produtividade quando submetidas à seca. Apesar dos efeitos positivos observados, a cultivar BR 16 é uma cultivar antiga e não adequada ao atual mercado nacional, apresentando características inferiores, como menor produtividade e menor resistência a doenças, em relação a cultivares elite, a exemplo da cultivar BRS 573, que também apresenta boa resposta à transformação via *Agrobacterium tumefaciens* (Embrapa, 1994; 2025). Logo, a atualização do *background* genético da linhagem 1Ea2939 para uma cultivar elite como a BRS 573 se torna interessante, principalmente tendo em vista a obsolescência da cultivar BR 16 no atual contexto da produção nacional, de modo que a introdução do gene de tolerância à seca não deve sacrificar o teto produtivo alcançado pelo melhoramento clássico.

As próximas etapas da pesquisa envolverão o avanço de geração para obtenção de linhagens homozigotas e, em seguida, a avaliação das plantas dos três genótipos obtidos em condições controladas de indução de déficit hídrico em casa de vegetação, para verificar se a ação dos genes superexpressos será suficiente para ativar a via resposta ao estresse osmótico mediada pelo ABA e se esta indução será suficiente para ocasionar tolerância a esse tipo de estresse. Para isso, torna-se imprescindível a avaliação da

expressão gênica dos alvos superexpressos e outros regulados pelo gene *Areb1* associados à manutenção do vigor vegetal sob condições de baixa disponibilidade hídrica. Com os dados coletados será possível traçar um paralelo comparativo entre as respostas obtidas com a superexpressão do fator de transcrição *AtAreb1* no material antigo e na cultivar elite BRS 573 e, da mesma forma, as respostas apresentadas com o aumento na expressão dos ortólogos desse gene presentes na soja, Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400. Além dos efeitos esperados, também é importante avaliar outras respostas metabólicas que possam interferir nesse processo, sejam elas benéficas ou prejudiciais, para que seja possível determinar se as tecnologias em questão terão ou não potencial de aplicabilidade em lavouras comerciais.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho obteve sucesso na geração de linhagens de soja da cultivar elite BRS 573 contendo o fator de transcrição *AtAREB1* e seus ortólogos em soja (Glyma.04G039300 e Glyma.06G040400), com eficiências compatíveis com a literatura. Estudos futuros de caracterização dessas linhagens sob condições de déficit hídrico possibilitarão a definição de estratégias que visem alterar a expressão desses genes por meio de edição gênica via CRISPR/Cas.

CAPÍTULO 2. APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABCÍISICO EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS

7. INTRODUÇÃO

Entre os hormônios vegetais associados à adaptação das plantas a distintas condições de estresse, o Ácido Abscísico (ABA) possui uma das respostas mais imediatas (Taiz; Zeiger, 2004). O acúmulo de ABA nas folhas leva ao fechamento estomático, processo que evita a cavitação, além de reduzir a perda de água para a atmosfera ocasionada pela transpiração (Netting, 2000; Taiz *et al.*, 2017). O ABA atua na sinalização entre a zona radicular e a parte aérea das plantas, proporcionando o fechamento dos estômatos antes que haja variações bruscas no potencial hídrico (Ψ) das folhas (Davies *et al.*, 2010). O fechamento estomático proporcionado pelo ABA é mediado pela regulação do conteúdo de íons K^+ das células-guarda, além de íons Cl^- e de alguns ácidos orgânicos na membrana plasmática e tonoplasto destas células (Müller-Röber *et al.*, 1998). Nas raízes, o acúmulo de ABA restringe a síntese de etileno, que pode reduzir a expansão radicular sob desidratação (Spollen *et al.*, 2000).

Além do estresse osmótico (hídrico ou por salinidade) o ABA também pode atuar na remediação de outras condições, como estresse pelo frio e altas temperaturas. Em ambos os casos, uma extensa rede de transdução desencadeada pelo acúmulo de ABA proporciona, por meio de diferentes vias, a regulação na expressão de genes envolvidos na modulação de estresses abióticos, o aumento da síntese de determinadas enzimas e na assimilação de alguns elementos, fatores que resultam em alterações fisiológicas capazes de aumentar a tolerância da planta ao estresse (Cutler *et al.*, 2010; Taiz *et al.*, 2017; Umezawa *et al.*, 2010).

Quanto ao desenvolvimento radicular, o ABA tem efeitos negativos e positivos no desenvolvimento das raízes primárias, a depender da concentração, condições ambientais e espécie. De forma geral, níveis elevados de ABA inibem a formação radicular, enquanto que baixas concentrações estimulam esse processo. Baixos níveis de ABA mantêm a atividade do centro quiescente, aumentando a atividade das células-tronco e suprimindo a diferenciação destas no meristema radicular, além disso, modulam positivamente a sinalização e o transporte de auxina, o que estimula o crescimento radicular, enquanto que altos níveis desse fitormônio possuem efeito inverso (Ali *et al.*, 2020).

Estudos evidenciam os efeitos benéficos da aplicação de ABA exógeno em soja. A aplicação do fitormônio por via radicular aumentou os níveis de ABA nas folhas, resultando em redução da condutância estomática, manutenção do conteúdo relativo de água e maior estabilidade fotossintética e relações hídricas foliares durante períodos de déficit hídrico (He *et al.*, 2019). Além disso, a pulverização de ABA aumentou a produtividade e qualidade da soja ao melhorar a alocação e a distribuição de carbono para as sementes, com o aumento da concentração de óleo sem alteração dos níveis de proteína (Travaglia *et al.*, 2009).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da aplicação exógena de ABA sobre as respostas fisiológicas e agronômicas de dois genótipos de soja (tolerante e sensível à seca), submetidos ao déficit hídrico em diferentes estádios do período reprodutivo. A compreensão desses efeitos contribui para elucidar o papel do ABA na modulação da tolerância à seca e para subsidiar estratégias de manejo fisiológico e melhoramento genético da cultura da soja.

8. MATERIAL E MÉTODOS

8.1. CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Para este, foram empregados dois genótipos de soja, a cultivar BR 16, suscetível ao déficit hídrico, e a linhagem transgênica 1EA2939, tolerante ao déficit hídrico, obtida através da introdução do gene *AtAREB1* à cultivar BR 16 (Marinho *et al.*, 2015). As sementes das plantas tolerantes (1Ea2939) e suscetíveis (BR 16) à seca foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e, em seguida, semeadas em vasos plásticos drenáveis de 8 L com substrato composto por terra e areia (proporção 1:1). As aplicações de ABA foram realizadas em dois estádios distintos, floração (R1) e enchimento de grãos (R5) (Fehr; Caviness, 1977). Anteriormente às aplicações, os vasos foram saturados com água. Após o excesso de água escoar, o ácido abscísico foi aplicado diretamente ao substrato em volume de 200 mL. Para avaliar o efeito do ABA sob déficit hídrico, a irrigação foi suspensa nas plantas correspondentes ao tratamento de déficit hídrico, enquanto que as plantas controle continuaram a receber irrigação.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 2x4, dois níveis de irrigação (controle e déficit hídrico), submetidos a quatro níveis de ABA (0, 50, 100, 200 μM). Cada genótipo (tolerante e sensível ao déficit hídrico) foi avaliado independentemente. Foram utilizados seis blocos/repetições, no qual uma planta por vaso foi considerado como uma unidade experimental.

Após as aplicações, os vasos foram envoltos por sacos plásticos, amarrados com barbante e a abertura destes foi coberta por algodão hidrofílico, para minimizar a perda excessiva de água por evaporação. Ao atingirem o estado de déficit hídrico, as plantas foram reidratadas.

8.2. AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS

A variável utilizada para determinação do déficit hídrico foi a condutância estomática (GS), sendo consideradas sob estresse as plantas que apresentarem $\text{GS} < 0,2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Flexas *et al.*, 2004; Salinet *et al.* 2009). As medidas foram realizadas utilizando um analisador de fotossíntese do modelo LI-6400/XT (LI-COR®) no período das 9-11 h, sendo também avaliados os valores de fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) dessas

plantas. Para isso, o aparelho foi previamente calibrado para os seguintes valores: radiação fotossinteticamente ativa dentro da câmara (PARIn) de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; referência de CO_2 , $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$; referência H_2O de 20 mmol mol^{-1} ; e fluxo de ar de $400 \mu\text{mol s}^{-1}$.

As variáveis agronômicas avaliadas ao fim do ciclo foram: altura de planta, número de ramos, número de nós no caule, número de nós nos ramos, número de vagens no caule, número de vagens nos ramos, total de vagens, peso das vagens, número de grãos, peso dos grãos e peso de mil sementes (PMS).

8.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as variáveis foram submetidas aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk), homogeneidade de variâncias (Bartlett) e independência das observações (Durbin-Watson). Após a validação dos pressupostos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas pelo *software* RStudio (versão 4.5.2), utilizando o pacote AgroR (versão 1.3.5).

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

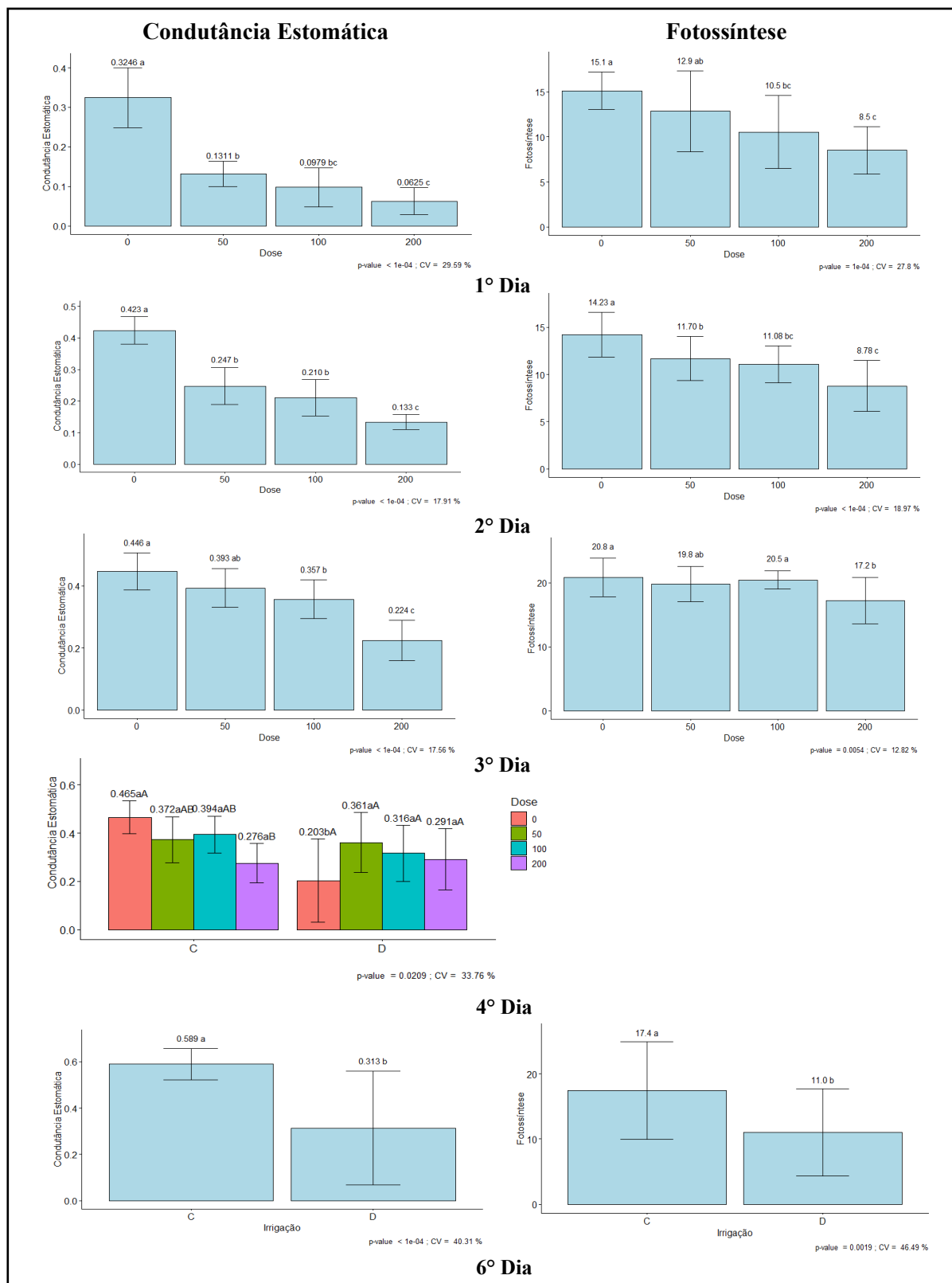
A aplicação exógena de ABA promoveu alterações significativas na condutância estomática (GS) e na fotossíntese, com respostas dependentes da dose, do genótipo, do regime hídrico e do estágio de desenvolvimento.

Nas plantas da cultivar BR 16, a aplicação de ABA em R1 (Figura 5) resultou em redução acentuada da GS e da fotossíntese no primeiro e segundo dias após a aplicação, especialmente na dose de 200 μ M, independentemente do regime hídrico. Esse efeito é consistente com o papel clássico do ABA na indução do fechamento estomático, reduzindo a perda de água por transpiração, mas também limitando a assimilação de CO₂ (Taiz *et al.*, 2017).

A partir do terceiro dia após a aplicação, os valores de GS e fotossíntese estabilizaram e as diferenças entre doses foram gradualmente reduzidas, indicando que o efeito do ABA exógeno foi transitório. Somente a dose de 200 μ M apresentou diferença estatística das demais para os dois fatores avaliados. Ao quarto dia, somente as plantas da dose 0 não irrigadas apresentaram uma redução na condutância estomática quando comparadas ao tratamento com irrigação. A menor redução da GS nos tratamentos de dose 50 e 100 μ M foi um efeito positivo, ao contrário do que foi visto nas plantas da dose de 200 μ M irrigadas, que continuaram com condutância relativamente menor que as demais. Além disso, as médias de fotossíntese não apresentaram diferença estatística alguma.

Ao quinto dia pós aplicações, as plantas não apresentaram diferença estatística entre tratamentos, muito provavelmente devido à total absorção e/ou degradação do ácido abscísico restante no substrato. No sexto dia, a principal diferença observada ocorreu entre os regimes hídrico irrigado e não irrigado, sugerindo que o estresse hídrico passou a ser o fator predominante na regulação das respostas fisiológicas. Esses resultados indicam que o ABA aplicado via substrato é rapidamente absorvido e/ou degradado, concordando com observações de He *et al.* (2019) sobre o efeito transitório do hormônio.

Figura 5. Efeito da aplicação de ABA (μM) sobre a condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estágio R1 na cultivar de soja BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$). Letras diferentes indicam significância entre tratamentos (Letras minúsculas: dose, letras maiúsculas: regime hídrico, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.

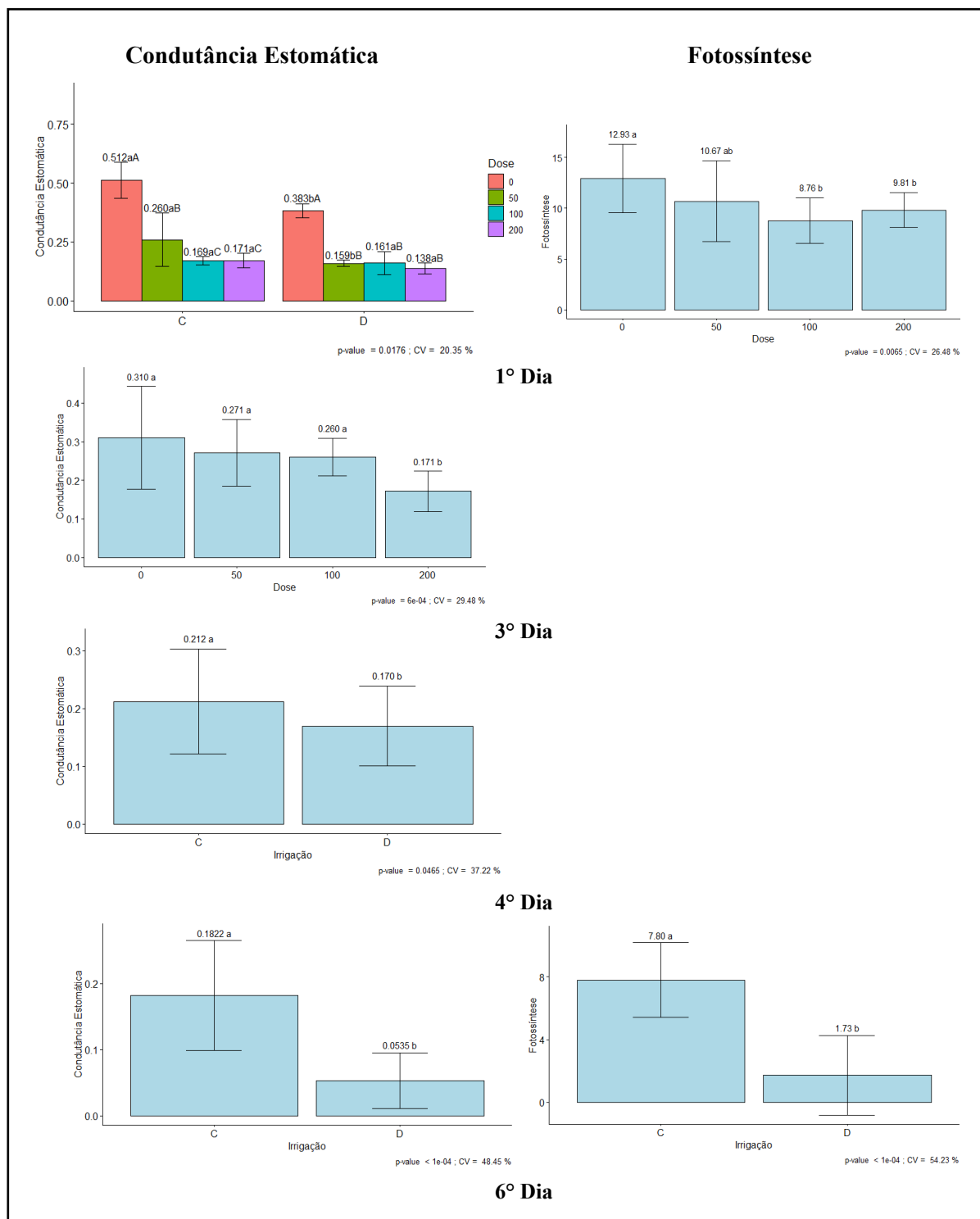
Na linhagem tolerante à seca 1Ea2939, as respostas à aplicação de ABA foram mais sutis, com diferença nas médias de GS tanto para o fator dose, quanto para o fator irrigação, um dia após as aplicações em R1 (Figura 6). Primeiramente, as plantas das doses 0 e 50 μM sem irrigação apresentaram menor GS que as irrigadas. Além disso, dentro do tratamento irrigado, as plantas da dose 50 μM demonstraram condutância estomática menor que o controle sem aplicação de ABA, enquanto os valores de GS das plantas das doses 100 e 200 μM foram significativamente menores que os da dose 50 μM , mas estatisticamente semelhantes entre si. Quanto as plantas não irrigadas, todas as demais doses apresentaram GS reduzidas em comparação com a dose 0, não apresentando diferença significativa entre si.

Ao terceiro dia pós aplicações, as médias se estabilizaram e somente as plantas da dose 200 μM demonstraram menor GS. No quarto dia em diante, de forma semelhante à cultivar BR 16, as doses de ABA deixaram de apresentar resposta quanto à GS das plantas, sendo verificada diferença estatística somente entre os tratamentos com e sem irrigação. Essa diferença foi ressaltada no sexto dia pós aplicações, com as plantas não irrigadas obtendo menores valores de GS em comparação às irrigadas.

Embora tenha sido observada redução inicial da GS, principalmente nas doses mais elevadas, a fotossíntese não foi significativamente afetada na maioria das avaliações, diferentemente do observado para a cultivar BR 16. No primeiro dia após as aplicações, a fotossíntese das plantas apresentou redução nas doses 100 e 200 μM , e assim como foi observado com a cultivar suscetível, não houve diferença entre regimes de irrigação.

Nos demais dias em que foram realizadas as avaliações fisiológicas, a fotossíntese foi estatisticamente similar tanto entre doses, como nos dois regimes hídricos, voltando a apresentar uma diferença significativa entre as plantas irrigadas e não irrigadas somente no sexto dia pós aplicações. Tais respostas podem indicar que, apesar de apresentarem respostas aproximadas às da cultivar BR 16 quanto aos valores de GS, a linhagem com introdução do gene *Areb1* não apresenta reduções significativas na fotossíntese quando submetidas a aplicação do ácido abscísico exógeno. Essa estabilidade fisiológica sugere que a ativação constitutiva da via mediada por AREB1 promove um ajuste mais eficiente entre economia de água e manutenção da assimilação de carbono, conferindo maior resiliência metabólica sob estresse hídrico (Marinho *et al.*, 2015).

Figura 6. Efeito da aplicação de ABA (μM) sobre a condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estágio R1 na linhagem de soja 1Ea2939 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$). Letras diferentes indicam significância entre tratamentos (Letras minúsculas: dose, letras maiúsculas: regime hídrico, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.

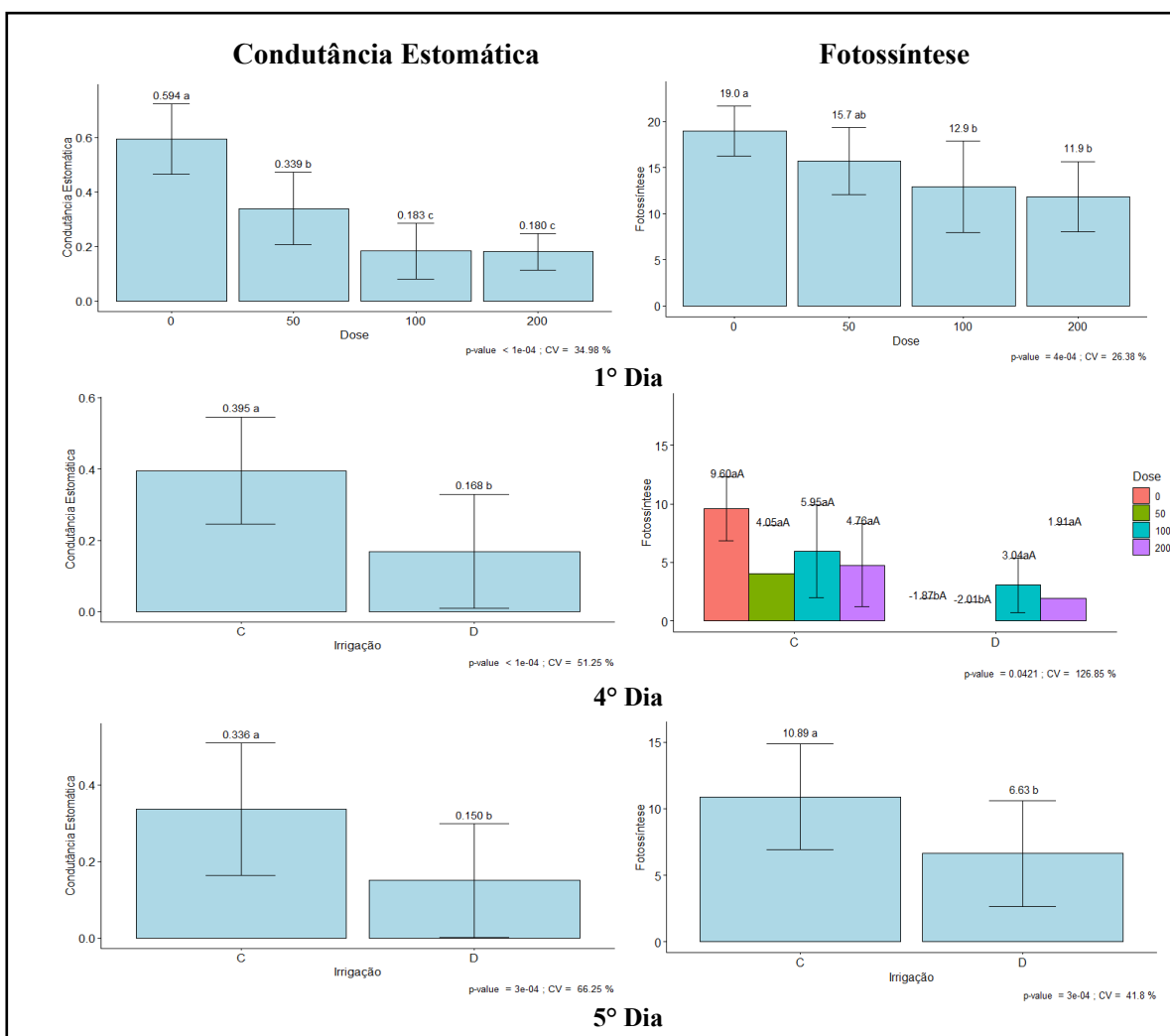
No estágio R5 (Figura 7), as plantas da cultivar BR 16 apresentaram um efeito muito próximo ao observado um dia após a aplicação em R1, tanto para condutância estomática, quanto para os valores de fotossíntese. Apesar de que o efeito inicial da aplicação tenha sido compatível entre os dois estádios de desenvolvimento, ao contrário do que foi notado em R1, as plantas em R5 não apresentaram diferenças estatísticas entre doses de ABA e regimes hídricos no segundo e terceiro dias após a aplicação.

A partir do quarto dia após a aplicação, foram observados maiores valores de GS nas plantas irrigadas, sem efeito das diferentes doses de ABA, padrão que se manteve no quinto dia. Em relação à fotossíntese, as plantas tratadas com 0 e 50 μM de ABA exibiram médias significativamente maiores quando irrigadas, enquanto que as demais doses não demonstraram diferença entre os dois regimes hídricos, o que demonstra que as doses de 100 μM e 200 μM foram capazes de manter a fotossíntese constante na condição de estresse. No quinto dia pós aplicação, os maiores valores de fotossíntese foram observados na condição controle e os efeitos de doses não foram observados. Em conjunto, esses resultados demonstram que, no estágio R5, a aplicação de ABA exerce efeito modulador de curta duração, sendo a disponibilidade hídrica o principal fator determinante da resposta fisiológica das plantas.

Na fase R5, há um alto direcionamento do fluxo de carbono para as vagens. Alterações na relação fonte–dreno podem aumentar o conteúdo de ABA foliar, fechando os estômatos, porém, a planta é capaz de regular o metabolismo para reestabelecer o direcionamento de fotoassimilados para o desenvolvimento dos grãos (Castro *et al.*, 2019; Setter *et al.*, 1980). Esse ajuste pode explicar por que o efeito regulador do ABA é momentâneo e, após poucos dias, GS e fotossíntese passam a responder somente ao regime hídrico. A redução da sensibilidade estomática ao ABA também pode ter sido proporcionada pelo aumento do ABA endógeno, desencadeado pelo déficit hídrico, por conta da ativação de vias de etileno e outros sinais (Antonietta *et al.*, 2023; Castro-Valdecantos *et al.*, 2023; Pa *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2023).

Em soja sob estresse por baixas temperaturas, por exemplo, os níveis de etileno tornaram os estômatos pouco responsivos ao ABA exógeno (Antonietta *et al.*, 2023). Uma resposta semelhante pode ter ocorrido em R5, assim, a maior demanda de carbono para as vagens, em conjunto com o acúmulo de ABA endógeno e outros reguladores, pode ter limitado a amplitude de resposta ao ABA exógeno.

entre tratamentos (Letras minúsculas: dose, letras maiúsculas: regime hídrico, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.

Em contraste com os resultados obtidos para a cultivar BR 16, a linhagem transgênica 1Ea2939 apresentou, no estágio R5, valores de GS e fotossíntese excepcionalmente baixos, não havendo significância estatística para doses e regimes de irrigação em nenhum dos dias avaliados (Quadro 1). O fator que pode ter promovido esse comportamento atípico, pode ser devido às condições ambientais durante essa etapa do experimento, uma vez que ocorreu um aumento das temperaturas com a onda de ar quente que atingiu a região de Londrina durante o período da última etapa das avaliações fisiológicas do experimento. As médias de temperatura foliar nas demais avaliações se

encontravam em torno de $29\pm 1^{\circ}\text{C}$, enquanto que, para a linhagem 1Ea2939 em R5, a média da temperatura foliar foi de 35°C . Por conta da diferença de ciclo entre as cultivares convencional e transgênica (em torno de um mês), as plantas BR 16 não foram atingidas pelo estresse térmico na mesma intensidade entre os períodos de aplicação e avaliações, sendo que estes foram realizados entre os dias 07 e 11 de novembro para BR 16 e entre 05 e 09 de dezembro para 1Ea2939. Ao contrário da cultivar suscetível à seca, mesmo sob estresse, as plantas tolerantes não apresentaram murcha foliar em nenhum dos tratamentos aplicados, indicando manutenção do estado hídrico mesmo sob elevada temperatura.

Quadro 1. Efeito da aplicação de ABA sobre a condutância estomática (GS: $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estágio R5 na linhagem de soja 1Ea2939 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico).

1º Dia				4º Dia			
Dose	Irrigação	GS	Fotossíntese	Dose	Irrigação	GS	Fotossíntese
0 μM	C	0,025	4,870	0 μM	C	0,156	10,897
50 μM	C	0,033	2,763	50 μM	C	0,130	8,370
100 μM	C	0,023	0,399	100 μM	C	0,114	6,508
200 μM	C	0,008	1,061	200 μM	C	0,100	6,962
0 μM	D	0,059	7,070	0 μM	D	0,171	9,135
50 μM	D	0,028	3,164	50 μM	D	0,127	7,745
100 μM	D	0,024	1,595	100 μM	D	0,113	9,969
200 μM	D	0,015	0,610	200 μM	D	0,156	8,258
2º Dia				5º Dia			
Dose	Irrigação	GS	Fotossíntese	Dose	Irrigação	GS	Fotossíntese
0 μM	C	0,068	13,691	0 μM	C	0,1067	4,1600
50 μM	C	0,055	13,127	50 μM	C	0,1096	3,6738
100 μM	C	0,035	10,909	100 μM	C	0,1206	6,1126
200 μM	C	0,043	10,067	200 μM	C	0,0825	3,9726
0 μM	D	0,044	11,714	0 μM	D	0,1610	6,2794
50 μM	D	0,047	12,151	50 μM	D	0,0816	4,1228
100 μM	D	0,053	10,799	100 μM	D	0,0667	4,6335
200 μM	D	0,064	12,891	200 μM	D	0,1580	5,1408

A aplicação exógena de ABA em plantas que já superexpressam fatores de transcrição AREB/ABF pode acabar potencializando a resposta de defesa. De acordo com Fujita et al. (2005), os fatores de transcrição *Areb1* requerem uma modificação pós-traducional (fosforilação) mediada por quinases da família SnRK2, as quais são ativadas pela presença de ABA. Portanto, a aplicação externa do fitormônio não apenas sinaliza o

estresse, mas garante que as proteínas AREB1 produzidas pelas plantas transgênicas sejam efetivamente ativadas para se ligarem aos elementos ABRE nos promotores de genes de proteção, como as proteínas LEA e desidrinas.

Outro padrão observado foi a progressiva redução da resposta às doses de ABA a partir do terceiro dia pós aplicações, tornando-se nula para todos os tratamentos a partir do quinto dia pós aplicações. O ácido abscísico é um fitormônio extremamente sensível à radiação UV, que reduz consideravelmente sua disponibilidade e eficiência. De modo geral, são necessários apenas 24 minutos de exposição à radiação solar para a total inativação da molécula (Cao *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2016). Não foram encontrados estudos que apontem que a aplicação de ABA via substrato seja mais efetiva que a pulverização do hormônio nas folhas da soja, porém, por conta da rápida fotodegradação da molécula, essa possibilidade não deve ser descartada. Trabalhos como o de Travaglia *et al.* (2009), no qual as aplicações foliares de ABA foram realizadas ao entardecer com o objetivo de evitar a degradação desse produto, fortalecem a hipótese citada. Todavia, mesmo que isso seja realidade, a provável atenuação do processo degradativo do ABA pode não ser suficiente em longos períodos e este pode ter sido o motivo das perdas de resposta às doses aplicadas.

Estratégias para aumentar a fotoestabilidade do ABA têm sido estudadas. Os resultados obtidos por Gao *et al.* (2016), indicaram uma melhora significativa na fotoestabilidade do ABA pela aplicação de absorvedores de UV. As concentrações de trans-ABA e, especialmente, as razões trans-ABA/ABA na solução de ABA em metanol após 8 min de irradiação foram significativamente reduzidas pela adição dos absorvedores de BP-4 (Benzofenona-4) e UV-531 (Benzofenona-12). A aplicação combinada de ABA a 280 mg/l e BP-4 a 200 mg/l em solução aquosa manteve 68% de ABA efetivo após 2 h de irradiação UV, 56% após 4 h e 44% após 8 h. O teor de ABA após 8 h de irradiação UV com a adição de BP-4 foi 1,3 vezes maior do que com o ABA isolado. No estudo de Cao *et al.* (2013), o nanoencapsulamento de ABA em partículas de lignina alcalina (AL), em conjunto com o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) apresentou melhor comportamento de liberação controlada, maior desempenho antifotólise e maior estabilidade térmica do que a molécula desprotegida. Sem proteção, o ABA degradou-se rapidamente sob irradiação, e cerca de 80% do ABA foi convertido em 5 h. Em contraste, o ABA nanoencapsulado foi significativamente mais estável sob irradiação UV, e mais de 75% do ABA pôde ser retido após 60 h de irradiação.

A cultivar BR 16 sob aplicação de ABA no estágio R1 (Quadro 2) não apresentou diferença estatística em nenhum dos parâmetros agrônômicos avaliados, tanto em resposta às doses, como entre as duas condições hídricas. Esse resultado indica que, apesar do breve efeito sob os parâmetros fisiológicos de GS e fotossíntese, a aplicação de ABA em R1 não foi suficiente para reduzir as perdas de produtividade.

A ausência de efeito sobre a produtividade sugere que o estágio R1 não representa um período crítico para a modulação hormonal com vistas à mitigação de perdas causadas pelo déficit hídrico, uma vez que as plantas apresentam maior plasticidade fisiológica nessa fase inicial do período reprodutivo. Durante os estádios reprodutivos iniciais, a planta produz uma alta quantidade de flores e legumes, o que possibilita a compensação de potenciais perdas de produtividade causadas pelo abortamento dessas estruturas via emissão de novas flores e/ou redistribuição de assimilados. Nessas fases, o ABA atua principalmente na sinalização de estresse, limitando o desenvolvimento sem que haja impacto na produtividade se não houver uma situação de estresse suficientemente limitante (He *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2022; Mo *et al.*, 2022). A aplicação de ABA exógeno em soja durante o período vegetativo melhorou o ajuste osmótico e a eficiência de uso de água, mas sem efeito em número de flores, aborto floral, número de sementes ou rendimento em diferentes condições de irrigação (He *et al.*, 2019). Isso sugere que, em determinadas fases/condições, o ABA é capaz de afetar características fisiológicas, o que pode não refletir no balanço final do rendimento.

Em R5, a demanda de assimilados pelos grãos é máxima, sendo que a cultura apresenta menor capacidade de compensação de perdas nesse estágio. O trabalho de Cerrudo *et al.* (2025) indica que o período crítico para a determinação da produtividade abrange os estádios R4 a R7, com pico de sensibilidade em torno de R5.5. A maior sensibilidade ao número de grãos foi mostrada de R3 a R6, enquanto que as maiores reduções nos valores de peso dos grãos ocorreram de R5 a R7. O mesmo trabalho ainda apontou que a maior compensação de produtividade ocorre até o estágio R4. Tais fatos indicam que estratégias que preservem a fotossíntese e o fornecimento de assimilados nessa fase tendem a resultar em menores perdas de produtividade. Como já descrito para soja e outras culturas, o ABA exógeno provavelmente atenuou os efeitos do estresse ao preservar a área foliar funcional, melhorar o estado hídrico, reduzir a peroxidação lipídica, estabilizar o estado redox e favorecer o enchimento de grãos através do maior direcionamento de carboidratos para as sementes (Collin *et al.*, 2025; He, *et al.*, 2019; Hong-Tao *et al.*, 2023; Jiang *et al.*, 2022; Travaglia *et al.*, 2009; Xiang *et al.*, 2024).

Dessa forma, enquanto que em R1 a alta capacidade de compensação dilui o efeito do ABA sobre a produtividade, em R5 a aplicação do hormônio atua sobre uma janela crítica de baixa compensação e alta dependência de assimilados, reduzindo as perdas de rendimento. Além disso, o caráter transitório das respostas fisiológicas ao ABA, associado à rápida degradação do hormônio, provavelmente limitou a duração do efeito protetor, impedindo que os ajustes fisiológicos observados se refletissem em benefícios agronômicos de longo prazo.

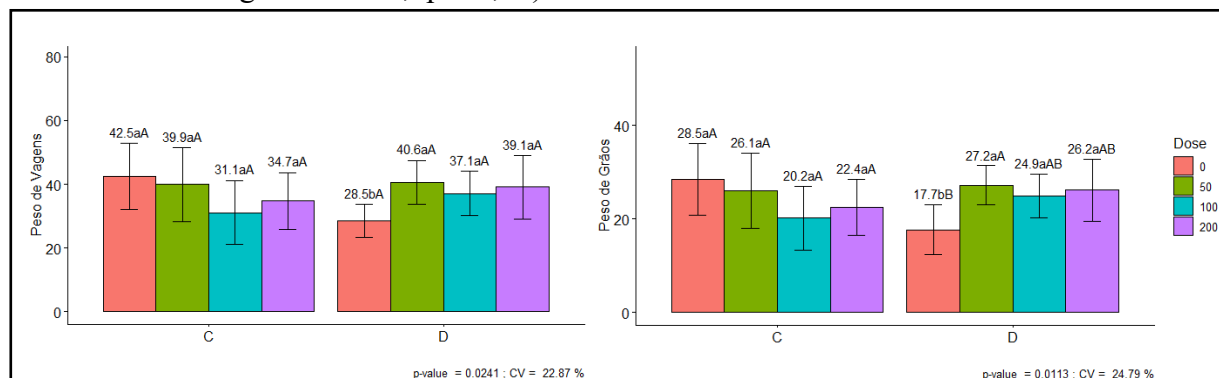
Quadro 2. Parâmetros agronômicos pós aplicação de ABA no estágio R1 em plantas de soja da cultivar BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico).

Dose	Irrigação	Altura (m)	Nº de Ramos	Nós no caule	Nós nos Ramos	Vagens no Caule	Vagens nos Ramos	Total de Vagens	Peso das Vagens (g)	Nº de Grãos	Peso dos Grãos (g)	PMS (g)
0 µM	C	1,01	9	15	48	9	58	70	35,04	146	23,36	153,84
50 µM	C	1,02	9	15	48	13	67	80	43,43	176	28,27	169,62
100 µM	C	1,10	10	14	59	14	91	104	49,76	199	31,06	152,63
200 µM	C	1,13	9	15	43	14	64	79	42,69	174	27,44	157,04
0 µM	D	1,01	10	15	51	11	76	87	42,98	194	28,63	148,06
50 µM	D	1	8	16	40	10	59	72	38,46	149	24,98	157,65
100 µM	D	1,03	9	15	46	10	69	81	44,16	167	27,85	166,84
200 µM	D	1,09	9	15	50	12	85	99	49,18	203	31,41	157,46

PMS: Peso de mil sementes.

Em contraste com o tratamento controle sem aplicação de ABA, que apresentou reduções significativas no peso de vagens e grãos, na condição de déficit hídrico, todas as doses de ABA aplicadas em R5 na cultivar BR 16 foram capazes de manter esses parâmetros em níveis similares aos observados no tratamento irrigado, o que indica que a aplicação de ABA no estágio R5 foi eficiente para mitigar os efeitos negativos do déficit hídrico sobre o enchimento dos grãos e capaz de reduzir as perdas de produtividade em soja (Figura 8). O estágio R5 representa um período de elevada demanda por fotoassimilados, no qual pequenas alterações na disponibilidade hídrica podem resultar em perdas significativas de rendimento. A manutenção do peso de vagens e de grãos sob déficit hídrico sugere que o ABA atuou como modulador fisiológico, promovendo maior eficiência no uso da água e preservação da atividade metabólica durante uma fase crítica para a definição da produtividade. Além disso, os demais parâmetros agronômicos avaliados não demonstraram diferença estatística significativa (Quadro 3).

Figura 8. Efeito da aplicação de ABA (μM) sobre peso de vagens e de grãos no estádio R5 na cultivar de soja BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$). Letras diferentes indicam significância entre tratamentos (Letras minúsculas: dose, letras maiúsculas: regime hídrico, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.

Quadro 3. Parâmetros agrônômicos pós aplicação de ABA no estádio R5 em plantas de soja da cultivar BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico).

Dose	Irrigação	Altura (m)	Nº de Ramos	Nós no caule	Nós nos Ramos	Vagens no Caule	Vagens nos Ramos	Total de Vagens	Nº de Grãos	PMS (g)
0 μM	C	1,27	7	16	28	27	58	87	186	145,70
50 μM	C	1,37	6	15	29	23	46	67	137	136,23
100 μM	C	1,32	6	16	31	24	57	78	171	151,69
200 μM	C	1,32	7	17	30	20	59	75	164	161,15
0 μM	D	1,37	6	16	36	23	52	77	157	137,75
50 μM	D	1,43	7	17	33	21	64	85	182	150,92
100 μM	D	1,31	6	17	30	19	51	68	153	140,29
200 μM	D	1,55	6	15	28	30	49	80	172	160,70

PMS: Peso de mil sementes.

A linhagem 1Ea2939 não apresentou diferença estatística significativa em resposta às doses de ABA e aos regimes de irrigação para nenhum dos parâmetros agrônômicos avaliados, tanto para as aplicações realizadas em R1 (Quadro 4), quanto para os tratamentos aplicados no estádio R5 (Quadro 5). A ausência de resposta ao déficit hídrico esta em conformidade com o que é apresentado na literatura, já que genótipos com introdução de *AtAREBI*, incluindo a linhagem 1Ea2939, mostram maior sobrevivência e melhor desempenho fisiológico sob seca, apresentando menor transpiração diária e melhor equilíbrio na manutenção do teor relativo de água, sem que haja perdas de

rendimento em relação a linhagens convencionais. Em campo, transgênicos de soja *AtAREB1* exibiram maior uso intrínseco de água, maior índice de área foliar e manutenção de rendimento e qualidade de grãos que os materiais convencionais quando não houve irrigação (Barbosa *et al.*, 2013; Caranhato *et al.*, 2022; Fuganti-Pagliarini *et al.*, 2017; Fuhrmann-Aoyagi *et al.*, 2021; Marinho *et al.*, 2015).

Quadro 4. Parâmetros agronômicos pós aplicação exógena de ABA no estágio R1 em plantas de soja da linhagem 1Ea2939 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico).

Dose	Irrigação	Altura (m)	Nº de Ramos	Nós no caule	Nós nos Ramos	Vagens no Caule	Vagens nos Ramos	Total de Vagens	Peso das Vagens (g)	Nº de Grãos	Peso dos Grãos (g)	PMS (g)
0 µM	C	1,09	10	20	51	14	47	67	38,59	142	25,18	177,30
50 µM	C	1,09	9	19	54	8	44	57	35,51	130	23,73	183,64
100 µM	C	1,04	10	18	57	10	58	71	40,80	150	26,94	178,62
200 µM	C	1,07	9	20	43	10	41	55	33,44	126	22,45	172,36
0 µM	D	1,07	10	19	58	9	54	63	37,79	135	27,35	185,43
50 µM	D	1,00	9	18	50	12	50	68	39,10	154	26,51	175,52
100 µM	D	1,07	9	20	56	8	52	60	38,77	142	26,08	186,13
200	D	1,07	10	20	61	7	48	57	35,98	131	24,41	191,13

PMS: Peso de mil sementes.

Quadro 5. Parâmetros agronômicos pós aplicação exógena de ABA no estágio R5 em plantas de soja da linhagem 1Ea2939 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico).

Dose	Irrigação	Altura (m)	Nº de Ramos	Nós no caule	Nós nos Ramos	Vagens no Caule	Vagens nos Ramos	Total de Vagens	Peso das Vagens (g)	Nº de Grãos	Peso dos Grãos (g)	PMS (g)
0 µM	C	1,41	9	19	43	24,5	67	83	39,84	170	26,14 g	148,91
50 µM	C	1,45	6	19	36	18	36	53	30,17	132	21,00 g	167,95
100 µM	C	1,56	8	19	39	13,5	47	56	30,74	129	21,75g	172,32
200 µM	C	1,47	8	17	35	21	49	69	38,63	166	26,26 g	165,32
0 µM	D	1,58	8	19	36	16,5	41	54	28,96	115	20,15 g	169,73
50 µM	D	1,61	7	18	37	22	43	66	39,99	146	25,41 g	167,54
100 µM	D	1,57	7	18	37,5	14,5	40	55	27,73	115	20,04 g	176,04
200	D	1,46	8	19	44	19	53	81	41,23	170	28,44 g	167,73

PMS: Peso de mil sementes.

A ausência de diferença entre controle e déficit para os parâmetros agronômicos avaliados é compatível com a tolerância ao déficit hídrico descrita para a linhagem

1Ea2939, mas também pode indicar que a intensidade e/ou duração do estresse, combinadas aos mecanismos de evitação apresentados pelo genótipo, nivelaram a condição hídrica entre tratamentos ao longo do ciclo, reduzindo o contraste de produtividade.

10. CONCLUSÃO

A aplicação exógena de ácido abscísico (ABA) via substrato em plantas de soja induz respostas fisiológicas rápidas, caracterizadas pela redução da condutância estomática e pela modulação da taxa fotossintética. A intensidade e persistência dessas respostas são influenciadas pelo genótipo, pelo estágio fenológico e condições ambientais. A linhagem transgênica 1Ea2939 exibiu maior estabilidade fotossintética em comparação à cultivar BR 16 após aplicação de ABA. A aplicação de ABA no estágio R5 mostrou-se superior à aplicação em R1, sendo capaz de mitigar os danos causados pelo déficit hídrico e preservar o peso de vagens e grãos para a cultivar BR 16. A tolerância da linhagem 1Ea2939 atenuou os efeitos do déficit hídrico induzido, fazendo com que não houvesse redução na produtividade.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A futura validação dos eventos 8E, 8S e 8T, por meio de ensaios sob déficit hídrico associados à análise da expressão gênica, será fundamental para confirmar se a ativação da via de transdução do ABA confere a tolerância esperada nesses novos genótipos. Tais fornecerão subsídios para a definição de estratégias de engenharia genética via transgenia e edição gênica.

A aplicação exógena de ABA possui potencial como atenuador de estresse hídrico em soja, especialmente em fases críticas de definição de rendimento, sugerindo-se que estudos futuros explorem formulações que aumentem a fotoestabilidade da molécula para prolongar seu efeito protetor. As posteriores análises da expressão gênica e metabolômica das plantas avaliadas auxiliarão na compreensão dos efeitos fisiológicos e agrônômicos observados no presente trabalho.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE. **Estatísticas: Cadeia da soja**. Disponível: <https://abiove.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 15 nov. 2025.

ALI, S.; HAYAT, K.; IQBAL, A.; XIE, L. Implications of Absciscic Acid in the Drought Stress Tolerance of Plants. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1323, 4 set. 2020.

ANTONIETTA, M.; FELIPE, M.; ROTHWELL, S. A.; WILLIAMS, T. B.; SKILLETER, P.; ALBACETE, A.; BORRAS, L.; RUFINO, M. C.; DODD, I. C. Prolonged low temperature exposure de-sensitises ABA-induced stomatal closure in soybean, involving an ethylene-dependent process. **Plant, Cell & Environment**, v. 46, n. 7, p. 2128–2141, 17 jul. 2023.

BARBOSA, E. G. G.; LEITE, J. P.; MARIN, S. R. R.; MARINHO, J. P.; CARVALHO, J. F. C.; FUGANTI-PAGLIARINI, R.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; YAMAGUCHI SHINOZAKI, K.; NAKASHIMA, K.; MARUYAMA, K.; KANAMORI, N.; FUJITA, Y.; YOSHIDA, T.; NEPOMUCENO, A. L. Overexpression of the ABA-Dependent AREB1 Transcription Factor from Arabidopsis thaliana Improves Soybean Tolerance to Water Deficit. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 31, n. 3, p. 719–730, 21 jun. 2013.

BOSCHIERO, B. N. Subprodutos da soja: conheça os destinos e usos da soja brasileira. **Agroadvance**, 2023. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-subprodutos-da-soja/>. Acesso em: 02 nov. 2024.

BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5º, 6º, 7º, 8º, 9º, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 mar. 2005. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11105.htm. Acesso em 02 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Registro Nacional de Cultivares**. 2024. Disponível em: http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em: 01 nov. 2024.

BRASIL. Resolução Normativa Nº 16, de 15 de janeiro de 2018. Estabelece os requisitos técnicos para apresentação de consulta à CTNBio sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 jan. 2018. Disponível em: <https://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas/>

/asset_publisher/OgW431Rs9dQ6/content/resolucao-normativa-n%C2%BA-16-de-15-de-janeiro-de-2018.htm. Acesso em 02 nov. 2024.

CALVO, E. S.; KIIHL, R. A. S. Melhoramento genético: de onde partimos e para onde vamos. In: Pinheiro, B. J. & CÂMARA, G. M. S. (cor.). **A cadeia produtiva da soja**. 5. ed. Piracicaba: ESALQ, 2006. p. 50-53. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va05-melhoramento-genetico01.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2024.

CAO, M.; LIU, X.; ZHANG, Y.; XUE, ZHOU, E.; MELCHER, K.; GAO, P.; WANG, F.; ZENG, L.; ZHAO, Y.; ZHAO, Y.; DENG, P.; ZHONG, D.; ZHU, J. K.; XU, H. E.; XU, Y. An ABA-mimicking ligand that reduces water loss and promotes drought resistance in plants. **Cell Research**, v. 23, n. 8, p. 1043–1054, 9 ago. 2013.

CARANHATO, A. L. H.; ANGELOTTI-MENDONÇA, J.; MERTZ-HENNING, L. M.; MARIN, S. R. R.; MELO, C. L. P. de; FOLONI, J. S. S.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L. Drought tolerance of elite soybean cultivars with the introgression of transgene *AtAREB1*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.57, e02656, 2022.

CARTER-JÚNIOR, T. E.; NELSON, R. L.; SNELLER, C. H.; CUI, Z. Genetic Diversity in Soybean. In: SHIBLES, R. M.; Richard M. Shibles, James E. Harper, Richard F. Wilson, Randy C. (EDS.). **Soybeans: Improvement, Production, and Uses**. 3 ed. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, 2004. p. 303–416.

CASTRO, P.; PUERTOLAS, J.; DODD, I. C. Stem girdling uncouples soybean stomatal conductance from leaf water potential by enhancing leaf xylem ABA concentration. **Environmental and Experimental Botany**, v. 159, p. 149–156, mar. 2019.

CASTRO-VALDECANTOS, P.; PUÉRTOLAS, J.; DODD, I. C. Similar soil drying-induced stomatal closure in soybean genotypes varying in abscisic acid accumulation and stomatal sensitivity to abscisic acid. **Functional Plant Biology**, v. 51, n. 1, 19 abr. 2023.

CERRUDO, ANIBAL; NAEVE, SETH L. Redefining soybean critical period for yield determination. **Field Crops Research**, v. 321, p. 109662, fev. 2025.

COLLIN, A.; MATKOWSKI, H.; SYBILSKA, E.; BIAANTARI, A.; KRÓL, O.; DASZKOWSKA-GOLEC, A. ABA-induced alternative splicing drives transcriptomic reprogramming for drought tolerance in barley. **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 445, 8 abr. 2025.

CONAB. **Portal de Informações Agropecuárias: Soja**. Disponível: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/produtos-360.html>. Acesso em: 15 nov. 2025.

COSTA, A. R. **As relações hídricas das plantas vasculares**. Portugal: Ed. Universidade de Évora, 2001. 75 p. Disponível em: <https://issuu.com/alexandracosta61/docs/relhid2014>. Acesso em: 22 out. 2024.

COPERNICUS. **Climate Pulse**. Disponível em: <https://pulse.climate.copernicus.eu/>. Acesso em: 15 nov. 2025.

COPERNICUS. **Global Climate Highlights 2024**. Disponível em: <https://climate.copernicus.eu/global-climate-highlights-2024>. Acesso em: 15 nov. 2025.

CUTLER, S. R.; RODRIGUEZ, P. L.; FINKELSTEIN, R. R.; ABRAMS, S. R. Abscisic Acid: Emergence of a Core Signaling Network. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 651–679, 2 jun. 2010.

DAVIES, P. J. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. In: **Plant Hormones**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010. p. 1–15.

DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; XIE, F. Effect of Drought Stress at Reproductive Stages on Growth and Nitrogen Metabolism in Soybean. **Agronomy**, v. 10, n. 2, p. 302, 20 fev. 2020.

EMBRAPA. **Cultivares de soja BRS: Centro-Sul do Brasil: Macrorregiões 1, 2 e 3, REC's 401 e 402: safra 2025/2026**. 2025. Londrina. Folhetos. 64p. (Embrapa Soja, Catálogo, setembro/2025).

EMBRAPA. **Manual de transformação genética de plantas**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2015. v. 1, p. 453. ISBN 978-85-7035-452-5

EMBRAPA. **Programa de tecnologias para enfrentamento da seca na soja - TESS**. Londrina: Embrapa Soja (Comunicado Técnico, 106), 2023. 24 p. ISSN 2176-2899.
EMBRAPA. Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. 1994. Dourados. **Ata e resumos**. 205p. (Embrapa-CPAO. Documentos, 3).

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. n. 17 347 p. ISSN 2176-2902.

FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Soja. In: M., José E. B. A. (org.). **Agrometeorologia dos Cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília: Inmet, 2009. Cap. 15. p. 263-276.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12 p. (Iowa Cooperative Extensive Service. Special Report, 80).

FLEXAS, J. Drought-inhibition of Photosynthesis in C₃ Plants: Stomatal and Non-stomatal Limitations Revisited. **Annals of Botany**, v. 89, n. 2, p. 183–189, 1 fev. 2002.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and Metabolic Limitations to Photosynthesis under Drought and Salinity in C₃ Plants. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 269–279, 14 maio 2004.

FU, M.; CHEN, L.I.; CAI, Y.; SU, Q.; CHEN, Y.; HOU, W. CRISPR/Cas9-Mediated Mutagenesis of GmFAD2-1A and/or GmFAD2-1B to Create High-Oleic-Acid Soybean. **Agronomy**, v. 12, n. 12, p. 3218, 19 dez. 2022.

FUGANTI-PAGLIARINI, R.; FERREIRA, L. C.; RODRIGUES, F. A.; MOLINARI, H. B. C.; MARIN, S. R. R.; MOLINARI, M. D. C.; MARCOLINO-GOMES, J.; MERTZ-HENNING, L. M.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N.; NEUMAIER, N.; KANAMORI, N.; FUJITA, Y.; MIZOI, J.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NEPOMUCENO, A. L. Characterization of Soybean Genetically Modified for Drought Tolerance in Field Conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 11 abr. 2017.

FUHRMANN-AOYAGI, M. B.; RUAS, C. F.; BARBOSA, E. G. G.; BRAGA, P.; MORAES, L. A. C.; OLIVEIRA, A. C. B.; KANAMORI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NAKASHIMA, K.; NEPOMUCENO, A. L. Constitutive expression of *Arabidopsis* bZIP transcription factor *AREB1* activates cross-signaling responses in soybean under drought and flooding stresses. **Journal Of Plant Physiology**, v. 257, p. 153338, fev. 2021.

FUJITA, Y.; FUJITA, M.; SATOH, R.; MARUYAMA, K.; PARVEZ, M. M.; SEKI, M.; HIRATSU, K.; OHME-TAKAGI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. *AREB1* Is a Transcription Activator of Novel ABRE-Dependent ABA Signaling That Enhances Drought Stress Tolerance in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 17, n. 12, p. 3470-3488, 11 nov. 2005.

FUJITA, Y.; FUJITA, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. **Journal of Plant Research**, v. 124, n. 4, p. 509–525, 18 jul. 2011.

FUJITA, Y.; YOSHIDA, T.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Pivotal role of the *AREB/ABF-SnRK2* pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 147, n. 1, p. 15–27, 16 jan. 2013.

GAO, F.; HU, T.; TAN, W.; YU, C.; LI, Z.; ZHANG, L.; DUAN, L. Photoprotectant improves photostability and bioactivity of abscisic acid under UV radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 99–104, maio 2016.

GAO, L.; XIE, L.; XIAO, Y.; CHENG, X.; PU, R.; ZHANG, Z.; LIU, Y.; GAO, S.; ZHANG, Z.; QU, H.; ZHI, H.; LI, K. CRISPR/CasRx-mediated resistance to *Soybean mosaic virus* in soybean. **The Crop Journal**, v. 12, n. 4, p. 1093–1101, ago. 2024.

GAO, W.; YU, W.; LIN, J.; ZHAO, Z.; YIN, N.; LAI, J.; CHENG, Y.; HUANG, L.; LI, C.; CHEN, S.; WU1, W.; WU, S. Genomic sequencing combined with marker-assisted breeding effectively eliminates potential linkage drag of a target gene: a case study in tobacco. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, 24 set. 2025.

GRANT, B. Are soybean models ready for climate change food impact assessments? **European Journal Of Agronomy**, v. 135, p. 126482, abr. 2022.

- HAO, M. , ZHANG, L., NING, S.; HUANG, L.; YUAN, Z.; WU, B.; YAN, Z.; DAI, S.; JIANG, B.; ZHENG, Y.; LIU, D. The Resurgence of Introgression Breeding, as Exemplified in Wheat Improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 6 mar. 2020.
- HE, J.; JIN, Y.; PALTA, J. A.; LIU, H. Y.; CHEN, Z.; LI, F. M. Exogenous ABA Induces Osmotic Adjustment, Improves Leaf Water Relations and Water Use Efficiency, But Not Yield in Soybean under Water Stress. **Agronomy**, v. 9, n. 7, p. 395, 18 jul. 2019.
- HONG-TAO, X.; WAN, L.; JIA, L.; NING, H.; XUE-YANG, W.; BO, L.; HONG-CHANG, X.; DE-MING, W. Effect of Exogenous Absciscic Acid (ABA), a Potential Growth Regulator on Physiological Response to Chilling Stress of Adzuki Bean (*Vigna angularis*) at Flowering Stage. **LEGUME RESEARCH - AN INTERNATIONAL JOURNAL**, n. Of, 22 dez. 2023.
- IPCC, 2023. **Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland. p. 35-115, doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.
- JIA, Y.; YAO, X.; ZHAO, M.; ZHAO, Q.; DU, Y.; YU, C.; XIE, F. Comparison of Soybean Transformation Efficiency and Plant Factors Affecting Transformation during the Agrobacterium Infection Process. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 18522–18543, 7 ago. 2015.
- JIANG, Z.; ; ZHU, H.; ZHU, H.; TAO, Y.; LIU, C.; LIU, J.; YANG, F.; LI, M. Exogenous ABA Enhances the Antioxidant Defense System of Maize by Regulating the AsA-GSH Cycle under Drought Stress. **Sustainability**, v. 14, n. 5, p. 3071, 6 mar. 2022.
- KANAMORI, N.; MERTZ-HENNING, L. M.; MARIN, S. R. R.; SILVEIRA, C. A.; MARINHO, J. P.; NEPOMUCENO, A. L. **Metodologia para transformação de soja via *Agrobacterium tumefaciens***. Londrina: EMBRAPA (Circular Técnica, 128), 2017. 6 p. ISSN 2176-2864.
- KARAMI, S.; SHIRAN, B.; RAVASH, R. Molecular investigation of how drought stress affects chlorophyll metabolism and photosynthesis in leaves of C3 and C4 plant species: A transcriptome meta-analysis. **Heliyon**, v. 11, n. 3, p. e42368, fev. 2025.
- KARAMI, S.; SHIRAN, B.; RAVASH, R.; FALLAHI, H. A comprehensive analysis of transcriptomic data for comparison of plants with different photosynthetic pathways in response to drought stress. **PLOS ONE**, v. 18, n. 6, p. e0287761, 27 jun. 2023.
- KHAMIDOV, M.; ISHCHANOV, J.; HAMIDOV, A.; SHERMATOV, E.; GAFUROV, Z. Impact of Soil Surface Temperature on Changes in the Groundwater Level. **Water**, v. 15, n. 21, p. 1-16, 6 nov. 2023.
- KIM, S.; KANG, J; CHO, D.; PARK, J. H.; KIM, S. W. ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its overexpression affects multiple stress tolerance. **The Plant Journal**, v. 40, n. 1, p. 75–87, 24 out. 2004.

KOTHARI, K.; BATTISTI, R.; BOOTE, K. J.; ARCHONTOULIS, S. V.; CONFALONE, A.; CONSTANTIN, J.; CUADRA, S. V.; DEBAEKE, P.; FAYE, B.; GRANT, B. Are soybean models ready for climate change food impact assessments? **European Journal Of Agronomy**, v. 135, p. 126482, abr. 2022.

KUMAR, S.; Y.; SHAH, S. H.; VIMALA, Y.; JATAV, H.; AHMAD, P.; CHEN, Y.; SIDDIQUE, K.. Absciscic acid: Metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 14 set. 2022.

LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 2, p. 275–294, 11 fev. 2002.

LEITE, J. P.; BARBOSA, E. G. G.; MARIN, S. R. R.; MARINHO, J. P.; CARVALHO, J. F. C.; PAGLIARINI, R. F.; CRUZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Overexpression of the activated form of the *AtAREB1* gene (*AtAREB1AQ*) improves soybean responses to water deficit. **Genetics And Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 6272-6286, 2014.

LUMACTUD, R. A.; DOLLETE, D.; LIYANAGE, D. K.; SZCZYGLOWSKI, K.; HILL, B.; THILAKARATHNA, M. S. The effect of drought stress on nodulation, plant growth, and nitrogen fixation in soybean during early plant growth. **Journal Of Agronomy And Crop Science**, v. 209, n. 3, p. 345-354, 21 dez. 2022.

MARIN, D. R.; AMORIM, F. T. (orientador). **Identificação e caracterização de genes da família bzip em soja**. Londrina, 2021. 25 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - UniFil, Londrina, 2021. Disponível em: <http://pergamum.unifil.br:8080/pergamumweb/vinculos/000062/00006204.pdf>. Acesso em: 8 fev. 2024.

MARINHO, J. P.; KANAMORI, N.; FERREIRA, L. C.; FUGANTI-PAGLIARINI, R.; CARVALHO, J. F. C.; FREITAS, R. A.; MARIN, S. R. R.; RODRIGUES, F. A.; MERTZ-HENNING, L. M.; FARIAS, J. R. B. 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, 29 ago. 2015.

MELO, B. P.; LOURENÇO-TESSUTTI, I. T.; PAIXÃO, J. F. R.; NORIEGA, D. D.; SILVAL, M. C. M.; ALMEIDA-ENGLER, J.; FONTES, E. P. B.; GROSSI-DE-AS, M. F. Transcriptional modulation of *AREB-1* by CRISPR a improves plant physiological performance under severe water deficit. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 out. 2020.

MERTZ-HENNING, L.; FERREIRA, L.; HENNING, F.; MANDARINO, J.; SANTOS, E.; OLIVEIRA, M.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J.; NEUMAIER, N. Effect of Water Deficit-Induced at Vegetative and Reproductive Stages on Protein and Oil Content in Soybean Grains. **Agronomy**, v. 8, n. 1, p. 3, 28 dez. 2017.

MERTZ-HENNING, L. M.; NEPOMUCENO, A. L. Melhoria genética da soja, da chegada ao Brasil até a era da engenharia genética. *In: A pirataria de sementes ainda ameaça o agronegócio*. Ed. 28. **Seednews**, 2024. Disponível em: <https://seednews.com.br/artigos/4427-melhoramento-genetico-da-soja-da-chegada-ao-brasil-ate-a-era-da-engenharia-genetica-edicao-marco-2024>. Acesso em: 02 nov. 2024.

MO, W.; ZHENG, X.; SHI, Q.; ZHAO, X.; CHEN, X.; YANG, Z.; ZUO, Z. Unveiling the crucial roles of abscisic acid in plant physiology: implications for enhancing stress tolerance and productivity. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 21 nov. 2024.

MOLINARI, H. B. C.; VIEIRA, L. R.; VOLPI E SILVA, N.; PRADO, G. S.; LOPES-FILHO, J. H. **Tecnologia CRISPR na edição genômica de plantas: biotecnologia aplicada à agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020. 207p.

MULLER-ROBER, B.; EHRHARDT, T.; PLESCH, G. Molecular features of stomatal guard cells. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. Special, p. 293–304, 1 mar. 1998.

NAKASHIMA, K.; ITO, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Transcriptional Regulatory Networks in Response to Abiotic Stresses in Arabidopsis and Grasses. **Plant Physiology**, v. 149, n. 1, p. 88–95, 6 jan. 2009.

NARUSAKA, Y.; NAKASHIMA, K.; SHINWARI, Z. K.; SAKUMA, Y.; FURIHATA, T.; ABE, H.; NARUSAKA, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Interaction between two *cis*-acting elements, ABRE and DRE, in ABA-dependent expression of *Arabidopsis rd29A* gene in response to dehydration and high-salinity stresses. **The Plant Journal**, v. 34, n. 2, p. 137–148, 11 abr. 2003.

NETTING, A. G. PH, abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant water relations. **Journal Of Experimental Botany**, v. 51, n. 343, p. 147-158, fev. 2000.

NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; FOLONI, J. S. S.; MORAES, L. A. C.; OLIVEIRA, M. C. N. de; GONCALVES, S. L. **Avaliação de construções gênicas de soja para tolerância à seca, sob diferentes níveis de restrição hídrica a campo**. Congresso Brasileiro de Soja, 11., 2022, Londrina. Anais. EMBRAPA, 2022. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1148246/1/CBSoja-2022-62.pdf>. Acesso em: 1 jun. 2024.

PA, V.; VIJAYARAGHAVAREDDY, P.; UTTARKAR, A.; DAWANE, A.; D, S.; V, ASHWIN; KC, B.; NIRANJAN, V.; MS, S.; CV, A.; MAKARLA, M.; VEMANNA, R. S. Novel small molecules targeting bZIP23 TF improve stomatal conductance and photosynthesis under mild drought stress by regulating ABA. **The FEBS Journal**, v. 289, n. 19, p. 6058–6077, out. 2022.

PAZ, M. M., MARTINEZ, J. C.; KALVIG, A. B., FONGER, T. M.; WANG, K. Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature

seed for efficient *Agrobacterium*-mediated soybean transformation. **Plant Cell Reports**, v. 25, n. 3, p. 206–213, 25 mar. 2006.

PILOT, G.; LACOMBE, B.; GAYMARD, F.; CHÉREL, I.; BOUCHEREZ, J.; THIBAUD, J. B.; SENTENAC, H. Guard Cell Inward K⁺ Channel Activity in *Arabidopsis* Involves Expression of the Twin Channel Subunits *KAT1* and *KAT2*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 5, p. 3215–3221, fev. 2001.

QIAO, M.; HONG, C.; JIAO, Y.; HOU, S.; GAO, H. Impacts of Drought on Photosynthesis in Major Food Crops and the Related Mechanisms of Plant Responses to Drought. **Plants**, v. 13, n. 13, p. 1808, 30 jun. 2024.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 74, n. 12, p. 5463–5467, dez. 1977.

SENTELHAS, P. C.; BATTISTI, R.; CÂMARA, G. M. S.; FARIAS, J. R. B.; HAMPF, A. C.; NENDEL, C. The soybean yield gap in Brazil - magnitude, causes and possible solutions for sustainable production. **Journal of Agricultural Science**, v. 1, p. 1–18, 2015.

SETTER, T. L.; BRUN, W. A.; BRENNER, M. L. Effect of Obstructed Translocation on Leaf Absciscic Acid, and Associated Stomatal Closure and Photosynthesis Decline. **Plant Physiology**, v. 65, n. 6, p. 1111–1115, 1 jun. 1980.

SHEN, Q.; ZHANG, P.; HO, T. H. Modular nature of abscisic acid (ABA) response complexes: composite promoter units that are necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley. **The Plant Cell**, v. 8, n. 7, p. 1107–1119, jul. 1996.

SPOLEN, W. G. et al. Absciscic Acid Accumulation Maintains Maize Primary Root Elongation at Low Water Potentials by Restricting Ethylene Production. **Plant Physiology**, v. 122, n. 3, p. 967–976, 1 mar. 2000.

STEPPE, K.; STERCK, F.; DESLAURIERS, A. Diel growth dynamics in tree stems: linking anatomy and ecophysiology. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 6, p. 335–343, jun. 2015.

TAIZ, L.; MURPHY, A.; MONSHAUSEN, G. B.; PEER, W. Sinais e Transdução de Sinal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. (org.). **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 15. p. 436.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 720p. THOMAS, A. L.; COSTA, J. A. **Soja: manejo para alta produtividade de grãos**. Porto Alegre : Evangraf, 2010. 248 p. : il.; 23 cm. ISBN 978-85-7727-226-6.

TRAVAGLIA, C.; REINOSO, H.; BOTTINI, R. Application of abscisic acid promotes yield in field-cultured soybean by enhancing production of carbohydrates and their allocation in seed. **Crop & Pasture Science**, v. 60, n. 12, p. 1131–1136, 23 nov. 2009.

UMEZAWA, T.; Nakashima, K.; Miyakawa, T.; Kuromori, T.; Tanokura, M.; Shinozaki, K.; Yamaguchi-Shinozaki, K. Molecular Basis of the Core Regulatory Network in ABA Responses: Sensing, Signaling and Transport. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 11, p. 1821–1839, 1 nov. 2010.

USDA - United States Department of Agriculture. **Crop Explorer: Soybeans**.

Disponível em:

<https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000>

. Acesso em: 25 jan. 2026.

USDA - United States Department of Agriculture. **Oilseeds: World Markets and Trade**. Washington, DC: USDA, junho de 2025. Disponível em:

<https://www.fas.usda.gov/sites/default/files/2025-06/oilseeds.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2026.

YAO, D.; J. ZHOU; ZHANG, A. Z.; WANG, J. W.; LIU, Y. L.; WANG, L. W.; PI, W. P.; LI, Z. L.; YUE, W. Y.; CAI, J. C.; LIU, H. L.; HAO, W.; QU, X. Advances in CRISPR/Cas9-based research related to soybean [*Glycine max* (Linn.) Merr] molecular breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 30 ago. 2023.

WINCK, J. E. M.; SARMENTO, L. F. V.; FOLONI, J. S. S.; HENNING, L. M. M.; NEPOMUCENO, A. L.; MELO, C. L. P.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; BARBOSA, A. M.; CATUCHI, T. A. Growth and transpiration of soybean genotypes with *AtAREB1* transcription factor for tolerance to water deficit. **Plant Growth Regulation**, v. 103, n. 1, p. 193-208, 21 dez. 2023.

XIANG, H.; LIANG, X.; WANG, S.; WANG, X.; HE, N.; DONG, X.; WANG, D.; CHEN, S.; SONG, Q.; LIU, Y. Foliar spraying exogenous ABA resists chilling stress on adzuki beans (*Vigna angularis*). **PLOS ONE**, v. 19, n. 9, p. e0304628, 9 set. 2024.

XU, H.; GUO, Y.; QIU, L.; RAN, Y. Progress in Soybean Genetic Transformation Over the Last Decade. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 9 jun. 2022.

XU, Y.; SONG, D.; QI, X.; ASAD, M.; WANG, S.; TONG, X.; JIANG, Y.; WANG, S. Physiological responses and transcriptome analysis of soybean under gradual water deficit. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 26 out. 2023.

ANEXOS

ANEXO A - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO LB LÍQUIDO

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 5 g de extrato de levedura;
 - 10 g de bacto peptona;
 - 5 g de NaCl.
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para 7,0.
- Completar o volume para 1 L, aliquotar e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os antibióticos específicos para a estirpe e a construção em uso.

ANEXO B - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE CO-CULTIVO LÍQUIDO (CCM)

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 0,32 g de *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture*;
 - 1 mL de solução de vitamina Gamborg's (1000X);
 - 4,26 g de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico etanosulfônico monohidratado (MES);
 - 30 g de sacarose;
 - 334 µL de benzil amino purina (BAP) (5 mg.mL⁻¹).
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para 5,4.
- Completar o volume para 1 L, aliquotar em frascos de 250 mL e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os componentes previamente filtro esterilizados:
 - 1 mL de ditioneitol (DTT) 1 M
 - 200 µL de *Silwet L-77*
 - 250 µL de ácido giberélico (1 mg.mL⁻¹)
 - 200 µL de acetoseringona (1 M)
 - 1 mL de tiosulfato de sódio (1 M)
 - 4 mL de cisteína (100 mg.mL⁻¹).

ANEXO C - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE GERMINAÇÃO (MG)

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 3,2 de *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture*;
 - 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
 - 0,64 g de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico etanosulfônico monohidratado (MES);
 - 30 g de sacarose.
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para $\approx 5,6-5,7$.
- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 6,5 g de ágar e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e distribuir em placas de Petri (90 x 15 mm).

ANEXO D - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE CO-CULTIVO SÓLIDO (CCM)

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 0,32 g de *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture*;
 - 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
 - 4,26 g de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico monohidratado (MES);
 - 30 g de sacarose;
 - 334 μL de benzil amino purina (BAP) (5 mg.mL^{-1}).
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para 5,4.
- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 4 g de ágar e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os componentes previamente filtro esterilizados:
 - 1 mL de ditioneitol (DTT) 1 M;
 - 250 μL de ácido giberélico (1 mg.mL^{-1});
 - 200 μL de acetoseringona (1 M);
 - 1 mL de tiosulfato de sódio (1 M);
 - 4 mL de cisteína (100 mg.mL^{-1});
 - Distribuir o meio em placas de Petri (90 x 15 mm).

ANEXO E - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE INDUÇÃO DE MULTIBROTAMENTO 1 (SIM1)

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 3,2 g de *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture*;
 - 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
 - 0,64 g de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico monohidratado (MES);
 - 30 g de sacarose;
 - 334 µL de benzil amino purina (BAP) (5 mg.L⁻¹).
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para $\approx 5,6-5,7$.

- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 7 g de ágar e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os componentes previamente filtro esterilizados:
 - 2 mL de meropene (12,5 mg.L⁻¹);
 - Distribuir o meio em placas de Petri (90 x 15 mm).

ANEXO F - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE INDUÇÃO DE MULTIBROTAMENTO 2 (SIM2) - COM AGENTE SELETIVO

- Em um Becker de 1 L adicionar:
 - 3,2 g de *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture*;
 - 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
 - 0,64 de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico monohidratado (MES);
 - 30 g de sacarose;
 - 334 µL de benzil amino purina (BAP) (5 mg.L⁻¹).
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para $\approx 5,6-5,7$.
- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 7 g de ágar e autoclavar.

- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os componentes previamente filtrados e esterilizados:

- 2 mL de meropene (12,5 mg.L⁻¹);
- Adicionar o agente seletivo na concentração recomendada;
- Distribuir o meio em placas de Petri (90 x 15 mm).

ANEXO G - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO DE ALONGAMENTO (SEM)

- Em um Becker de 1 L adicionar:

- 4,4 g de meio MS (Murashige e Skoog, 1962);
- 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
- 0,64 g de de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico monohidratado (MES);
- 30 g de sacarose.

- Completar o volume para 900 mL com água destilada.

- Ajustar o pH para $\approx$ 5,6-5,7.

- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 7 g de ágar e autoclavar.

- Resfriar o meio até 60 °C e adicionar os componentes previamente filtro esterilizados:

- 500 µL de ácido giberélico (1 mg.mL⁻¹);
- 2 mL de meropene (12,5 mg.L⁻¹);
- Adicionar o agente seletivo na concentração recomendada;
- 1 mL de asparagina (50 mg.L⁻¹);
- 1 mL de ácido piroglutâmico (50 mg.L⁻¹);
- 1 mL de zeatina (0,5 mg.L⁻¹);
- 100 µL ácido 3-indol acético (1 mg.mL⁻¹);
- Distribuir o meio em placas de Petri (90 x 20 mm).

ANEXO H - PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DO MEIO MEIO DE ENRAIZAMENTO (RM)

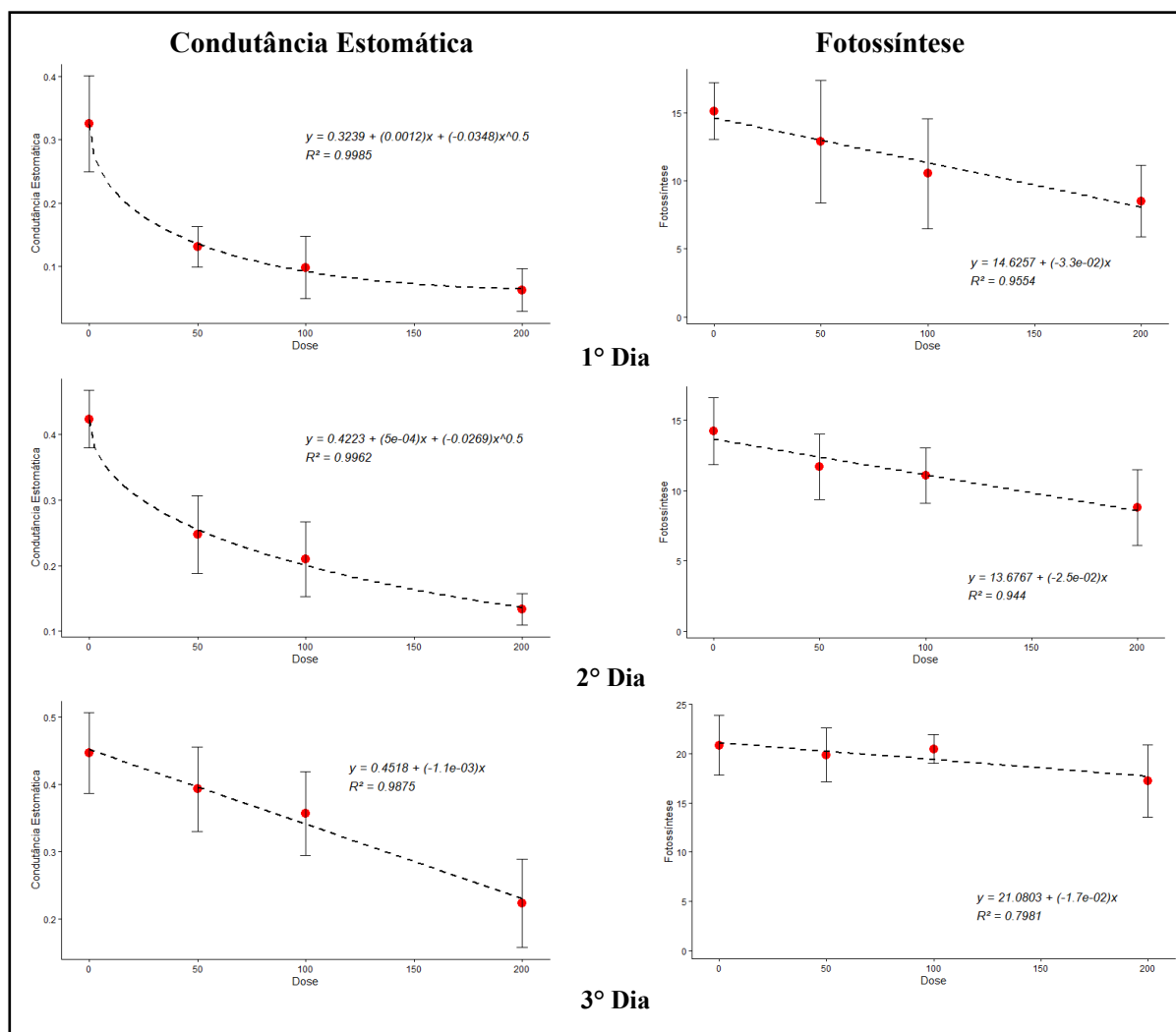
- Em um Becker de 1 L adicionar:

- 2,2 g de meio MS (Murashige e Skoog, 1962);
- 1 mL de solução de vitamina *Gamborg's* (1000X);
- 0,64 g de ácido 2-(n-morfolino) etanosulfônico monohidratado (MES);

- 20 g de sacarose.
- Completar o volume para 900 mL com água destilada.
- Ajustar o pH para $\approx 5,6-5,7$.
- Completar o volume para 1 L e adicionar em um Erlenmeyer de 2 L contendo 7 g de ágar e autoclavar.
- Resfriar o meio até 60 °C e distribuir o meio em magentas e/ou copos de plástico.

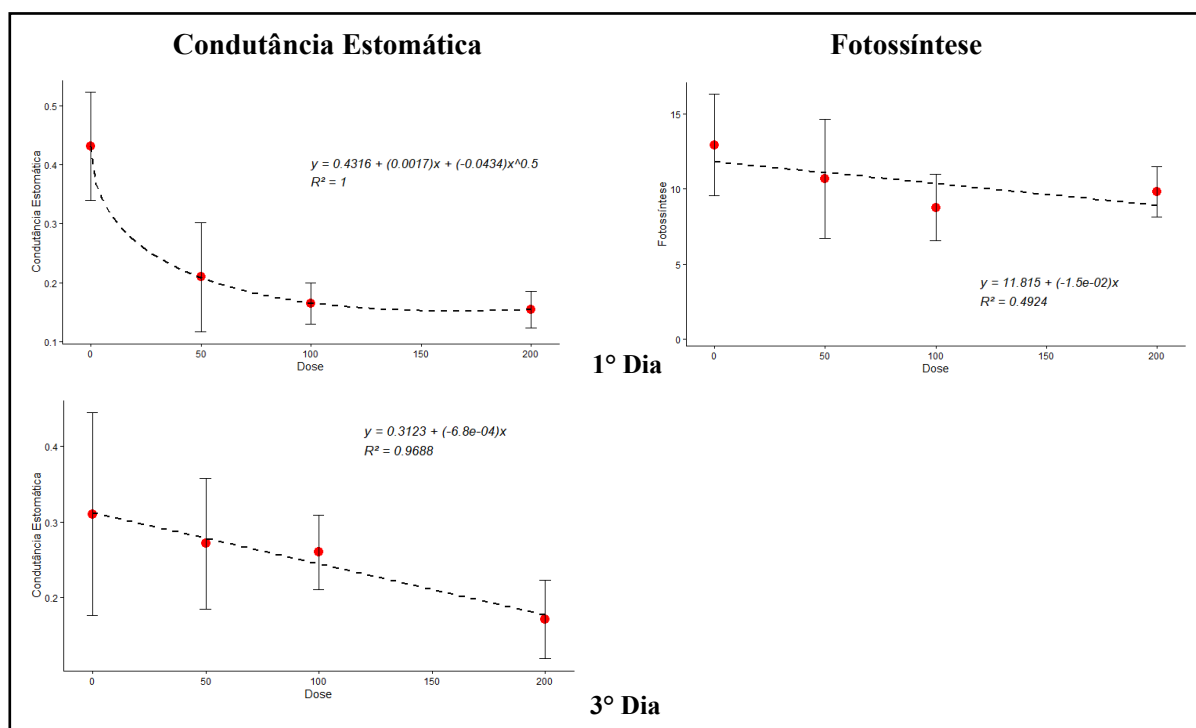
ANEXO I – AJUSTES DE REGRESSÃO PARA OS PARÂMETROS DE CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA E FOTOSÍNTESE EM FUNÇÃO DAS DOSES DE ÁCIDO ABSCÍSICO

Figura 9. Ajustes de regressão para os parâmetros de condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estágio R1 na cultivar de soja BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$, $p \leq 0,05$).



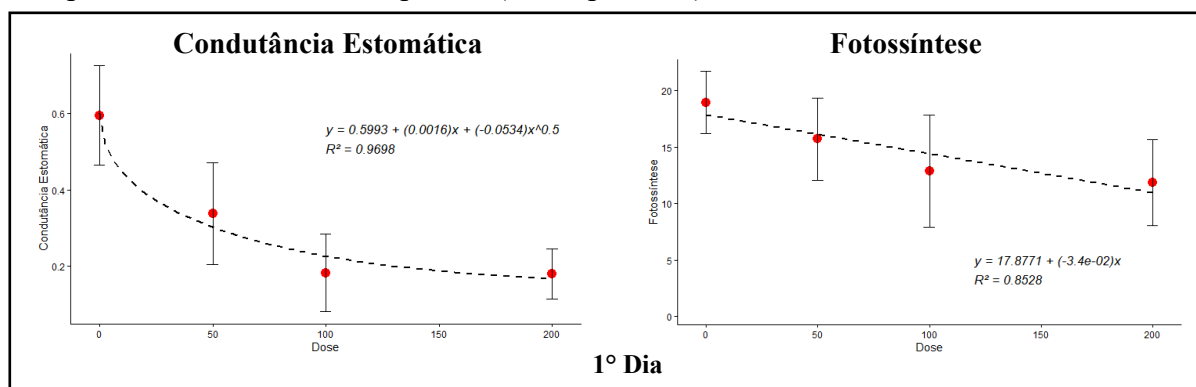
Fonte: O autor, 2026.

Figura 10. Ajustes de regressão para os parâmetros de condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estádio R1 na linhagem de soja 1EA2939 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.

Figura 11. Ajustes de regressão para os parâmetros de condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e fotossíntese ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no estádio R5 cultivar de soja BR 16 submetida a dois regimes hídricos (C: controle irrigado, D: indução de déficit hídrico). Barras representam a média $\pm$ erro padrão ($n = 5$, $p \leq 0,05$).



Fonte: O autor, 2026.