



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VITOR CAMARGO DO NASCIMENTO JUNIOR

**APLICAÇÃO DE 1- METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB
DÉFICIT HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO
BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO**

VITOR CAMARGO DO NASCIMENTO JUNIOR

**APLICAÇÃO DE 1- METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB
DÉFICIT HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO
BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO**

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

Orientador: Prof. Dr. Cássio Egídio Cavenaghi Prete

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

N244a Nascimento Junior, Vitor Camargo do.

Aplicação de 1-Metilciclopropeno em soja sob déficit hídrico e seus reflexos na fixação biológica do nitrogênio / Vitor Camargo do Nascimento Junior. – Londrina, 2012. 72 f. : il.

Orientador: Cássio Egidio Cavenaghi Prete.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2012. Inclui bibliografia.

1. Soja – Melhoramento genético – Teses. 2. Soja – Condições hídricas – Teses. 3. Soja – Nitrogênio – Fixação – Teses. 4. Plantas – Efeito do etileno – Teses. I. Prete, Cássio Egidio Cavenaghi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 631.52:633.34

VITOR CAMARGO DO NASCIMENTO JUNIOR

**APLICAÇÃO DE 1- METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB DÉFICIT
HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO
NITROGÊNIO**

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

BANCA EXAMINADORA

Pesquisador Dr. Marco Antonio Nogueira
Embrapa Soja – CNPSO – Londrina - Pr

Profa. Dra. Cristiane de Conti Medina
UEL – Londrina - Pr

Profa. Dra. Carmen Silvia Vieira Janeiro Neves
UEL – Londrina - Pr

Prof. Dr. Gilberto Martins
UEL – Londrina - Pr

Orientador: Prof. Dr. Cassio Egidio Cavenaghi
Prete
UEL – Londrina - Pr

Londrina, 15 de fevereiro de 2012.

Aos meus familiares e a minha filha
Mariana com amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade, confiança e generosidade.

Aos professores do Departamento de Agronomia e do Departamento de Microbiologia que, direta ou indiretamente, colaboraram com seus conhecimentos para a realização deste trabalho.

Aos colegas participantes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia e de Pós-Graduação em Microbiologia pelas sugestões e apoio durante os períodos de estudos, experimentações e análises.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Departamento de Agronomia e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade.

Aos funcionários e coordenadores do Programa de Pós-graduação em Agronomia pelo apoio durante o curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro através de concessão de bolsa de estudos.

Gostaria de agradecer também às pessoas que deram suporte técnico à realização dos trabalhos: aos colegas estagiários graduandos em Agronomia; aos técnicos e funcionários dos laboratórios e casas de vegetação do Departamento de Agronomia; e aos funcionários da Fazenda Escola, da Universidade Estadual de Londrina.

“Quanto maior é a sede, maior é o prazer em satisfazê-la.”

Dante Alighieri

NASCIMENTO JUNIOR, Vitor Camargo do. **Aplicação de 1- Metilciclopropeno em soja sob déficit hídrico e seus reflexos na fixação biológica do nitrogênio.** 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é cultivada no Brasil sob condições climáticas adversas e o fator de maior limitação para o aumento de sua produtividade é o déficit hídrico. Em plantas sob estresse, o etileno induz a abscisão prematura de folhas, flores e frutos; contudo, o 1-Metilciclopropeno (1-MCP) pode inibir a sua ação. O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência da aplicação de 1-MCP sobre parâmetros relacionados à fixação biológica do nitrogênio (FBN), nos estádios reprodutivos da soja, sob indução de estresse pelo déficit hídrico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade da Estadual de Londrina (PR), utilizando-se a cultivar de soja BRS-268 de crescimento determinado e cultivada em vasos. Em R₂, o 1-MCP foi aplicado em metade das unidades experimentais, em câmara plástica hermeticamente fechada. As plantas de soja foram submetidas a duas disponibilidades hídricas no vaso: condições normais de capacidade de campo (CNCC) e de déficit hídrico nos estádios reprodutivos (DHER). As parcelas sob DHER receberam 50% do volume de água das parcelas sob CNCC. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x2) com oito repetições, com tratamentos compostos por duas disponibilidades hídricas (CNCC e DHER) e duas formas de aplicação de 1-MCP (com e sem 1-MCP). As avaliações foram realizadas nos estádios reprodutivos R₂ e R₃ pelas quantificações de: conteúdo de umidade e de potencial hídrico do solo; temperatura, condutância estomática e índice de clorofila das folhas; massa da matéria seca da parte aérea e das raízes; índice da área foliar; número e massa de nódulos; teores de ureídeos; e teor de N foliar. Em R₈, foram quantificados: número de sementes e de vagens; e massa de sementes por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de significância. Em R₂, a aplicação de 1-MCP sob déficit hídrico elevou a temperatura foliar (1,34%) e os teores de ácido alantóico (62,87%); o déficit hídrico reduziu o potencial hídrico do solo, a condutância estomática (97,40%), o índice de clorofila (5,19%) e o nitrogênio foliar (7,82%); porém aumentou a temperatura foliar (11,30%) e o teor de ácido alantóico (62,87%). Em R₃, sob efeito da aplicação de 1-MCP, aumentou o número de nódulos (37,31%) e o teor de ácido alantóico (57,30%). O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico do solo, a condutância estomática (93,18%), o índice de área foliar (21,96%), o número de nódulos (39,51%), a massa seca de nódulos (42,82%) e a massa seca da parte aérea (23,27%); além disso, aumentou a temperatura foliar (8,93%) e o teor de nitrogênio foliar (12,88%). Em R₈, o déficit hídrico reduziu o número de vagens (14,47%), o número de sementes (12,16%) e a massa de sementes por planta (12,22%). A aplicação de 1-MCP em plantas de soja sob déficit hídrico minimiza alguns dos reflexos negativos à FBN; contudo, não se obtém efeito positivo nos componentes de produção.

Palavras – chave: 1-MCP. *Bradyrhizobium*. Estresse hídrico. FBN. *Glycine max*. Nodulação.

NASCIMENTO JUNIOR, Vitor Camargo do. **1-Methylcyclopropene application in soybean under water deficit and effects on biological nitrogen fixation.** 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is grown in Brazil under adverse weather conditions and the main limitation factor for increased productivity is the water deficit. In stressed plants, ethylene induces premature abscission of leaves, flowers and fruits, however the 1-Methylcyclopropene (1-MCP) inhibits its action. This study aimed at evaluating the efficiency of application of 1-MCP on parameters related to biological nitrogen fixation (BNF) during the reproductive stages of soybean under stress induced by water deficit. The experiment was conducted in a greenhouse at the State University of Londrina (PR), using the soybean cultivar BRS-268 classified as determinate in growth and grown in pots. In R₂, 1-MCP was applied on a half experimental units, in sealed plastic chamber. Soybean plants were subjected to two water availability in pots: normal field capacity (NFC) and water deficit in reproductive stages (WDRS). The plots in WDRS received 50% of the volume of water from plots under NFC. The experimental design was completely randomized in factorial scheme (2x2) with eight replications with treatments consisting of two water availability (NFC and WDRS) and two forms of application of 1-MCP (with and without 1-MCP). Evaluations were performed during the reproductive stages R₂ and R₃ by measurements of: moisture content and soil water potential, temperature, stomatal conductance and chlorophyll content of leaves, dry mass of shoots and roots, leaf area index; number and nodule weight, content of ureides, and leaf N content. In R₈, were measured: the number of seeds and pods, and seed mass per plant. The data were submitted to ANOVA and Tukey test at 5% significance level. In R₂, the application of 1-MCP under water deficit increased the leaf temperature (1.34%) and the concentration of allantoic acid (62.87%). Water deficit reduced the soil water potential, stomatal conductance (97.40%), chlorophyll content (5.19%) and foliar nitrogen (7.82%) but increased the leaf temperature (11.30%) and allantoic acid content (62.87%). In R₃, under effect of 1-MCP, increased the number of nodules (37.31%) and allantoic acid content (57.30%). The water deficit reduced the soil water potential, stomatal conductance (93.18%), the leaf area index (21.96%), the number of nodules (39.51%), dry weight of nodules (42.82%) and dry mass of shoots (23.27%) and, moreover, increased leaf temperature (8.93%) and leaf N content (12.88%). In R₈, water deficit reduced the number of pods (14.47%), the number of seeds (12.16%) and seed mass per plant (12.22%). The application of 1-MCP in soybean plants under water deficit minimizes some of the negative consequences to the BNF, however, does not obtain a positive effect on yield components.

Key – words: 1-MCP. BNF. *Bradyrhizobium*. *Glycine max*. Nodulation. Water stress.

LISTA DE TABELAS

Artigo 3

Tabela 3.1 – Resultado da análise química para fins de fertilidade de um substrato contendo, respectivamente, a proporção de 3:1 de um Latossolo Vermelho distroférico, coletado de um campo de soja (0-0,20 m); e, bagacilho de cana compostado e areia (1:1)53.....	51
Tabela 3.2 – Médias das determinações realizadas nos estádios reprodutivos R ₂ , R ₃ e R ₈ em plantas de soja da cultivar BRS-268, cultivadas em vasos, sob os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP. Universidade Estadual de Londrina. Fev.-Jun. 201059	57
Tabela 3.3 – Análise de variância das determinações efetuadas no solo dos vasos e nos componentes de produção das plantas de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R ₂ 60.....	58
Tabela 3.4 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o conteúdo de água (kg) disponível em vasos e do potencial hídrico (MPa) do solo subsuperficial, com soja no estágio R ₂ 60	59
Tabela 3.5 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre a temperatura foliar (°C), a condutância estomática foliar (mmol/m ² s) e o índice de clorofila foliar (IC) em plantas de soja no estágio R ₂ 62.....	60
Tabela 3.6 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o teor de ácido alantóico (nM) do exsudato do xilema e do teor de nitrogênio foliar (g kg ⁻¹) em plantas de soja no estágio R ₂ 63.....	61
Tabela 3.7 – Análise de variância das determinações efetuadas no solo dos vasos e dos componentes de produção das plantas de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R ₃ 63.....	62

Tabela 3.8 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o conteúdo de água (kg) disponível no solo em vasos e do potencial hídrico (MPa) do solo subsuperficial, com plantas de soja no estágio R ₃ 64	62
Tabela 3.9 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre a temperatura foliar (°C), a condutância estomática foliar (mmol/m ² s), a massa seca da parte aérea (g) e o índice de área foliar (IAF) em plantas de soja no estágio R ₃ 65	64
Tabela 3.10 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o número de nódulos das raízes, a massa de nódulos (mg), o teor de ácido alantóico (nM) e o teor nitrogênio foliar (g kg ⁻¹) em plantas de soja no estágio R ₃ 66	65
Tabela 3.11 – Análise de variância dos componentes de produção de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R ₈ 67.....	66
Tabela 3.12 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP para os componentes de produção para o número de vagens, o número de sementes e a massa de sementes (g) em plantas de soja no estágio68.....	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ORIGEM DA SOJA	14
2.2 EXPANSÃO DA CULTURA	15
2.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	17
2.4 SIMBIOSE E MELHORAMENTO	18
2.5 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO (FBN)	22
2.5.1 FBN em Soja	22
2.5.2 Formação dos Nódulos de Infecção	23
2.5.3 Fisiologia dos Nódulos Fixadores de Nitrogênio	25
2.5.4 FBN e Nitrogênio Mineral	27
2.6 ESTRESSE HÍDRICO	28
2.6.1 Avaliação das Condições Hídricas	28
2.6.2 Déficit Hídrico em Soja	31
2.6.3 Efeito do Estresse na FBN	33
2.7 INIBIDORES DO ETILENO E 1-MCP	34
REFERÊNCIAS	37
3 ARTIGO – APLICAÇÃO DE 1-METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO	44
3.1 RESUMO E ABSTRACT	45
3.2 INTRODUÇÃO	46
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	50
3.3.1 Ensaio, Genótipo e Instalação do Experimento	50
3.3.2 Indução ao Déficit Hídrico e Aplicação de 1-MCP	51
3.3.3 Variáveis Analisadas	53
3.3.3.1 N-ureídeo (alantoína e ácido alantóico)	53
3.3.3.2 Massa e número de nódulos	54
3.3.3.3 Características fisiológicas e agronômicas	54

3.3.3.4 Teor de nitrogênio total nas folhas	55
3.3.4 Metodologia Estatística	55
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.5 CONCLUSÕES	67
3.6 REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa, atualmente, a posição de segundo maior produtor mundial de grãos de soja (*Glycine max* (L) Merrill), razão pela qual é uma das culturas de maior importância econômica para o país.

A soja é cultivada dentro das cinco regiões brasileiras, cujas condições ambientais e climáticas são muito variáveis. Dentre essas, o estresse hídrico é o principal fenômeno gerador de prejuízos à cultura.

Apesar dos avanços gerados pelas pesquisas com cultivares de maior potencial de rendimento, os estresses causados pelo déficit hídrico têm limitado o crescimento e a produtividade da soja. Como consequências da seca tem-se a redução da biomassa de raízes, caules, folhas, flores e frutos, principalmente, quando ocorre nos estádios mais críticos de desenvolvimento.

A resposta mais visível da planta ao déficit hídrico é verificada na diminuição da área foliar, na aceleração da senescência, na abscisão das folhas e no abortamento das flores que, fisiologicamente, se trata de uma estratégia de defesa para diminuir a perda de água; porém, o rendimento da cultura depende de sua capacidade fotossintética, além da absorção de nutrientes.

A cultura da soja é altamente exigente em nitrogênio (N). A sua necessidade de N é suprida pelo nutriente disponível no solo na forma de íons nitrato (NO_3^-), íons amônio (NH_4^+), e, principalmente, pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Pela FBN, bactérias simbiotes específicas fixam o nitrogênio atmosférico (N_2) nos nódulos de infecção das raízes, e o converte à forma amoniacal, o qual é transformado em compostos orgânicos assimiláveis denominados ureídeos. Durante o desenvolvimento da planta, as máximas taxas de fixação de N_2 ocorrem nos estádios reprodutivos, ou seja, a partir do final do florescimento e durante o enchimento dos grãos.

A FBN é o primeiro processo a ser prejudicado em soja, se comprometida por deficiência hídrica e por altas temperaturas. A restrição de água no solo compromete diretamente a sobrevivência das bactérias fixadoras de N_2 , a formação e a longevidade dos nódulos, além da síntese de leghemoglobina.

A abscisão foliar causada pelo estresse é decorrente de maior síntese e sensibilidade ao etileno pelos vegetais. Porém, inibidores químicos da síntese de etileno podem amenizar ou inibir a ação desse regulador de crescimento,

conforme as espécies de plantas. A aplicação de 1-Metilciclopropeno (1-MCP), molécula bloqueadora dos receptores de etileno nos vegetais, pode reverter a inibição causada por esse fitorregulador em plantas durante períodos que são submetidas ao estresse, como em condições de extremas temperaturas ou secas.

Contudo, estudos são necessários para validar novas tecnologias, como a aplicação de 1-MCP sobre o desenvolvimento das plantas, principalmente sobre seu efeito na associação planta-bactéria, como é o caso da soja e do gênero *Bradyrhizobium*.

A presente pesquisa sugere que a aplicação de 1-MCP em soja, nos estádios reprodutivos iniciais, minimiza os efeitos do estresse hídrico na FBN, com consequências ao desenvolvimento da planta e componentes de produção. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da aplicação de 1-Metilciclopropeno sobre a fixação biológica do nitrogênio nos estádios reprodutivos da soja sob indução de estresse pelo déficit hídrico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ORIGEM DA SOJA

A arquitetura da planta de soja (*Glycine max* (L) Merrill) na atualidade apresenta características muito diferentes dos seus ancestrais, plantas rasteiras que se desenvolviam próximo à costa leste da Ásia. Sua evolução ocorreu com cruzamentos naturais entre espécies de soja selvagem, que depois foram domesticadas e melhoradas por cientistas da China antiga (EMBRAPA, 2004). Conforme classificação botânica, a soja pertence à família *Fabaceae* (*Leguminosae*), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* e forma cultivada *Glycine max* (L) Merrill (CASTRO et al., 1999; SEDIYAMA et al., 2009).

A história da origem da soja é obscura. Evidências indicam que a planta foi domesticada no século XI a.C., ao norte da China. O Vale do Rio Amarelo, berço da civilização chinesa, é o provável local de origem da soja. A mais antiga referência sobre a soja na literatura aparece em um livro de medicina intitulado *Pen-Ts'ao Kang-Mu* (Matéria Médica), escrito pelo Imperador *Shen Nung*, entre os anos de 2883 a.C. a 2838 a.C (BONATO; BONATO, 1987; SEDIYAMA et al., 2009). Nesse período, a soja era considerada um grão sagrado, juntamente com o arroz, o trigo, a cevada e o milho. Era grande a importância da soja para a antiga civilização chinesa, tanto que era celebrada com cerimoniais ritualísticos na época da semeadura e da colheita por imperadores e poetas chineses, que exaltavam as suas virtudes nos serviços à humanidade (EMBRAPA, 2004; SEDIYAMA et al., 2009; QIU; CHANG, 2010).

Antigas referências à soja remetem ao Livro de Odes (antologia de poesias chinesas simples e realistas da vida camponesa e cortesã), que cobre o período entre os séculos XII e XI a.C., em que a palavra *Shu* é, segundo os historiadores, a designação de soja, o que evidencia a possível domesticação da planta neste período. Possivelmente, muitas tentativas foram realizadas até que a soja fosse domesticada com êxito; portanto, parece razoável situar a domesticação da soja no século XI a.C., durante a dinastia *Shang*, entre os anos de 1500 e 1027 a.C. (QIU; CHANG, 2010).

No entanto, quanto à origem do nome, o dicionário de *Sui Sham* descreve a planta sob o nome de *tchouan*. Em outro dicionário antigo, o *Kouan-gia*

(230 d.C.), datado da época da dinastia *Han*, a soja é chamada de *ta-teou* (grande ervilha); e, também, de *sou* (NIELSEN; HERMAN, 2002). Provavelmente, os nomes *soi*, *soy*, *soya* e *soja* são todos derivados do antigo nome chinês *sou* (QIU; CHANG, 2010). A forma cultivada da soja foi introduzida no Japão a partir do segundo século antes da era cristã; porém, acredita-se, igualmente, que a origem da palavra soja venha da palavra japonesa *shoyu* (SEDIYAMA et al., 2009).

2.2 EXPANSÃO DA CULTURA

A partir dos registros de sua origem no norte da China, há cerca de 5000 anos, a soja expandiu-se lentamente para o sul deste país, como também para a Coreia, Japão e sudeste da Ásia, tendo chegado à Coreia, e desta ao Japão, somente entre 200 a.C. e o século III d.C. Contudo, até 1894 a produção de soja ficou praticamente restrita à China, pois o ocidente ignorou o seu cultivo até a segunda década do século XX. Na Europa, a soja tornou-se conhecida a partir de 1739, ocasião em que foi plantada no Jardim Botânico de Paris (França); porém, somente em 1875, teve início uma grande campanha visando o cultivo da soja no continente europeu. (PROBST; JUDD, 1973; EMBRAPA, 2004; SEDIYAMA et al., 2009).

Em 1804, a soja foi cultivada no Estado da Pensilvânia e pela primeira vez citada nos Estados Unidos da América (EUA). A partir de 1880, a soja adquiriu importância como planta forrageira. Em 1915 nos EUA, foi pela primeira vez, esmagada para extração do óleo para consumo humano. Em 1920, a área destinada à produção de grãos era de 76 mil ha e a destinada à produção de forragem, pastagem e silagem chegava a 300 mil ha (PROBST; JUDD, 1973; BONATO; BONATO, 1987; SEDIYAMA et al., 2009). Em 1940, no auge do seu cultivo como forrageira, foram cultivados nos EUA, cerca de dois milhões de hectares de soja para a alimentação animal (EMBRAPA, 2004).

A soja chegou ao Brasil, via Estados Unidos, em 1882. Gustavo D'Utra, professor da Escola de Agronomia da Bahia, realizou os primeiros estudos de avaliação dessas cultivares. No entanto, as cultivares vindas da América do Norte não apresentaram boa adaptação numa latitude em torno de 12° sul (EMBRAPA, 2004; SEDIYAMA et al., 2009). Mais tarde, em 1891, novas cultivares foram introduzidas em Campinas, SP, com latitude em torno de 22° 54' S. Nessa região, a

soja apresentou melhor desenvolvimento do que na Bahia. Em Campinas, as primeiras observações foram feitas por Daffert, em 1892. Em 1900 e 1901, o Instituto Agrônômico de Campinas promoveu a primeira distribuição de sementes de soja para produtores paulistas (BONATO; BONATO, 1987).

Em 1914, tem-se registro do primeiro cultivo de soja no Rio Grande do Sul, introduzida pelo professor Craig, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde a cultura encontrou efetivas condições para se desenvolver e expandir, dadas as semelhanças climáticas do ecossistema de origem dos genótipos, ou seja, da região sul dos EUA (BONATO; BONATO, 1987; SEDIYAMA et al., 2009).

Inicialmente, a soja foi produzida comercialmente no Brasil nas regiões das missões, principalmente, no município de Santa Rosa, RS, considerado o berço nacional da soja. Era utilizada para a alimentação de suínos, como fonte de proteína para complementar a dieta à base de milho, abóbora e mandioca; e, também, utilizada como adubação verde. Em 1958, foi instalada a primeira indústria de soja no Rio Grande do Sul, mas o grande impulso da cultura foi dado nos anos de 1960 (BONATO; BONATO, 1987).

A partir de 1941, a área cultivada para grãos superou a cultivada para forragem, cujo cultivo declinou rapidamente, até desaparecer em meados dos anos de 1960, enquanto a área cultivada para a produção de grãos crescia de forma exponencial, não apenas nos EUA, como também no Brasil e na Argentina (EMBRAPA, 2004; SEDIYAMA et al., 2009).

Devido à sua facilidade de cultivo e colheita, a soja foi introduzida como cultura ideal para fazer a rotação com o trigo, utilizando-se, praticamente, os mesmos equipamentos. Desta forma, a produção brasileira, que participava com 0,5% da produção mundial em 1954, passou a 16% da produção global em 1976. A partir do Estado do Rio Grande do Sul, a soja expandiu-se para o restante do país, primeiro para Santa Catarina, depois para o Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Centro-Oeste. Na atualidade, devido às pesquisas e melhoramento genético, a soja é cultivada em, praticamente, todo o território nacional, sendo o principal produto agrícola brasileiro. Em 2003, o Brasil figurou como o segundo maior produtor mundial, responsável por 26,8%, das 194 milhões de toneladas produzidas (EMBRAPA, 2004).

2.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de grãos de soja, razão pela qual, é uma das culturas de maior importância econômica para o país. Na safra 2010/11, a soja ocupou uma área de 24,1 milhões de hectares, totalizando uma produção de 75,3 milhões de toneladas e produtividade média de 3115 kg ha⁻¹. Cultivada em todas as regiões do Brasil, tem como principal região produtora o Centro-Oeste, com área cultivada de 45% do total com soja no território nacional, e produção média de 45% do total de grãos de soja, com produtividade estimada em 3137 kg ha⁻¹. Em segundo, a região Sul participou com de 38% da área ocupada e 38% da produção nacional do grão, com produtividade média de 3124 kg ha⁻¹. O Estado do Paraná contribuiu com 19% da área plantada e 20% da produção de soja do país, com produtividade média de 3360 kg ha⁻¹ (CONAB, 2011).

Uma das atividades econômicas do agronegócio mundial que apresentou maior crescimento nos últimos anos foi o da produção de soja. Atribui-se a isso, entre outros, à consolidação do grão como fonte de proteína vegetal importante, acarretando maiores demandas dos setores da produção animal (LAZZAROTTO; HIRAKURI, 2009). No contexto mundial, o Brasil possui significativa participação na oferta e na demanda de produtos do complexo soja, o qual vem desempenhando papel fundamental para o desenvolvimento de várias regiões do país. Atualmente, o Brasil participa com 28% da produção mundial e 34% das exportações de soja em grãos (USDA, 2011).

O complexo agroindustrial da soja foi responsável por cerca de 30% das exportações do agronegócio brasileiro em 2011, em que o saldo positivo da balança comercial foi na ordem de 17,8 bilhões de dólares com o complexo soja. As exportações brasileiras de soja aumentam a cada ano. Em 2011, houve um crescimento nas exportações de 1,7% em relação ao ano de 2010. O Brasil exportou 25,5 milhões de toneladas de soja em grãos, com o qual arrecadou de 12,5 bilhões de dólares em 2011, sendo a China e a Holanda os maiores importadores (CONAB, 2011).

A produção de soja tem por finalidade atender as demandas de proteína e óleo para a alimentação humana e ração animal. Altas produtividades de grãos são sempre almejadas, principalmente, acompanhadas de concentrações altas de óleo e proteína, com o intuito de diminuir o custo de seus produtos

derivados (TANAKA et al., 1995). A soja faz parte das cinco principais fontes protéicas, e também é fonte calórica (entre 18 a 22% de óleo). Comercialmente, teores de proteína e óleo em grãos de soja determinam o seu valor. O farelo de soja destinado à exportação é classificado em três categorias específicas, e para atingir a classificação necessária, o grão de soja deve conter porcentagens de proteína acima de 41,5%, com base na matéria seca (MORAES, 2006).

O farelo apresenta considerável importância para o complexo soja. Em 2011, as exportações desse produto foram de 9,5 milhões de toneladas, com arrecadação de US\$ 3,8 bilhões, cujos maiores importadores foram os países da Europa: Holanda, França e Alemanha. As exportações de óleo de soja bruto, refinado e outros com maior valor agregado foram de 1,2 milhões de toneladas, com arrecadação de US\$ 1,4 bilhões, em 2011, sendo a China, a Índia e Bangladesh os principais importadores (CONAB, 2011).

A soja é uma commodity (CORONEL et al., 2009), ou seja, é uma mercadoria de base em estado bruto (matéria prima), que tem grande importância internacional, e é comercializada em bolsas de mercadorias específicas; tendo assim, o seu preço muito volátil em razão de diversas variáveis (SILVA et al., 2005b), inclusive especulativas (DEL CORSO et al., 2006).

O sucesso da cultura no Brasil está associado à eficiência das bactérias fixadoras de N_2 , quando em simbiose com a planta (HUNGRIA et al., 2001), o que foi possível através de pesquisas e do melhoramento genético das espécies, tornando o Brasil líder mundial na substituição de fertilizantes nitrogenados pela fixação biológica do N_2 (FBN), com consideráveis vantagens econômicas e sociais ao país (DÖBEREINER, 1997).

2.4 SIMBIOSE E MELHORAMENTO

Muitos dos compostos presentes nas células vegetais possuem o elemento nitrogênio (N). O N é encontrado nos nucleotídeos fosfato e nos aminoácidos que formam a estrutura dos ácidos nucleicos e das proteínas. Portanto, os sistemas agrícolas apresentam um expressivo ganho na produtividade após serem fertilizados com N mineral, atestando a importância do elemento N (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O N está presente em muitas formas na biosfera. A atmosfera contém uma vasta quantidade de N molecular (N_2), o qual, em sua maior parte não está diretamente disponível para os organismos vivos; porém, podem, através da fixação do nitrogênio por processo industrial ou por processo natural, obter a quebra de sua ligação tripla covalente entre os dois átomos de N, passando à amônia (NH_3) ou nitrato (NO_3^-) (RAVEN et al., 2007; RESENDE et al., 2007).

Dentre os processos naturais que fixam o N_2 , são responsáveis os relâmpagos (8%) que possibilitam a quebra do N_2 , que é convertido em ácido nítrico (HNO_3), e na sequência precipitado com as chuvas para os solos; as reações fotoquímicas (2%) entre o óxido nítrico gasoso (NO) e o ozônio (O_3), produzindo o ácido nítrico (HNO_3); e, a FBN (90%), em que bactérias ou cianobactérias fixam o N_2 em amônio (NH_4^+) (VICTORIA et al., 1992; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Portanto, o N pode ser introduzido ao solo por várias maneiras, como pelo N mineral (processo industrial) e pelos processos naturais simbióticos e não simbióticos. Uma vez no solo o N sofre diversas modificações. O N é fixado em amônia (amonificação), podendo sofrer reação química e ser adsorvido nas partículas de argila como amônio (NH_4^+). Após a amonificação, o NH_3 se fixa em nitrato (nitrificação), e na sequência o N entra num ciclo, passando por formas orgânicas, em que é imobilizado pelos microrganismos, e inorgânicas após sua mineralização. Ainda dentro do ciclo do N no solo, o NO_2^- e o NO_3^- podem sofrer processos de desnitrificação ou o NO_2^- por reações químicas e retornar à forma de N_2 na atmosfera, ou ainda o NO_3^- ser lixiviado no solo (PAUL; CLARK, 1989). Os íons amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-), gerados pela fixação do N no solo ou liberados pela decomposição da matéria orgânica (MO), tornam-se objetos de intensa competição entre as plantas (absorção) e microrganismos (imobilização) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Outra forma de fixação e fornecimento de N é através de sua obtenção pelo processo industrial, sob elevada temperatura e alta pressão, na presença de um metal catalisador (geralmente ferro), em que o N_2 combina-se com o hidrogênio formando amônia (NUNES et al., 2003).

A cultura da soja no Brasil seria inviabilizada economicamente, se os produtores utilizassem como fonte única o N mineral fertilizante (HUNGRIA et al., 2007). Na hipótese da ausência da fixação biológica do nitrogênio, ao utilizar-se, exclusivamente, de fertilizantes nitrogenados para alcançar uma produtividade de

3000 kg ha⁻¹ de grãos de soja, seria necessário, por um custo financeiro elevado, aplicar cerca de 1100 kg de uréia (44% de N) ou, aproximadamente, 2400 kg de sulfato de amônio (20% de N) para atender as necessidades produtivas da cultura em razão da eficiência do fertilizante industrializado ser 50% menor que a FBN (240 kg ha⁻¹ de N) (FINOTO et al., 2009).

Desde o início das pesquisas sobre a FBN, a simbiose entre leguminosas e rizóbios tem sido grandemente explorada, principalmente, devido aos baixos teores de nitrogênio no solo de áreas de clima tropical (BODDEY et al., 1997). A maior contribuição do processo de fixação biológica do N₂ ocorre pela associação simbiótica de plantas leguminosas com bactérias pertencentes a diversos gêneros; porém, costumam ser denominados, de modo geral, como rizóbios (HUNGRIA et al., 2007).

No Brasil, os estudos com FBN iniciaram-se nos anos 1950. Nos últimos anos, a utilização de inoculantes com rizóbios na cultura da soja proporcionou para o Brasil uma economia em fertilizantes nitrogenados de vários bilhões de dólares por ano, que seriam necessários para manter a atual produtividade da cultura. A soja brasileira tornou-se altamente competitiva no mercado mundial, por não depender da aplicação de fertilizantes nitrogenados (DÖBEREINER, 1997).

A história da soja no Brasil começou na Bahia; porém, a sua adaptação às condições brasileiras, inicialmente, ocorreu no Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo, e depois foram superadas as maiores dificuldades de adaptação às regiões tropicais, sem dias longos, tolerância às pragas e doenças, aos solos de baixa fertilidade e o desenvolvimento de inoculantes para as novas fronteiras de produção (BONATO; BONATO, 1987; SEDIYAMA et al., 2009).

A quase ausência de rizóbios efetivos em soja nos solos brasileiros prejudicou a fase inicial da cultura; porém, foi fator determinante na aceitação da inoculação como prática de manejo aceitável para a cultura (ALVES et al., 2003). Apesar dos resultados positivos observados com a inoculação nas condições brasileiras, os melhoristas demonstravam certa relutância em incluir como critério de seleção nos programas de melhoramento, a capacidade das progênies em formar simbiose eficiente com rizóbio, especialmente pelo aumento considerável de trabalho, face às restrições de recursos financeiros e humanos disponíveis naquela época (FRANCO; BODDEY, 1997), e pela falta de preocupação com o uso de

combustíveis fósseis, aquecimento global e sustentabilidade (HUNGRIA et al., 2007).

A superação dessas barreiras foi atribuída à pesquisadora Johanna Döbereiner, por sua contribuição científica na área de fixação biológica de nitrogênio, por sua liderança mundial reconhecida em relação às pesquisas com gramíneas, e por sua capacidade de convencimento. Com essas características, a Dra. Döbereiner contribuiu com a implantação do Programa Nacional de Pesquisa da Soja, o Ensaio Nacional de Variedades x Inoculantes, depois transformado em Variedades x Estirpes de Rizóbio (FRANCO; BODDEY, 1997).

Em virtude da simbiose planta/bactéria e do melhoramento genético, muitos agricultores, em especial os da região do Cerrado, foram capazes de obter rendimentos de soja acima de 4000 kg ha⁻¹, utilizando-se de 250 a 280 kg ha⁻¹ de nitrogênio, na maioria dos casos derivados apenas da FBN. A simbiose entre a soja e as bactérias com estirpes específicas foi tão eficiente, que as tentativas de aumentar o rendimento de grãos por adição de N mineral fertilizante quase nunca foram bem sucedidas, principalmente se as plantas forem inoculadas com as melhores cepas de *Bradyrhizobium* (ALVES et al., 2003).

Com esta visão, ajudados pelos resultados positivos da pesquisa e pela determinação da Dra. Döbereiner, os melhoristas da soja foram convencidos a não usar adubação nitrogenada, mas sim inocular as sementes nos trabalhos de seleção das progênes e nos de melhoramento. Este foi o grande mérito da pesquisadora e um grande passo para que a produção da soja no país atingisse médias de produtividade similares às obtidas nos Estados Unidos, com metade do uso de fertilizantes (FRANCO; BODDEY, 1997).

Portanto, o grande sucesso da fixação biológica do nitrogênio em soja se deve aos resultados de vários esforços, como a seleção e adaptação dos genótipos de soja para as condições diversas brasileiras, para que a cultura fosse cultivada em todo o território nacional; a insistência em que as sementes de soja sejam inoculadas com estirpes recomendadas de *Bradyrhizobium*, sem a aplicação de fertilizante nitrogenado; o intercâmbio contínuo de informações entre melhoristas de plantas, agrônomos e rizobiologistas, que levaram à seleção de estirpes específicas de *Bradyrhizobium*, em conjunto com o melhoramento da soja (ALVES et al., 2003).

2.5 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO (FBN)

2.5.1 FBN em Soja

O ar atmosférico é constituído por aproximadamente 78% de nitrogênio molecular (N_2), muito abundante, porém pouco reativo. O N_2 possui uma ligação tripla covalente de excepcional estabilidade entre os dois átomos de nitrogênio ($N\equiv N$). O nitrogênio (N) com esta ligação não é normalmente assimilado pelos organismos vivos. Entretanto, o N_2 pode ser fixado por processos industriais, com alto consumo de energia, como ocorre com o processo Haber-Bosch. É possível, igualmente, por processos naturais, obter a fixação biológica do N atmosférico através de microrganismos específicos (TAIZ; ZEIGER, 2009). A capacidade biológica de transformar o N_2 em N disponível para as plantas é exclusividade dos microrganismos chamados de diazotróficos, que incluem alguns gêneros de bactérias, cianobactérias e actinobactérias (FINOTO et al., 2009).

O nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja, considerando-se o alto teor de proteína no grão, ou seja, 40% em média. Para se produzir cerca de 1000 kg de sementes, a cultura demanda cerca de 80 kg de N (HUNGRIA et al., 2001).

As fontes de N para a cultura podem ser provenientes do solo, pela decomposição da matéria orgânica (MO), das descargas elétricas provenientes de raios, da fixação biológica do nitrogênio (FBN) por microrganismos simbiotes, e da adubação mineral nitrogenada (FINOTO et al., 2009).

As plantas, na fase inicial do desenvolvimento, usam o N acumulado nos cotilédones, além do NO_3^- do solo. Após a planta formar um conjunto adequado de nódulos em suas raízes, a assimilação alcança o seu máximo no estágio de florescimento pleno (R_2). As máximas taxas de fixação de nitrogênio ocorrem no final do florescimento e durante o enchimento de grãos. O nitrogênio assimilado entre o desenvolvimento da vagem (R_3) e o começo da maturação (R_7) é a fonte predominante de nitrogênio para a semente (FEHR; CAVINESS, 1977; ZAPATA et al., 1987). Zilli et al. (2008) verificaram rendimento de grãos de 3680 kg ha^{-1} e acúmulo de nitrogênio em grãos de soja de 210,9 kg ha^{-1} com sementes inoculadas, contra 3218 kg ha^{-1} e 180,3 kg ha^{-1} , respectivamente, para tratamento com aplicação de 200 kg ha^{-1} de nitrogênio mineral.

A cultura da soja tem potencial de fixar pelas bactérias simbiotes até 450 kg ha⁻¹ de N, o que promove uma produtividade aproximada de 5400 kg ha⁻¹ (FINOTO et al., 2009). Desta forma, a cultura é favorecida economicamente pela FBN, que também melhora a qualidade do solo sem poluir o ambiente, principalmente, se aliada a sistemas de plantio que promovam o aumento de matéria orgânica e que mantenham a umidade do solo adequada, tais como: rotação de culturas, cultivo mínimo, adubação verde e sistema de plantio direto (CAMPOS et al., 2001).

A FBN é caracterizada pela conversão do N₂ em NH₄⁺, forma disponível às plantas. O processo da FBN é similar ao da fixação industrial do N₂, em que ocorre a formação da amônia a partir do nitrogênio molecular. Na FBN a reação geral é: $N_2 + 8 e^- + 8 H^+ + 16 ATP \rightarrow 2 NH_3 + H_2 + 16 ADP + 16 Pi$ (TAIZ; ZEIGER, 2009). As bactérias que fixam o N₂ possuem um complexo de enzimas chamado de complexo da nitrogenase, que é responsável pela catalisação dessa reação bioquímica. Duas proteínas formam esse complexo enzimático: a Fe-proteína e a MoFe-proteína (NUNES et al., 2003; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os microrganismos diazotróficos são capazes de associar-se a diversas espécies de plantas; porém, é destacada a associação com leguminosas. No caso da planta da soja, a simbiose ocorre com o gênero de bactérias chamadas *Bradyrhizobium* que, ao entrar em contato com as raízes, infecta os pelos radiculares, com conseqüente formação de nódulos. A relação simbiótica mais importante com a soja ocorre com as espécies *B. japonicum* e *B. elkanii* (VARGAS; HUNGRIA, 1997; ZILLI et al., 2006), sendo as estirpes mais recomendadas: SEMIA 587 e SEMIA 5019, pertencentes à espécie *B. elkanii*, e SEMIA 5079 e SEMIA 5080, pertencentes à espécie *B. japonicum* (CHUEIRE et al., 2003).

Portanto, estabelecida a associação entre as raízes de soja e as bactérias específicas que fixam o N₂, ocorre a formação dos nódulos e é estabelecida a simbiose, nas condições em que a planta fornece fotoassimilados às bactérias (carbono orgânico e nutrientes), e recebe em troca produtos nitrogenados, como aminoácidos e ureídeos provenientes da FBN (FINOTO et al., 2009).

2.5.2 Formação dos Nódulos de Infecção

A formação dos nódulos é o resultado de um processo complexo,

que envolve diversas etapas. Inicialmente, quando em germinação, as sementes emitem as raízes primárias que disponibilizam exsudatos ao solo, e atraem as bactérias específicas através de receptores químicos (HUNGRIA et al., 1997; HUNGRIA et al., 2001; FAGAN et al., 2007). Na sequência, ocorre a estimulação do desenvolvimento das bactérias nas raízes da planta. Em seguida, é desencadeado a expressão dos genes envolvidos, tanto os da bactéria, como os da planta. Na etapa seguinte, as bactérias penetram as raízes e provocam o crescimento e multiplicação de células específicas da planta, com a formação dos nódulos que ficam alojados no córtex radicular. Quando ativos, os nódulos apresentam coloração rósea intensa em seu interior, indicando a atividade da leghemoglobina. Essa proteína é formada apenas no nódulo, no qual a planta hospedeira produz a porção globina, em resposta à infecção pela bactéria; enquanto que as bactérias simbiotes produzem a porção heme da molécula da leghemoglobina, a qual tem como função transportar o oxigênio, elemento essencial às funções aeróbias da bactéria (APPLEBY, 1984; HUNGRIA et al., 1997; HUNGRIA et al., 2001; SILVEIRA et al., 2001); entretanto, o processo de fixação de nitrogênio ocorre sob condições anaeróbias (DIXON; WHEELER, 1986).

A soja é uma planta que desenvolve nódulos em suas raízes através de bactérias fixadoras do N_2 inoculadas na semente e presentes no solo. No solo, através de estímulos causados por substâncias orgânicas exsudadas pelas raízes, as bactérias se multiplicam na rizosfera da planta, em contato com os pelos radiculares, ocorrendo a adesão dessas bactérias à epiderme dos pelos absorventes. Sinais moleculares são estabelecidos entre a bactéria, através dos genes de nodulação (nod), e a planta hospedeira, através dos genes nodulinos (Nod). Esses sinais têm relação com as substâncias bioquímicas exsudadas pelas raízes, como os compostos fenólicos (flavonóides), que ativam o gene da nodulação da bactéria, determinando a infecção radicular e a formação dos nódulos (VARGAS; HUNGRIA, 1997). Na sequência, há a invaginação da parede celular dos pelos absorventes radiculares, colonizados pelas bactérias, desenvolvendo-se uma estrutura chamada de cordão de infecção, que penetra as células da epiderme das raízes. As bactérias multiplicam-se no interior dos cordões de infecção, que continuam infectando as células, transpassando as camadas iniciais do parênquima cortical, até, possivelmente, atingir a endoderme ou camadas mais profundas, como o periciclo da raiz. No parênquima cortical, com a presença do cordão de infecção,

células tetraplóides multiplicam-se e surgem os primórdios do nódulo. Reguladores de crescimento, como auxinas e citocininas, agem nas células tetraplóides, modificando-as em meristemas com maior capacidade de multiplicação, formando nódulos cujo interior é ocupado na totalidade por células bacterianas com formato distinto do original. Por isso, não são chamadas mais de bactérias, e sim de bacteróides (HUNGRIA et al., 1997; FINOTO et al., 2009).

Os nódulos bacterianos concentram-se na coroa da raiz, região situada cerca de 1 a 3 cm abaixo do colo da planta, na qual saem as principais ramificações radiculares. A nodulação primária ocorre nessa região e predomina sobre a nodulação das raízes secundárias (HUNGRIA; BOHRER, 2000; ZILLI et al., 2008).

Os nódulos nas raízes da soja tornam-se evidentes entre 10 e 15 dias nos estádios V_1 a V_2 , dependendo da cultivar de soja e da estirpe de bactéria, além da influência das condições geradas pelo ambiente e manejo (HUNGRIA et al., 1997; ARAUJO; HUNGRIA, 1999; FINOTO et al., 2009).

Os nódulos funcionais e ativos apresentam superfície rugosa na área externa e coloração entre rósea e avermelhada, o que indica a atividade da leghemoglobina. Um nódulo tem a sua duração, em média, de 6 a 8 semanas, mas pode chegar até 13 semanas. Os nódulos no sistema radicular estão em constante renovação e em formação durante o ciclo da soja. Porém, a nodulação máxima ocorre na fase reprodutiva, entre os estádios R_2 e R_5 . É nesse período que a soja tem maior necessidade de nutrientes e demais fatores geradores da produção. (FINOTO et al., 2009). A quantidade e o número de nódulos por sistema radicular diferem de planta para planta, mudando em função das diversas variáveis envolvidas no cultivo da soja, notadamente pelo estresse hídrico (PURCELL et al., 2004; VIANA, 2007).

2.5.3 Fisiologia dos Nódulos Fixadores de N_2

A fixação do N_2 é garantida pelo eficiente sistema vascular no interior do nódulo, que supre as bactérias fixadoras com nutrientes constituídos na fosforilação oxidativa dos produtos elaborados nas folhas pela fotossíntese. Por outro lado, os bacteróides fixam o N_2 por meio da enzima nitrogenase, reduzindo-o à amônia (NH_3). Em seguida, a amônia fixada é assimilada na forma de ureídeo. Os

ureídeos têm sua origem intermediada pela glutamina sintetase (GS) e pela glutamato sintase (GOGAG). Aproximadamente, 90% do nitrogênio total presente na seiva do xilema da soja são translocados na forma de ureídeos em direção à parte aérea da planta (VARGAS; HUNGRIA, 1997).

Para a atividade da FBN, os bacteróides precisam de: N atmosférico (N_2); fotoassimilados, desdobrados na presença de O_2 para formar o ATP, gerando a energia para reduzir o N_2 ; nitrogenase, como enzima redutora de N_2 a NH_3 ; um sistema doador de elétrons; e, por fim, um substrato receptor da amônia produzida para posterior incorporação ao metabolismo nitrogenado da planta na forma de ureídeos (VARGAS; HUNGRIA, 1997).

Os elétrons provenientes do desdobramento de vários compostos fotossintéticos passam pela ferridoxina antes de chegar à nitrogenase, principal enzima da FBN, constituída pelos componentes molibdo-ferro-proteína e ferroproteína. Os dois juntos catalisam a redução do N_2 a NH_3 . Em seguida, a amônia é incorporada em compostos orgânicos derivados da fotossíntese, iniciando-se a formação de ureídas que, através da transaminação, servem de base para a síntese de aminoácidos e outros compostos nitrogenados, que são incorporados no metabolismo da soja (SANJUÁN-PINILLA, 2001; TAIZ, ZEIGER, 2009).

Didonet et al. (1989) verificaram que diferentes concentrações de ureídeos no exsudato xilemático não afetaram nem o nitrogênio total da parte aérea da planta, nem o peso da matéria seca das vagens, em condições normais de irrigação. Os autores observaram que, em R_2 , ocorreu um aumento da contribuição dos ureídeos para o nitrogênio total das plantas; porém, houve um decréscimo no estágio R_3 , quando a produção de ureídeos pelo sistema radicular era máxima, o que indica que os ureídeos estavam sendo direcionados, preferivelmente, para a formação das vagens, que são o dreno preferencial da planta neste estágio do desenvolvimento, constituindo-se na principal fonte de nitrogênio.

Entretanto, sob condições adversas, podem ocorrer alterações na eficiência da FBN. Hungria (1994) sugere que o declínio da atividade fixadora do N_2 , sob condições de estresse, por temperatura elevada ou baixa umidade do solo, está relacionado com o decréscimo da capacidade fotossintética da planta hospedeira ou com a ineficiência do complexo da nitrogenase.

2.5.4 FBN e Nitrogênio Mineral

A soja demanda grandes quantidades de N. No Brasil, essa demanda deve, preferencialmente, ser garantida pela fixação biológica do nitrogênio (ALVES et al., 2003). Observa-se que, a partir de 10 a 12 dias após a emergência das plantas de soja, as folhas apresentam coloração verde clara, semelhante ao sintoma de deficiência de N. Nesta fase, as reservas das sementes investem grande energia na formação dos nódulos. Esse fato pode sugerir a aplicação de uma dose inicial de N mineral, a qual, supostamente, pode ajudar a planta a determinar-se e, eventualmente, resultar em maiores rendimentos (HUNGRIA et al., 2007). No entanto, a dose inicial de N foi testada por pesquisadores no Brasil e, com um inoculante eficaz e eficiente, é raro ocorrer qualquer efeito significativo sobre o rendimento dos grãos com aplicações de N na dose de até 30 kg ha⁻¹ (ALVES et al., 2003; HUNGRIA et al., 2007).

Portanto, não há nenhum benefício significativo pela adição de fertilizante nitrogenado mineral nos estádios vegetativos iniciais, porque após as duas primeiras semanas, as etapas de nodulação e de fixação do N₂ são intensificadas até o período de formação e de início de enchimento das vagens (HUNGRIA et al., 2007). Reis et al. (2002) demonstraram que, sob plantio convencional ou plantio direto, não ocorreram benefícios à produção de grãos com a adição de 30 a 60 kg ha⁻¹ de N como sulfato de amônio no início da fase de enchimento das vagens.

Igualmente, no estágio de preenchimento das vagens, as folhas tornam-se amarelas e senescentes, porque o N está sendo translocado para os grãos. Nesse estágio, é possível sugerir que ocorre deficiência de N, e que a aplicação de uma dose de N no final do florescimento aumenta os rendimentos (ALVES et al., 2003). Porém, observa-se uma formação secundária de nódulos nas raízes após o florescimento e esses nódulos contribuem, substancialmente, para o fornecimento de N para a planta (HUNGRIA et al., 2007).

Para as cultivares brasileiras, desenvolvidas para ter eficiência na simbiose com *Bradyrhizobium* específico, a atividade da nitrogenase se prolonga, frequentemente, até o período de enchimento dos grãos (HUNGRIA et al., 2007). Demonstrando que a fixação simbiótica de N₂ pode ser muito eficiente para a cultura da soja, Nishi e Hungria (1996) adicionaram 400 kg ha⁻¹ de N fertilizante para soja

inoculada, com aplicações parceladas na semeadura e no florescimento, e dividida em 10 doses durante o desenvolvimento da planta, e, novamente, descobriram que a produção de grãos foi a mesma ou menor do que quando a cultura não recebeu fertilizante nitrogenado. Portanto, grandes quantidades de N fertilizante levam ao aumento da massa foliar, bem como promovem folhas mais escuras e maiores, ou seja, a massa seca total pode ser maior do que as de plantas que contam com a FBN; contudo, apesar do N total acumulado por toda a planta ter sido maior, a produção de grãos não foi alterada (HUNGRIA et al., 2007).

2.6 ESTRESSE HÍDRICO

2.6.1 Avaliação das Condições Hídricas

A deficiência hídrica em plantas ocorre quando a taxa de transpiração foliar é maior que a capacidade de absorção radicular de água, e é caracterizada pela diminuição dos teores de água nos tecidos, pela perda de turgescência foliar e pelo fechamento dos estômatos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A condição de estresse hídrico pode ser temporária, em dias com temperaturas altas, mesmo em plantas irrigadas adequadamente; mas, se a diferença de potencial hídrico se prolonga, a redução na absorção de água pode acarretar um estado de murcha permanente (GUIMARÃES; STONE, 2008).

O potencial da água na célula, tecido ou órgão pode ser descrito pela seguinte equação: $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_m + \Psi_p + \Psi_g$, em que Ψ_w é o potencial total de água de um sistema, Ψ_s é o potencial osmótico, Ψ_m é o potencial mátrico, Ψ_p é o potencial de pressão, e Ψ_g o potencial gravitacional. O componente gravitacional é de apenas 0,01 MPa por metro, e pode ser desconsiderado em tecidos cortados e em plantas de baixo porte. Assim, o potencial de água em um sistema é afetado somente pelos efeitos osmóticos, mátricos e do turgor das células; portanto, a equação pode ser simplificada para: $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_m + \Psi_p$. Em um sistema em equilíbrio hídrico, o potencial total de água é similar em todo o sistema: na parede celular, no citoplasma, nos vacúolos, entre outros; contudo, os componentes do potencial total de água podem ser bastante diferentes. No citoplasma, é devido aos efeitos osmóticos, mátricos e de turgor; no vacúolo, deve-se, principalmente, aos

efeitos osmóticos e de turgor ($\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p$); e, na parede celular, deve-se, principalmente, aos efeitos mátricos e, em menor proporção, aos efeitos osmóticos ($\Psi_w = \Psi_s + \Psi_m$) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

As partículas de água no solo estão sujeitas a uma série de forças que determinam o sentido e velocidade de deslocamento desta partícula dentro do solo. A energia com a qual o solo retém a água é medida em termos de potencial de água (Ψ_w), que tem unidades de pressão, ou energia por unidade de volume, que equivale a força por unidade de área (MPa). O potencial de pressão negativo é chamado de potencial matricial (Ψ_m). Em solos não saturados, o potencial matricial representa a força de adesão da água às partículas do solo. Quanto menor for a umidade, mais fortemente a água será retida pelas partículas do solo. Cada solo, dependendo de sua textura e porosidade, possui uma curva de retenção característica que relaciona o conteúdo de umidade e o potencial matricial deste solo. Desta forma, a água no solo se move, principalmente, por fluxo de massa, governado por gradiente de potencial matricial (LIBARDI, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009).

A limitação da expansão na área foliar pode ser a primeira reação fisiológica em plantas submetidas ao déficit hídrico (SANTOS; CARLESSO, 1998), com conseqüente limitação ao rendimento da cultura (NÓBREGA et al., 2001). Thomas e Costa (1994) verificaram que o número de legumes por planta de soja e a massa de sementes foram os componentes mais afetados pelo déficit hídrico. Observaram, também, que o maior índice de área foliar e o maior período de enchimento de grãos proporcionaram maiores rendimentos de sementes no tratamento irrigado.

O déficit hídrico pode provocar o fechamento parcial dos estômatos, reduz a transpiração e aumenta a temperatura das folhas em exposição à radiação solar (GUIMARÃES et al., 2010), sendo possível correlacionar a temperatura foliar com a taxa de transpiração e de fotossíntese, além de ser um indicador eficiente das condições hídricas da planta (HIRAYAMA et al., 2006).

A medição da temperatura foliar, para avaliar as plantas em função de seu estado hídrico, é útil e pode proporcionar resposta eficiente e imediata. É uma técnica rápida, não destrutiva e não demanda tecidos ou movimentação intensa dentro da parcelas (GUIMARÃES et al., 2010). Mahan et al. (2010) concluíram que

sensores infravermelhos de temperatura, sem fio e de baixo custo, fornecem resolução e confiabilidade suficientes para avaliar de forma contínua a temperatura do dossel de plantas, e pode ser utilizado para determinar os momentos de irrigação.

Equipamentos portáteis que determinam o teor relativo de clorofila, medindo a transmissão de luz vermelha a 650 nm, região em que a clorofila absorve luz, e transmissão de luz infravermelha a 940 nm, onde nenhuma absorção ocorre, vêm sendo utilizados por permitir estimar o índice de intensidade da cor verde e teor de clorofila em várias espécies de plantas. A perda de pigmentos de clorofila durante estresse ambiental ou senescência da planta pode ser um indicador visível em eventos como deficiência hídrica. (CARVALHO et al., 2003; TORRES NETTO et al., 2002, 2005).

A resposta dos estômatos ao déficit hídrico é conhecida e alguns métodos são empregados para medir o seu comportamento, cuja determinação é feita através do acoplamento de câmara equipada com sensor na folha. A medição pode ser feita na superfície adaxial ou na abaxial e avaliada durante as primeiras horas da manhã ou durante o período da tarde, conforme resposta da espécie ou do genótipo da planta (GUIMARÃES; STONE, 2008). Paiva et al. (2005) verificaram em folhas de feijoeiro que a resposta dos estômatos ao déficit hídrico é possível de ser determinada com porômetros que medem o fluxo de ar através das folhas, com resultados sensíveis e rápidos. Estes autores observaram a redução da condutância estomática em resposta aos baixos valores de potencial hídrico do solo e vice-versa.

O índice de área foliar (IAF) é definido como sendo a razão entre a área foliar do dossel e a unidade de superfície projetada no solo (m^2/m^2). O IAF é computado ao considerar a superfície de apenas uma das faces das folhas, e é uma variável biofísica que está diretamente relacionada com a transpiração e a produtividade da cultura (PEIXOTO, 1999).

O processo fotossintético depende da interceptação da luz e sua conversão em energia química, em que o IAF pode ser considerado um parâmetro indicativo de produtividade (Müller, 1981). Segundo Koller et al. (1970) e Lucchesi (1987), a capacidade fotossintética de uma planta depende da interceptação da radiação solar, que se relaciona com o IAF. O aumento do nível de interceptação da luz incidente eleva o IAF, proporcionando um aumento de produção de biomassa. Esse benefício depende da eficiência de absorção e de conversão da radiação em fotoassimilados (Sinclair, 1993). A soja tem um crescimento inicial lento que dura até

a queda dos cotilédones. Em seguida, o IAF aumenta linearmente até o final do florescimento, atingindo valores entre 5,0 e 8,0. O valor do IAF decresce situando-se entre 4,0 e 6,0 próximo à maturidade fisiológica, em que se observa um rápido amarelecimento da parte aérea das plantas, seguido de abscisão foliar (KOLLER et al., 1970).

2.6.2 Déficit Hídrico em Soja

As plantas de soja, entre outras espécies vegetais, têm o seu consumo de água determinado, basicamente, pela demanda evaporativa da atmosfera, propriedades do solo e características das cultivares (CUNHA; BERGAMASCHI, 1992; BERGONCI et al., 2001). As perdas de água por evaporação do solo e por transpiração da planta constituem a evapotranspiração, essencial para estimar a quantidade de água requerida para irrigação (PEREIRA et al., 1997; SILVA et al., 2005a). A evapotranspiração máxima acumulada de uma cultura depende do seu ciclo de desenvolvimento, e varia, principalmente, com as características das plantas, duração do ciclo, umidade do solo e condições atmosféricas, com destaque para radiação solar, umidade relativa do ar, velocidade do vento e temperatura do ar (CALVACHE et al., 1998; KUSS, 2006).

A planta da soja tem em sua massa fresca cerca de 90% de água. Em seus processos fisiológicos e bioquímicos, a água atua em, praticamente, todos eles, desempenhando a função de solvente, onde gases, minerais e outros solutos entram nas células e movimentam-se pela planta. Outra função importante da água é a da manutenção e distribuição do calor (EMBRAPA, 2010).

Plantas cultivadas sob condições hídricas normais, geralmente têm uma resistência menor ao déficit hídrico e, em uma rápida ocorrência de deficiência hídrica, os mecanismos fisiológicos e morfológicos são afetados de forma severa, em função da necessidade de adaptação rápida da planta à nova condição de seca. Entretanto, quando o déficit hídrico ocorre de forma gradual ou no início do ciclo da cultura, a adaptação das plantas é mais evidente (SANTOS; CARLESSO, 1998).

Em condição de campo, déficits hídricos prolongados causam mudanças na condição fisiológica na planta, como o fechamento dos estômatos e o enrolamento dos folíolos, causado pela desidratação dos tecidos. Portanto, a

redução da transpiração pode provocar a queda prematura das folhas, flores e legumes, gerando uma diminuição do rendimento da cultura (EMBRAPA, 2010).

A queda de folhas, flores e vagens se dá devido à formação do ácido abscísico (ABA) e, conseqüentemente, a produção de etileno. Durante períodos de estresse hídrico, o nível de ABA aumenta, causando o fechamento dos estômatos em poucos minutos para diminuir a transpiração foliar. O fechamento estomático ocorre devido à perda de solutos das células-guarda, que ficam desidratadas. Essa perda começa quando o ABA produzido nas células do mesófilo atinge os estômatos. Esse processo indica que as células do mesófilo estão experimentando um déficit hídrico (RAVEN et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009).

O estresse hídrico pode ser causado tanto por déficit quanto por excesso de umidade no solo. Solos saturados podem reduzir a disponibilidade de oxigênio às raízes, reduzindo a absorção de nutrientes, o desenvolvimento normal da planta e, conseqüentemente, a produtividade da cultura da soja (THEISEN et al., 2008).

A alteração da disponibilidade da água na planta, seja por redução ou excesso em seu conteúdo, afeta o seu crescimento e desenvolvimento, e indica que o processo de estresse hídrico está ocorrendo. A produtividade das plantas é limitada pela água e depende da quantidade disponível deste recurso e da eficiência do seu uso, uma vez que estresses hídricos afetam a fotossíntese foliar e a condutância estomática (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os efeitos da deficiência hídrica sobre o rendimento dependem da intensidade, duração, época de ocorrência e da interação com outros fatores determinantes da expressão do rendimento final (QUEIROZ et al., 1996). Quando o déficit hídrico ocorre nos primeiros estádios de desenvolvimento vegetativo, a soja recupera-se melhor do que outras culturas, porque pode tolerar curtos períodos de déficit, tem sistema radicular com profundidade efetiva de 0,40 m e período de florescimento relativamente longo (FARIAS et al., 2001).

Em soja, os dois períodos mais sensíveis ao déficit hídrico são germinação-emergência e floração-enchimento de grãos, porque envolvem diretamente a formação dos componentes do rendimento, ou seja, número de plantas por área, número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa média de grãos (CUNHA; BERGAMASCHI, 1992; EMBRAPA, 2010). A sensibilidade da soja às deficiências hídricas, considerando o rendimento de grãos,

tende a aumentar à medida que a cultura avança no seu ciclo (KRON et al., 2008), e apresenta a máxima sensibilidade durante o período reprodutivo, principalmente, na formação de vagens e enchimento de grãos (KORTE et al., 1983).

2.6.3 Efeito de Estresses na FBN

Fatores ambientais geradores de estresses podem afetar negativamente a capacidade de nodulação e a fixação de N_2 pelas populações de *Bradyrhizobium* em simbiose com o sistema radicular da soja, tais como: pH, umidade, temperatura, fatores biológicos, salinidade, N mineral, pesticidas, herbicidas e metais pesados (CASTRO, 2000; SOARES, 2007).

Diversos autores sugerem que o sistema de fixação biológica de N é sensível ao déficit hídrico e tem relação com o acúmulo de ureídeos em tecidos, folhas e nódulos (SINCLAIR et al., 2003; PURCELL et al., 2004; KING; PURCELL, 2005). A base dessa sensibilidade está relacionada ao fato de que os ureídeos (ácido alantóico e alantoína) são transportados a partir dos nódulos às folhas via xilema e, em condição de déficit hídrico e deficiência de manganês, a quebra dos ureídeos é prejudicada, o que pode levar ao seu acúmulo na folha. O aumento dos ureídeos das folhas pode resultar na exportação de ureídeos para os nódulos, junto com água e açúcares transportados via floema. A concentração de ureídeos aumentada nos nódulos inibe a fixação de N_2 em consequência de um efeito retroinibitório, diminui a respiração dos nódulo e o seu vigor, além de diminuir o fluxo de água para os nódulos (PURCELL et al., 2000).

King e Purcell (2005) avaliaram cultivares de soja tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico em relação à FBN. Estes autores verificaram que a cultivar Jackson, tolerante à baixa umidade no solo, apresentou baixos teores de ureídeos nas folhas; porém, a cultivar KS4895, sensível à seca, manteve teores altos de ureídeos nas folhas ou de asparagina nos nódulos. Genótipos de soja pouco tolerantes à seca acumulam mais ureídeos sob estresse hídrico; no entanto, genótipos tolerantes à seca apresentam concentrações inferiores de ureídeos na parte aérea da planta. A enzima chave envolvida na degradação dos ureídeos nas folhas é o alantoato amidohidrolase (AAH) (CHARLSON e al., 2009).

O acúmulo de ureídeos nas folhas está associado à suscetibilidade da FBN em soja ao déficit hídrico. Conseqüentemente, a degradação dos ureídeos

em folhas pode ser a chave para o aumento da tolerância da soja em solos secos com base na degradação de ureídeos na presença e ausência de Mn. Os genótipos com via de degradação Mn-dependente tendem ter a FBN suscetível à seca, e os que não exigem Mn para a degradação dos ureídeos tem FBN tolerante à seca (VALDEZ; SINCLAIR, 2001).

Os efeitos da ação da auxina e do etileno em plantas são difíceis de se separar, pois a auxina é conhecida como estimuladora do etileno. Puiatti e Sodek (1999) avaliaram o envolvimento do etileno no processo inibitório do nitrato sobre a nodulação e atividade do nódulo em soja cultivada em vasos. Os pesquisadores inocularam as plantas com *B. elkanii* e solução nutritiva contendo Cobalto (Co), aminoetoxivenilglicina (AVG) ou ácido indolacético (AIA), com e sem nitrato. Em R₄, coletaram o exsudato do xilema e avaliaram a nodulação e o crescimento das plantas. Concluíram que nem Co nem AVG foram efetivos em reverter o efeito inibitório do nitrato sobre a nodulação, sugerindo que etileno não está envolvido no processo. Entretanto, AIA a 0,01 e 1,0 mM proporcionou proteção parcial contra o efeito inibitório do nitrato sobre a nodulação.

Além de fertilizantes nitrogenados e estresses hídricos, outros componentes podem interferir no processo de fixação biológica do nitrogênio, como é o caso dos herbicidas que são amplamente utilizados na cultura da soja para controle de plantas daninhas. Arruda et al. (2001) avaliaram o efeito do herbicida sulfentrazone em diversas doses na nodulação da soja inoculada com *Bradyrhizobium* e na fixação do nitrogênio, através da determinação dos teores de alantoína, ácido alantóico e aminoácidos dos exsudatos do xilema de plantas cultivadas em vasos e em condições de casa de vegetação. Concluíram que o sulfentrazone reduz tanto a formação de nódulos quanto a fixação do N₂, e que esses efeitos são acentuados com o aumento das doses do herbicida, tanto no estágio R₃ quanto no R₅ de desenvolvimento da soja.

2.7 INIBIDORES DO ETILENO E 1-MCP

O etileno está envolvido na aceleração do amadurecimento e senescência de frutos e plantas. Em determinado estágio da maturação, o etileno se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático, e desencadeia uma série de eventos que culminam com o amadurecimento e senescência (BURG;

BURG, 1967; LELIÈVRE et al., 1997). Vários compostos são capazes de bloquear a ligação do etileno ao seu receptor na célula, causando inibição dos efeitos deste regulador vegetal. Entretanto, muitos destes compostos não são comercialmente aceitos devido à sua toxicidade (SEREK et al., 1995; PORAT et al., 1995; SISLER et al., 1996).

Dentre os compostos que inibe a ação de etileno, alguns se destacam nesse processo regulatório. Conforme Nepomuceno et al. (2007), diversas pesquisas são realizadas com o objetivo de minimizar ou causar a inibição da ação do etileno, seja no bloqueio de sua biossíntese, seja no bloqueio de sua ação, através de inibidores. Normalmente, são utilizadas substâncias químicas, tais como o aminoetoxivinilglicina (AVG) e o ácido aminoacético (AOA), que bloqueiam a conversão do S-Adenosil-metionina (Adomet) em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), atuando como inibidores de enzimas, que utilizam o co-fator piridoxal fosfato. Além desses inibidores da biossíntese de etileno, o íon cobalto atua bloqueando a conversão do ACC em etileno, que é realizada pela ACC oxidase, além dos inibidores da ação como o íon prata (nitrato de prata e tiosulfato de prata), dióxido de carbono e transciclooctano, que compete pelo receptor de etileno e é um forte inibidor. Outro composto é o 1-aminociclopropano (MCP), que age ligando-se ao receptor de etileno de forma irreversível (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O 1-Metilciclopropeno (1-MCP) é um composto volátil, que tem demonstrado ser um potente inibidor da ação do etileno e, embora seja um gás, tem sido formulado em pó, o qual libera o produto quando misturado a uma solução básica ou à água. O 1-MCP retarda a senescência de flores cortadas e de plantas envasadas quando aplicado em baixíssimas concentrações, da ordem de $nL L^{-1}$ (SEREK et al., 1995; PORAT et al., 1995; SISLER et al., 1996).

O 1-MCP compete com o etileno pelos sítios de ligação com receptores nas membranas celulares, bloqueando a ligação e a transdução do sinal desse regulador vegetal (SEREK et al., 1995; SISLER; SEREK, 1997). Conforme Argenta et al. (2001), o 1-MCP interfere na habilidade das plantas responderem ao etileno, representando importante ferramenta na regulação fisiológica. No entanto, Watkins et al. (2000) citam que as respostas à aplicação são variáveis, devendo-se testar e calibrar às condições de cada espécie e cultivar, além da região. Entretanto, inibidores da ação do etileno, como o 1-MCP, têm sido estudados e utilizados, principalmente, para retardar o amadurecimento de flores e frutos

(ARGENTA et al., 2001).

Em estudo conduzido com plantas de soja, Theisen et al. (2008) verificaram que, aplicando a condição de encharcamento ao solo, através de inundação temporária, no estágio inicial reprodutivo da cultura, houve interferência do etileno no metabolismo normal da planta, com redução da produtividade da cultura em até 21% em relação à testemunha conduzida em condições normais de cultivo. Os pesquisadores constataram que, com a aplicação de 1-Metilciclopropeno (1-MCP) nas fases R₂ e R₅, na dose de 12 g ha⁻¹, foi reduzida parte das perdas de produtividade causadas pelo efeito do estresse hídrico, com melhor resultado obtido quando a aplicação do inibidor da atividade do etileno foi durante o pleno florescimento, ou seja, no estágio reprodutivo R₂.

Pesquisas sobre o efeito de inibidores da ação do etileno em plantas estão apenas começando e em soja necessita ser comprovado.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant Soil**, v.252, p.1-9, 2003.
- APPLEBY, C. A. Leghemoglobin and Rhizobium Respiration. **Annual Review of Plant Physiology**, v.35, p. 443-478, 1984.
- ARAUJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.34, n. 9, set. 1999.
- ARGENTA, L. C.; MATTHEIS, J.; FAN, X. Retardamento da maturação de maçãs 'Fuji' pelo tratamento com 1-MCP e manejo da temperatura. **Rev. Bras. Frutic.**, v.23, n.2, p. 270-273, 2001.
- ARRUDA, J. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A. Nodulação e fixação do dinitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.36, n.2, p. 325-330, 2001.
- BERGONCI, J. I. et al. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.36, n.7, 2001.
- BODDEY, R. M. et al. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. **Soil Biol. Biochem.**, v.29, n.516, p. 787-799, 1997.
- BONATO, E. R; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil**: história e estatística. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1987, 61 p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 21).
- BURG, S. P.; BURG, E. A. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. **Plant Physiol.**, v.42, p. 144-152, 1967.
- CALVACHE, A. M.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S. Efeito de épocas de deficiência hídrica na evapotranspiração atual da cultura do feijão cv. imbabello. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.55, n.3, 1998.
- CAMPOS, B. C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N₂ por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **R. Bras. Ci. Solo**. Viçosa, v.25, p. 583-592, 2001.
- CARVALHO, L. M. et al. Disponibilidade de água no solo e crescimento de artemísia. **Hortic. Bras.**, v.21, p. 726-730, 2003.
- CASTRO, I. V. Efeitos ecotoxicológicos dos metais pesados na fixação biológica do azoto em solos contaminados industrialmente. **Silva Lusitana**, Lisboa, Portugal, v.8, p. 165-194, 2000.
- CASTRO, P. R. C.; BERGAMIN, M.; CANCIAN, M. A. E. Soja. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. (Ed.). **Ecofisiologia de cultivos anuais**. São Paulo: Editora Nobel, 1999. p. 73-90.

CHARLSON, D. V.; KORTH, K. L.; PURCELL, L. C. Allantoate amidohydrolase transcript expression is independent of drought tolerance in soybean. **J. Exp. Bot.**, v.60, n.3, p. 847-851, 2009.

CHUEIRE, L. M. O. et al. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v.27, n.5, 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Central de informações agropecuárias**. 2011. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 01 setembro 2011.

CORONEL, D. A.; MACHADO, J. A. D.; CARVALHO, F. M. A. de. Analysis of the exports competitiveness of the complex soy Brazilian from 1995 to 2006: an approach of market-share. **Rev. Econ. Contemp.**, Rio de Janeiro, v.13, n.2, 2009.

CUNHA, G. R.; BERGAMASCHI, H. Efeito da disponibilidade hídrica sobre o rendimento das culturas. In: BERGAMASCHI, H. (Coord.). **Agrometeorologia Aplicada à Irrigação**. Porto Alegre: UFRGS - Ed. Universitária, 1992. p. 85-97.

DEL CORSO, J.; SILVA, W.; DUCLÓS, L. Avaliação do processo de transmissão dos preços da soja praticados nos mercados físico brasileiro e norte-americano. **Revista de Negócios**, Blumenau, v.11, n.3, p. 61-72, 2006.

DIDONET, A. D. et al. Disponibilidade de ureídeos durante o desenvolvimento da vagem de soja inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, v.1, p. 87-91, 1989.

DIXON, R. O. D.; WHEELER, C. T. **Nitrogen fixation in plants**. New York: Chapman and Hall, 1986.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social and economic contributions. **Soil Biol. Biochem.**, v.29, p. 771-774, 1997.

EMBRAPA: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de Produção de soja – Paraná 2005**. Sistema de Produção 5. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 224 p.

EMBRAPA: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de Produção de soja - Região Central do Brasil 2011**. Sistema de Produção 14. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 255 p.

FAGAN, E. B. et al. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - Revisão. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.14, n.1, p. 89-106, 2007.

FARIAS, J. R. B. et al. Caracterização de risco climático nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Rev. Bras. Agrometeorologia**, Santa Maria, v.9, n.2, 2001.

FEHR, W. P.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames, IA: Iowa State University of Science and Technology, (Special Report 80), 1977.11 p.

FINOTO, E. L.; SEDIYAMA, T.; BARROS, H. B. Fixação Biológica de Nitrogênio e Inoculação com *Bradyrhizobium*. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de Produção e Usos da Soja**. Londrina: Editora Mecenaz, 2009. p. 59-69.

FRANCO, A. A.; BODDEY, R. M. Dr. Johanna Döbereiner: A brief biography. **Soil Biol. Biochem.**, v.29, n.5-6, 1997.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F. **Métodos de Avaliação das Condições Hídricas das Plantas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 8 p. (boletim técnico).

GUIMARÃES, C. M. et al. Infrared thermometry for drought phenotyping of inter and intra specific upland rice lines. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, v.14, n.2, 2010.

HIRAYAMA, M.; WADA, Y.; NEMOTO, H. Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. **Breeding Science**, v.56, p. 47-54, 2006.

HUNGRIA, M. Metabolismo do Carbono e do Nitrogênio nos nódulos. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 249-283.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, v.31, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja. (Circular Técnica / Embrapa Soja, n.17; Circular Técnica / Embrapa Cerrados, n. 34), 2001. 48 p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. J. **A inoculação da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 1997. (Circular Técnica / Embrapa Soja, 35; Circular Técnica / Embrapa Cerrados, 13), 1997. 28 p.

KING, C. A.; PURCELL, L. C. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiol.**, n.137, p. 1389-1396, 2005.

KORTE, L. L. et al. Irrigation of soybean genotypes during reproductive ontogeny I: agronomic responses. **Crop Sci.**, v.23, n.3, p. 521-527, 1983.

KRON, A. P.; SOUZA, G. M.; RIBEIRO, R. V. Water deficiency at different developmental stages of *Glycine max* can improve drought tolerance. **Bragantia**. Campinas, v.67, n.1, p. 43-49, 2008.

KUSS, R. C. R. **Populações de plantas e estratégias de irrigação na cultura da soja**. 2006. 81 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. Disponível em: <http://coralx.ufsm.br/ppgea/admin/dissertacoes/1409070823_Dissertacao_Rejane_Kuss.pdf>. Acesso em: 18 maio 2010.

LAZZAROTTO, J. J., HIRAKURI, M. H. **Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. (Embrapa Soja. Documentos, 319).

LELIÈVRE, J. M. et al. Ethylene and fruit ripening. **Physiologia Plantarum**. v.101, p. 727-739, 1997.

LIBARDI, P. L. **Dinâmica da Água no Solo**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2005. 347 p.

LUCCHESI, A. A. Fatores da produção vegetal. In: CASTRO, P. R. C.; FERREIRA, S. O.; YAMADA, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato, 1987, p. 1-12.

MAHAN, J. R. et al. Field performance in agricultural settings of a wireless temperature monitoring system based on a low-cost infrared sensor. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.71, n.176-181, 2010.

MORAES, R. M. A. et al. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v.41, n.5, p. 725-729, 2006.

MÜLLER, L. Fisiologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. 1.ed. São Paulo: Ital, 1981. Cap. 4, p. 109-174.

NEPOMUCENO, C. F. et al. Controle da abscisão foliar e morfogênese in vitro em culturas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb) Altschul. **Rev. Árvore**, v.31, n.5, p. 967-975, 2007.

NIELSEN, N. C; HERMAN, E. The future prospects for broadening soybean utilization by altering glycinin. In: RENARD, D.; DELLA VALLE, G.; POPINEAU, Y. (Ed.). **Plant biopolymer science: food and non-food applications**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002. p. 13-23.

NISHI, C. Y. M.; HUNGRIA, M. Efeito da reinoculação da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em um solo com população estabelecida de *Bradyrhizobium* com as estirpes SEMIA 566, 586, 5019, 5079 e 5080. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.31, p. 359–368, 1996.

NÓBREGA, J. Q. et al. Análise de crescimento do feijoeiro submetido a quatro níveis de umidade do solo. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v.5, n.3. 2001.

NUNES, F. S.; RAIMONDI, A. C.; NIEDWIESKI, A. C. Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. **Quím. Nova**. São Paulo, v.26, n.6, 2003.

PAIVA, A. S. et al. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Eng. Agríc.**, v.25, n.1, 2005.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. 275 p.

PEIXOTO, C. P. Mandioca. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. (Ed.). **Ecofisiologia de cultivos anuais**. São Paulo: Editora Nobel, 1999. p. 109-126.

PEREIRA, A. R.; VILLA NOVA, N. A.; SEDYAMA, G. C. **Evapotranspiração**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 1997. 183 p.

PORAT, R. et al. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. **Physiol. Plant.**, v.88, p. 243-250, 1995.

PROBST, A. H.; JUDD, R. W. Origin, U.S. history and development and world distribution. In: CALDWELL, B. E. (Ed.). **Soybeans: improvement, production and uses**. Madison, WI: American Society of Agronomy, 1973. 115 p.

PUIATTI, M.; SODEK, L. Ethylene and the inhibition of nodulation and nodule activity by nitrate in soybean. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.** Campinas, v.11, n.3, p. 169-174, 1999.

PURCELL, L. C.; KING, C. A.; BALL, R. A. Soybean Cultivar Differences in Ureides and the Relationship to Drought Tolerant Nitrogen Fixation and Manganese Nutrition. **Crop Sci.**, n.40, p. 1062–1070, 2000.

PURCELL, L. C. et al. Soybean N₂ fixation estimates, ureide concentration, and yield responses to drought. **Crop Sci.**, n.44, p. 484-492. 2004.

QUEIROZ, E. F. et al. Um modelo matemático de quantificação do efeito da disponibilidade hídrica em soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.31, n.10, p. 683-690, 1996.

QIU, L. J.; CHANG, R. Z. The origin and history of soybean. In: SINGH, G. (Ed.). **Soybean: Botany, Production, and Uses**. Wallingford, UK and Cambridge, USA: CAB International, 2010. p. 1-23.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 856 p.

REIS, E. H. S. et al. Suplementação de nitrogênio mineral na cultura da soja (*Glycine max*) estabelecida em sistema plantio direto e convencional. In: PROCEEDINGS OF CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. Foz do Iguaçu, 2002. **Anais...** Embrapa Soja, Londrina, 2002. p. 215.

RESENDE, A. S. et al. **O papel da fixação biológica do nitrogênio na sustentabilidade de sistemas agroflorestais**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 36 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 231).

SANJUÁN-PINILLA, J. M. **Importancia de la biosíntesis bacteriana de leucina para el establecimiento de la simbiosis Rhizobium-leguminosa**. 2001. 223 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidad de Granada, Granada, ES, 2009. Disponível em: < <http://digibug.ugr.es/handle/10481/2416>>. Acesso em: 05 jun. 2010.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**. Campina Grande, v.2, n.3, p. 287-294, 1998.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; BARROS H. B. Origem, evolução e importância econômica. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de Produção e Usos da Soja**. Londrina: Editora Mecenas, 2009. p. 59-69.

SEREK, M.; SISLER, E. C.; REID, M. S. 1-methylcyclopropene, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improved the life of fruits, cut flowers and potted plants. **Acta Horticulturae**. Wageninzen, v.394, p. 337-345, 1995.

SILVA, K. O. et al. Análise de métodos de estimativa de evapotranspiração na otimização de sistemas de drenagem. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambient**. Campina Grande, v.9, n.2, jun. 2005a.

SILVA, W. S.; SAFADI, T.; CASTRO JUNIOR, L. G. de. Uma análise empírica da volatilidade do retorno de commodities agrícolas utilizando modelos ARCH: os casos do café e da soja. **Rev. Econ. Sociol. Rural**. Brasília, v.43, n.1, mar. 2005b.

SILVEIRA, J. A. G.; COSTA, R. C. L.; OLIVEIRA, J. T. A. Drought-induced effects and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with Bradyrhizobium spp. Under moderate nitrate level. **Braz. J. Microbiol**. São Paulo, v.32, n.3, p. 187-194, 2001.

SINCLAIR, T. R. Crop yield potential and fairy tales. In: BUXTON, D. R. ET AL. (Ed.). **International Crop Science I**. Crop Science Society of America, 1993. Cap. 52, p. 707-711.

SINCLAIR, T. R.; VADEZ, V.; CHENU, K. Ureide accumulation in response to Mn nutrition by eight soybean genotypes with N₂ fixation tolerance to soil drying. **Crop Sci.**, n.43, p. 592-597, 2003.

SISLER, E. C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v.100, p. 577-582, 1997.

SISLER, E. C.; SEREK, M.; DUPILLE, E. Comparison of cyclopropene, 1-methylcyclopropene, and 3,3-dimethylcyclopropene as ethylene antagonists in plants. **Plant Growth Regulation**, v.18, p. 169-174, 1996.

SOARES, C. S. **Eficiência de estirpes de rizóbio no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi (Vigna unguiculata L. Walp.)**. 2007. 87 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2007. Disponível em: <<http://www.cca.ufpb.br/Ppga/pdf/doutorado/JeandsonSilvaViana-dr07.pdf>>. Acesso em: 06 jun. 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820 p.

TANAKA, R. T. et al. Concentração e produtividade de proteína e óleo de soja em função da adubação potássica e da calagem. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v.30, n.4, p. 463-469, 1995.

THEISEN, G. et al. **Ação de regulador do metabolismo de etileno sobre a produtividade de soja cultivada em terras baixas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 15 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 68).

THOMAS, A. L.; COSTA, J. A. Influência do déficit hídrico sobre o desenvolvimento e rendimento da soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.29, p. 1389-1396, 1994.

TORRES NETO, A. et al. Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in Carica papaya. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.14, p. 203–210, 2002.

TORRES NETO, A. et al. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, v.104, p. 199-209, 2005.

USDA – **United States Department of agriculture**. 2011. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>>. Acesso em: 30 Junho 2011.

VADEZ, V.; SINCLAIR, T. R. Leaf ureide degradation and N₂ fixation tolerance to water deficit in soybean. **J. Exp. Bot.**, v.52, n.354, p. 153-159, 2001.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Embrapa: Planaltina, 1997. 524 p.

VIANA, J. S. **Cultivares e sistemas de cultivo de soja-verde em areia - PB**. Tese (Doutorado). 2007. 139 p. Universidade Federal da Paraíba, Areia - PB, 2007.

VICTORIA, R. L.; PICCOLO, M. C.; VARGAS, A. A. T. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.105-120.

WATKINS, C. B.; NOCK, J. F.; WHITAKER, B. D. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v.19, n.1, p. 17-32, 2000.

ZAPATA, F. et al. Time course of nitrogen fixation in field-grown soybean using nitrogen-15 methodology. **Agronomy Journal**, v.79, p. 172-176, 1987.

ZILLI, J. E. et al. Eficiência simbiótica de estirpes de Bradyrhizobium isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.41, n.5, p. 811-818, maio 2006.

ZILLI, J. E. et al. Inoculação de Bradyrhizobium em soja por pulverização em cobertura. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.43, n.4, abr. 2008.

3 ARTIGO**APLICAÇÃO DE 1-METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO**

APLICAÇÃO DE 1-METILCICLOPROPENO EM SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO E SEUS REFLEXOS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

3.1 RESUMO E ABSTRACT

Resumo

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é cultivada no Brasil sob condições climáticas adversas e o fator de maior limitação para o aumento de sua produtividade é o déficit hídrico. Em plantas sob estresse, o etileno induz a abscisão prematura de folhas, flores e frutos; contudo, o 1-Metilciclopropeno (1-MCP) inibe a sua ação. O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência da aplicação de 1-MCP sobre parâmetros relacionados à fixação biológica do nitrogênio (FBN), nos estádios reprodutivos da soja, sob indução de estresse pelo déficit hídrico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade da Estadual de Londrina (PR), utilizando-se a cultivar de soja BRS-268 de crescimento determinado e cultivada em vasos. Em R₂, o 1-MCP foi aplicado em metades das unidades experimentais, em câmara plástica hermeticamente fechada. As plantas de soja foram submetidas a duas disponibilidades hídricas no vaso: condições normais de capacidade de campo (CNCC) e de déficit hídrico nos estádios reprodutivos (DHER). As parcelas sob DHER receberam 50% do volume de água das parcelas sob CNCC. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x2) com oito repetições, com tratamentos compostos por duas disponibilidades hídricas (CNCC e DHER) e duas formas de aplicação de 1-MCP (com e sem 1-MCP). As avaliações foram realizadas nos estádios reprodutivos R₂ e R₃ pelas quantificações de: conteúdo de umidade e de potencial hídrico do solo; temperatura, condutância estomática e índice de clorofila das folhas; massa da matéria seca da parte aérea e das raízes; índice da área foliar; número e massa de nódulos; teores de ureídeos; e teor de N foliar. Em R₈, foram quantificados: número de sementes e de vagens; e massa de sementes por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de significância. Em R₂, a aplicação de 1-MCP sob déficit hídrico elevou a temperatura foliar (1,34%) e os teores de ácido alantóico (62,87%); o déficit hídrico reduziu o potencial hídrico do solo, a condutância estomática (97,40%), o índice de clorofila (5,19%) e o nitrogênio foliar (7,82%); porém aumentou a temperatura foliar (11,30%) e o teor de ácido alantóico (62,87%). Em R₃, sob efeito da aplicação de 1-MCP aumentou o número de nódulos (37,31%) e o teor de ácido alantóico (57,30%). O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico do solo, a condutância estomática (93,18%), o índice de área foliar (21,96%), o número de nódulos (39,51%), a massa seca de nódulos (42,82%) e a massa seca da parte aérea (23,27%); além disso, aumentou a temperatura foliar (8,93%) e o teor de nitrogênio foliar (12,88%). Em R₈, o déficit hídrico reduziu o número de vagens (14,47%), o número de sementes (12,16%) e a massa de sementes por planta (12,22%). A aplicação de 1-MCP em plantas de soja sob déficit hídrico minimiza alguns dos reflexos negativos à FBN; contudo, não se obtém efeito positivo nos componentes de produção.

Palavras – chave: 1-MCP. *Bradyrhizobium*. Estresse hídrico. FBN. *Glycine max*. Nodulação.

1-METHYLCYCLOPROPENE APPLICATION IN SOYBEAN UNDER WATER DEFICIT AND ITS EFFECTS ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION

Abstract

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is grown in Brazil under adverse weather conditions and the main limitation factor for increased productivity is the water deficit. In stressed plants, ethylene induces premature abscission of leaves, flowers and fruits, however the 1-methylcyclopropene (1-MCP) inhibits its action. This study aimed at evaluating the efficiency of application of 1-MCP on parameters related to biological nitrogen fixation (BNF) during the reproductive stages of soybean under stress induced by water deficit. The experiment was conducted in a greenhouse at the State University of Londrina (PR), using the soybean cultivar BRS-268 classified as determinate in growth and grown in pots. In R_2 , 1-MCP was applied on a half experimental units, in sealed plastic chamber. Soybean plants were subjected to two water availability in pots: normal field capacity (NFC) and water deficit in reproductive stages (WDRS). The plots in WDRS received 50% of the volume of water from plots under NFC. The experimental design was completely randomized in factorial scheme (2x2) with eight replications, with treatments consisting of two water availability (NFC and WDRS) and two forms of application of 1-MCP (with and without 1-MCP). Evaluations were performed during the reproductive stages R_2 and R_3 by measurements of: moisture content and soil water potential, temperature, stomatal conductance and chlorophyll content of leaves, dry mass of shoots and roots, leaf area index; number and nodule weight, content of ureides, and leaf N content. In R_8 , were measured: the number of seeds and pods, and seed mass per plant. The data were submitted to ANOVA and Tukey test at 5% significance level. In R_2 , the application of 1-MCP under water deficit increased the leaf temperature (1.34%) and the concentration of allantoic acid (62.87%), water deficit reduced the soil water potential, stomatal conductance (97.40%), chlorophyll content (5.19%) and foliar nitrogen (7.82%) but increased the leaf temperature (11.30%) and allantoic acid content (62.87%). In R_3 , under effect of 1-MCP increased the number of nodules (37.31%) and allantoic acid content (57.30%). The water deficit reduced the soil water potential, stomatal conductance (93.18%), the leaf area index (21.96%), the number of nodules (39.51%), dry weight of nodules (42.82%) and dry mass of shoots (23.27%) and, moreover, increased leaf temperature (8.93%) and leaf N content (12.88%). In R_8 , water deficit reduced the number of pods (14.47%), the number of seeds (12.16%) and seed mass per plant (12.22%). The application of 1-MCP in soybean plants under water deficit minimizes some of the negative consequences to the BNF, however, does not obtain a positive effect on yield components..

Key – words: 1-MCP. BNF. *Bradyrhizobium*. *Glycine max*. Nodulation. Water stress.

3.2 INTRODUÇÃO

O sucesso da cultura da soja (*Glycine max* (L) Merril) no Brasil está associado à eficiência das bactérias fixadoras de N_2 (FBN), quando em simbiose

com a planta (DÖBEREINER, 1997; HUNGRIA et al., 2001). O nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja, considerando-se o alto teor de 40% de proteína em média no grão. Para se produzir 3000 kg ha⁻¹ de sementes de soja é necessário aplicar cerca de 1100 kg de uréia (44% de N) ou 2400 kg de sulfato de amônio (20% de N) para atender as necessidades produtivas da cultura, em razão da eficiência dos fertilizantes industrializados serem 50% menor que a eficiência da FBN. Além das vantagens ambientais e sociais, o custo financeiro para a inoculação das sementes é extremamente baixo (HUNGRIA et al., 2007; FINOTO et al., 2009).

Zilli et al. (2008) verificaram o rendimento de grãos de 3680 kg ha⁻¹ e acúmulo de nitrogênio em grãos de soja de 210,9 kg ha⁻¹ com sementes inoculadas, contra 3218 kg ha⁻¹ e 180,3 kg ha⁻¹, respectivamente, para tratamento com aplicação de 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio mineral.

A fixação do N₂ é garantida por um eficiente sistema vascular no interior do nódulo, que supre as bactérias fixadoras com nutrientes constituídos na fosforilação oxidativa dos produtos elaborados nas folhas pela fotossíntese. Por outro lado, os bacteróides fixam o N₂ por meio da enzima nitrogenase, reduzindo-o à amônia (NH₃). Em seguida, a amônia fixada é assimilada na forma de ureídeos, os quais têm sua origem intermediada pela glutamina sintetase (GS) e pela glutamato sintase (GOGAG). Aproximadamente, 90% do nitrogênio total presente na seiva do xilema da soja é translocado na forma de ureídeos em direção à parte aérea da planta (VARGAS; HUNGRIA, 1997). Contudo, a quantidade e o número de nódulos por sistema radicular diferem de planta para planta, mudando em função das diversas variáveis envolvidas no cultivo da soja, notadamente pelo estresse hídrico (PURCELL et al., 2004; VIANA, 2007).

Sob condições adversas, podem ocorrer alterações na eficiência da FBN em soja. Hungria (1994) relata que o declínio da atividade fixadora do N₂, sob condições de estresse, por temperatura elevada ou por baixa umidade do solo, está relacionado com o decréscimo da capacidade fotossintética da planta hospedeira ou com a ineficiência do complexo da nitrogenase. Diversos autores sugerem que o sistema de fixação biológica de N é sensível ao déficit hídrico e tem relação com o acúmulo de ureídeos em folhas e nódulos (SINCLAIR et al., 2003; PURCELL et al., 2004; KING; PURCELL, 2005). A base dessa sensibilidade está relacionada ao fato de que, os ureídeos (ácido alantóico e alantoína) são transportados a partir dos

nódulos às folhas via xilema e, em condição de déficit hídrico e deficiência de manganês, a quebra dos ureídeos é prejudicada, o que pode levar ao seu acúmulo na folha. O aumento dos ureídeos nas folhas pode resultar na sua reexportação para os nódulos, junto com água e açúcares transportados via floema. O aumento da concentração de ureídeos nos nódulos inibe a fixação de N_2 , diminui a respiração e o vigor, além de prejudicar o fluxo de água para os nódulos (PURCEL et al., 2000).

A deficiência hídrica em plantas ocorre quando a taxa de transpiração foliar é maior que a capacidade de absorção radicular de água, e é caracterizada pela diminuição dos teores de água nos tecidos, pela perda de turgescência foliar e pelo fechamento dos estômatos (TAIZ; ZEIGER, 2009). A limitação da expansão na área foliar pode ser a primeira reação fisiológica em plantas submetidas ao déficit hídrico (SANTOS; CARLESSO, 1998), com consequente limitação ao rendimento da cultura (NÓBREGA et al., 2001).

Thomas e Costa (1994) verificaram que o número de legumes por planta de soja e a massa de sementes foram os componentes mais afetados pelo déficit hídrico. Observaram, também, que o maior índice de área foliar e o maior período de enchimento de grãos proporcionaram maiores rendimentos de sementes no tratamento sem déficit hídrico.

O déficit hídrico provoca o fechamento parcial dos estômatos, reduz a transpiração e aumenta a temperatura das folhas expostas à radiação solar (GUIMARÃES et al., 2010), sendo possível correlacionar a temperatura foliar com a taxa de transpiração e de fotossíntese, além de ser um indicador eficiente das condições hídricas da planta (HIRAYAMA et al., 2006). Paiva et al. (2005) verificaram em folhas de feijoeiro que a resposta dos estômatos ao déficit hídrico é possível de ser determinada com porômetros que medem o fluxo de ar através das folhas. Estes autores observaram redução da condutância estomática em resposta aos baixos valores de potencial hídrico do solo e consequente aumento da condutância estomática em resposta aos altos valores de potencial hídrico.

Em soja, os dois períodos mais sensíveis ao déficit hídrico são germinação-emergência e floração-enchimento de grãos, porque envolvem diretamente a formação dos componentes do rendimento, tais como o número de plantas por área, o número de vagens por planta, o número de grãos por vagem e a massa média de grãos (CUNHA; BERGAMASCHI, 1992; EMBRAPA, 2010). Em condição de campo, déficits hídricos prolongados causam mudanças na condição

fisiológica na planta, como o fechamento dos estômatos e o enrolamento dos folíolos, causado pela desidratação dos tecidos. Como consequência, a redução da transpiração pode provocar a queda prematura das folhas, flores e legumes, gerando uma diminuição do rendimento da cultura (EMBRAPA, 2010). A queda de folhas, flores e vagens se dá devido à formação do ácido abscísico (ABA) e, conseqüentemente, a produção de etileno. Durante períodos de estresse hídrico, o nível de ABA aumenta, causando o fechamento dos estômatos em poucos minutos para diminuir a transpiração foliar, o que ocorre devido à perda de solutos das células-guarda, que ficam desidratadas. Essa perda começa quando o ABA produzido nas células do mesófilo atinge os estômatos (RAVEN et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009).

O etileno está envolvido na aceleração do amadurecimento e senescência de frutos e plantas. Em determinado estágio da maturação, o etileno se liga ao seu receptor na célula, um complexo protéico-enzimático, e desencadeia uma série de eventos que culminam com o amadurecimento e senescência (BURG; BURG, 1967; LELIÈVRE et al., 1997). Vários compostos são capazes de bloquear a ligação do etileno ao seu receptor, causando inibição dos seus efeitos. Entretanto, muitos destes compostos não são comercialmente aceitos devido à sua toxicidade. O 1-Metilciclopropeno (1-MCP) é um composto gasoso que compete com o etileno pelos sítios de ligação com receptores nas membranas celulares. O 1-MCP une-se na membrana aos receptores do etileno, bloqueando a sua ligação e a transdução do sinal (SEREK et al., 1995; SISLER; SEREK, 1997). Embora o 1-MCP seja um gás, tem sido formulado em pó, o qual é liberado quando misturado a uma solução básica ou à água. O 1-MCP retarda a senescência de flores cortadas e de plantas envasadas quando aplicado em baixíssimas concentrações, na ordem de $nL L^{-1}$ (SEREK et al., 1995; PORAT et al., 1995; SISLER et al., 1996).

Em estudo conduzido com plantas de soja, Theisen et al. (2008) verificaram que aplicando a condição de encharcamento ao solo, por inundação temporária, no estágio reprodutivo inicial da cultura, houve redução da produtividade da cultura em até 21% em relação à testemunha conduzida em condições normais de cultivo. Os pesquisadores constataram que, com a aplicação de 1-MCP nos estádios R_2 e R_5 , na dose de $12 g ha^{-1}$, foi reduzida parte das perdas de produtividade causadas pelo efeito do estresse hídrico, com melhor resultado obtido

quando a aplicação do inibidor da atividade do etileno foi durante o pleno florescimento.

Conforme Argenta et al. (2001), o 1-MCP interfere na habilidade das plantas responderem ao etileno, representando importante ferramenta na regulação fisiológica. No entanto, Watkins et al. (2000) citam que as respostas à aplicação são variáveis, devendo-se testar e calibrar às condições de cada espécie, cultivar e região.

Estudos são necessários para validar novas tecnologias aplicadas sobre o desenvolvimento das plantas, principalmente na associação planta-bactéria, como é o caso da planta de soja e das bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

A presente pesquisa sugere que a aplicação de 1-MCP em soja, no estágio de florescimento pleno, minimiza os efeitos do estresse hídrico na FBN, com consequências ao desenvolvimento da planta e componentes de produção. Assim, o objetivo foi avaliar a eficiência da aplicação de 1-Metilciclopropeno sobre a fixação biológica do nitrogênio nos estádios reprodutivos da soja sob indução de estresse por déficit hídrico.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Ensaio, Genótipo e Instalação do Experimento

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, Paraná, durante o período de fevereiro a junho de 2010. A cultivar de soja utilizada no experimento foi a BRS-268 por apresentar as seguintes características: hábito de crescimento determinado, ampla faixa de adaptação de cultivo e pouca sensibilidade ao fotoperíodo.

Cada unidade experimental constou de um vaso de barro com capacidade para cinco litros, com furos pré-existent em sua base para permitir a drenagem de água; e uma tela porosa para evitar a perda de substrato. Cada vaso recebeu cinco kg de um substrato na proporção 3:1, contendo, respectivamente, solo coletado de um campo de soja da camada superficial (0-0,20 m) de um Latossolo Vermelho de textura argilosa, para maior representatividade das condições químicas e biológicas do solo que ocorrem no campo; e material orgânico

na forma de bagacilho de cana compostado e areia (1:1), como condicionador físico do solo.

Conforme resultados da análise química de solos (Tabela 3.1), foram incorporados ao substrato confinado nos vasos duas g de cloreto de potássio (KCl) e seis g de superfosfato simples (SFS) por dm^{-3} de solo antes da semeadura.

Tabela 3.1 – Resultado da análise química para fins de fertilidade de um substrato contendo, respectivamente, a proporção de 3:1 de um Latossolo Vermelho distroférico, coletado de um campo de soja (0-0,20 m); e, bagacilho de cana compostado e areia (1:1)

pH CaCl ₂	MO%	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Al ⁺³	H ⁺ +Al ⁺³	P
Cmol _c dm ⁻³							mg dm ⁻³
5,8	2,3	4,6	1,6	1,1	-	2,5	57,8

Análise Química de Solos - IAPAR (PAVAN et al., 1992). Substrato com teor de argila >40%.

As sementes de soja foram tratadas com um inoculante contendo 10^9 células por grama de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* contendo as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5080. Foram semeadas quatro sementes por vaso, que durante o estágio V₂ de desenvolvimento vegetativo foram desbastadas para duas plantas.

3.3.2 Indução ao Déficit Hídrico e Aplicação de 1-MCP

As plantas de soja das unidades experimentais se desenvolveram com umidade na capacidade de campo até 32 DAE, ocasião do início da fase reprodutiva R₂. A partir de 33 DAE, dia anterior ao da aplicação única de 1-Metilciclopropeno (1-MCP), metade das unidades passaram a sofrer o regime de restrição de água e a outra metade foi conduzida em condições ótimas de umidade no solo até 37 DAE. No dia seguinte (38 DAE) um terço das unidades foram desmontadas para as suas avaliações e o regime de deficiência hídrica permaneceu para metade dos dois terços restantes até 46 DAE. Em R₃, mais um terço dos vasos foram desmontados e, a partir de 47 DAE, o terço restante permaneceu em regime normal de fornecimento de água até a maturação plena.

Nos vasos, durante o período de avaliação em R₂ e R₃, as plantas foram submetidas a duas diferentes condições de disponibilidade hídrica: condição

normal de capacidade de campo (CNCC) e de déficit hídrico nos estádios reprodutivos (DHER). O conteúdo de água aplicado ao tratamento com DHER foi de 50% em relação ao tratamento com CNCC, durante os períodos de avaliação.

As disponibilidades hídricas foram determinadas a partir de valores obtidos em teor de água, com base no volume ($\text{cm}^3 \text{H}_2\text{O cm}^{-3}$ solo), capacidade de campo e ponto de murcha permanente. Foi obtida a massa de água de cada vaso em kg, que correspondeu a esses valores em volume, e estabelecida a massa de água em déficit hídrico (DHER), correspondente a 50% da massa de água da capacidade de campo aplicada em 80% para os tratamentos em CNCC. As massas de água estipuladas para cada vaso, nas duas disponibilidades hídricas, foram mantidas constantes pela determinação diária e pelo acréscimo até o seu conteúdo correspondente.

Nos estádios R_2 (37 DAE) e R_3 (46 DAE), para determinar o potencial hídrico do solo subsuperficial, expresso em MPa, foi utilizado um equipamento de medição do potencial hídrico (*WP4 – Water Potencial Meter, Decagon Devices, Inc*).

A aplicação de 1-MCP foi realizada em área isolada e fora da casa de vegetação um dia após o início do estresse hídrico em R_2 . Para a aplicação do produto, uma câmara plástica hermeticamente fechada foi utilizada para isolar o tratamento. Outra câmara foi utilizada para o tratamento controle para que as mesmas condições fossem simuladas. O 1-MCP foi aplicado na dose de 6,4 g do produto em pó, dissolvido em 75 mL de água deionizada.

Considerando-se a quantidade do produto, sua pressão de vapor e o volume da câmara, estimou-se uma concentração de gás 1-MCP na atmosfera de 1000 ppb, que foi disperso utilizando-se pequenos ventiladores à pilha. Decorridos 15 horas da aplicação, os vasos retornaram à casa de vegetação, mantendo-se as condições de déficit hídrico para metade das unidades por um período de 3 dias até o início das avaliações em R_2 (37 DAE), e por mais 12 dias para metade do restante das unidades até o início das avaliações em R_3 (46 DAE). Para confirmar a efetiva absorção do produto, foram utilizados frutos de tomates verdes como bioindicadores, os quais foram mantidos dentro da câmara junto com as plantas de soja. Os frutos de tomate em contato com 1-MCP apresentaram maturação retardada.

Os tratamentos foram duas condições de disponibilidade hídrica (CNCC e DHER) em combinação com a aplicação ou não de 1-MCP na fase R_2 e

avaliação da plantas nas fase R₂, R₃ e R₈, em 8 repetições para cada fase de desenvolvimento.

3.3.3 Variáveis Analisadas

3.3.3.1 N-ureídeo (alantoína e ácido alantóico)

Nas fases reprodutivas de desenvolvimento da soja, predeterminadas em R₂ e R₃, as partes aéreas das plantas foram seccionadas próximas ao nó cotiledonar. Na secção, foi deixada uma parte do caule ainda unido ao sistema radicular, para que fossem acopladas ponteiras com capacidade para 200 µL. As ponteiras serviram para armazenar o exsudato translocado das raízes via xilema. Todas as unidades experimentais receberam um aporte de 1,2 L de água ao final da tarde do dia anterior para garantir a exsudação da seiva, que foi coletada com o auxílio de micropipeta durante o período da manhã do dia seguinte. As amostras foram acondicionadas em microtubos de 200 µL, e armazenadas à temperatura de 0 °C, e depois congeladas a -15 °C, até o momento das análises.

Os teores de ureídeos, correspondentes a alantoína e ao ácido alantóico do exsudato do xilema das plantas foram quantificados pela técnica de Vogels e van der Drift (1970), descrita em Hungria (1994). A técnica baseia-se no princípio da hidrólise seletiva (ácida ou alcalina) dos ureídeos a glioxilato, o qual é quantificado colorimetricamente após a reação Rimini-Schryver. Brevemente, alíquotas de 2 a 5 µL de seiva, em duplicata, foram submetidas a uma sequência de hidrólise alcalina e hidrólise ácida, para a quantificação de alantoína. Para a quantificação de ácido alantóico, outra alíquota de seiva, em duplicata foi submetida apenas à hidrólise ácida. Obtidos os produtos de hidrólise, estes foram quantificados colorimetricamente após reação com fenilhidrazina e ferricianeto de potássio, formando um cromóforo de coloração rosa, cuja intensidade foi lida a 535 nm em espectrofotômetro. As leituras de absorbância foram convertidas em nM de alantoína ou ácido alantóico contra uma reta padrão construída para cada conjunto de análises. Os resultados foram expressos em nM de alantoína ou ácido alantóico na seiva.

3.3.3.2 Massa e número de nódulos

Após a retirada da seiva, os vasos foram desmontados, as raízes foram lavadas e os nódulos foram contados para cada planta. Na sequência, após secagem em estufa a 60 °C, até massa constante, os nódulos tiveram suas massas determinadas em mg por uma balança digital de precisão.

3.3.3.3 Características fisiológicas e agronômicas das plantas

Na manhã do dia anterior ao do corte das plantas para a coleta da seiva, foram realizadas as seguintes determinações não destrutivas: índice de clorofila (IC), determinado por um aparelho eletrônico portátil medidor de clorofila (*ClorofiLOG CFL1030 - Falker*); condutância estomática (CE), determinada pela utilização de um porômetro foliar eletrônico portátil (*Leaf Porometer Model SC-1 - Decagon Devices, Inc*); temperatura foliar (TF), determinada por um termômetro portátil de Infravermelho à laser (*termômetro Mira Laser - Incoterm*). As avaliações foram realizadas na parte aérea das plantas no folíolo central do trifólio do sexto nó do caule principal, a partir da base (folhas unifolioladas) nos estádios R₂ (37 DAE) e R₃ (46 DAE).

Após o corte das plantas, as partes aéreas tiveram sua área foliar (AF) determinada em R₂ e R₃, por equipamento medidor de área foliar de bancada (*Area Meter, Li-3100*). O índice de área foliar (IAF) foi a relação funcional existente entre a área foliar e a área do terreno ocupado pela cultura (área da superfície do vaso). Na sequência, as partes aéreas e radiculares foram separadas para secagem em estufa a 60 °C, até massa constante, e determinação da massa seca em g por planta.

Ao atingirem a maturação plena em R₈, as plantas de soja tiveram a sua produção determinada pela massa em g de sementes, após a secagem em estufa a 60 °C, até massa constante, e correção da umidade a 13%, além da determinação do número de sementes e do número de vagens por planta.

3.3.3.4 Teor de nitrogênio total nas folhas

Para as fases reprodutivas R_2 e R_3 , foi determinado o teor de N total contido nas folhas coletadas de plantas de soja pelo método Kjeldahl, descrito por Tedesco et al. (1995). Os resultados foram expressos em g kg^{-1} na base seca.

3.3.4 Metodologia Estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2×2 com oito repetições. Foram consideradas duas disponibilidades hídricas: sem déficit hídrico (CNCC) e com déficit hídrico (DHER), em combinação com os tratamentos com 1-MCP e sem 1-MCP, em 3 estádios de desenvolvimento da planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de significância.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias apresentadas na Tabela 3.2 referem-se aos quatro tratamentos nos três estádios reprodutivos de desenvolvimento R_2 , R_3 e R_8 , em que foram realizadas as determinações em plantas de soja cultivadas em vasos.

Em R_2 , foi determinado o conteúdo de água presente no solo, em que os tratamentos com déficit hídrico (DHER) apresentaram teores de 0,63 kg e 0,70 kg, o que resultou em potenciais hídricos com valores de -4,23 MPa e de -2,71 MPa, respectivamente, identificando-se com esses potenciais que as plantas estavam sob regime de déficit hídrico. Entre as plantas que permaneceram em condições normais de capacidade de campo (CNCC), o potencial hídrico foi de -0,01 MPa, sob o efeito dos conteúdos médios de 1,52 kg e 1,47 kg de água no solo dos vasos (Tabela 3.4).

Da mesma forma, observou-se em R_3 a efetividade dos regimes aplicados, em que, para os tratamentos sob DHER, os conteúdos de água foram de 0,49 kg e 0,44 kg, com respectivos potenciais hídricos de -11,70 MPa e -13,33 MPa, dos solos coletados nas subsuperfícies dos vasos, constatando-se que as plantas estavam sob déficit hídrico. Os tratamentos sob CNCC apresentaram potenciais hídricos menores que 1 MPa, ou seja, ficaram com médias de -0,46 MPa e -0,88

MPa, com conteúdo de 0,80 kg e 0,79 kg, respectivamente, identificando-se a presença de regime normal de fornecimento de água aplicado nos vasos naquele momento (Tabela 3.8).

Em relação à temperatura foliar, foi constatado nos dois estádios reprodutivos iniciais que as plantas em condição de DHER apresentaram, em média, cerca de 3 °C a mais que os tratamentos sob CNCC (Tabela 3.2).

A determinação da condutância estomática apresentou ser um método eficaz na avaliação, comparativamente, das condições hídricas das plantas (Tabela 3.2). Em R₂, os tratamentos com DHER apresentaram os valores de 15,56 e 35,35 mmol m²s, contra os valores de 865,60 e 1096,66 mmol m²s para os tratamentos sob CNCC (Tabela 3.2). Em R₃, foi identificado fechamento acentuado dos estômatos nas condições de DHER em relação a CNCC, em que os valores foram de 1,18 e 4,33 mmol m²s contra 47,29 e 33,46 mmol m²s, respectivamente.

O índice de clorofila total apresentou diferença média numérica entre DHER e CNCC em cerca de dois índices superior para o tratamento com irrigação completa, o que promoveu efeito significativo em R₂ (Tabela 3.3). Porém no estádio R₃ essa diferença média foi de apenas 0,4, sem efeito significativo (Tabelas 3.2 e 3.7).

A Tabela 3.2 apresenta ainda as médias dos componentes das plantas avaliadas em R₂ e R₃, ou seja, os nódulos das raízes, a massa seca das raízes e da parte aérea, o índice de área foliar, os teores de ureídeos (alantoína e ácido alantóico) e o teor de nitrogênio total das folhas. Essas variáveis estão ligadas a eficiência da FBN e do desenvolvimento das plantas sob efeito da aplicação de 1-MCP e do déficit hídrico em soja.

No estádio R₈, as médias dos tratamentos sob DHER para a massa de sementes por planta foram de 8,98 g e 8,55 g contra 10,06 g e 9,90 g para os tratamentos sob CNCC. Para a variável, número de vagens por planta, os valores foram de 21,75 e 21,94 para os tratamentos sob CNCC e 19,06 e 18,31 para DHER, respectivamente. O número de semente por planta também foi maior sob CNCC com 46,13 e 44,81 contra 40,44 e 39,44 sob DHER (Tabela 3.2). Ambos apresentaram efeito significativo sob déficit hídrico; contudo, a massa por semente em gramas não apresentou diferença significativa (Tabelas 3.11 e 3.12).

Tabela 3.2 – Médias das determinações realizadas nos estádios reprodutivos R2, R3 e R8 em plantas de soja da cultivar BRS-268, cultivadas em vasos, sob os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP. Universidade Estadual de Londrina. Fev.-Jun. 2010.

Estresse	1-MCP	TF (°C)	CE (mmol m ² s)	NNP	MSNP (mg)	MSN (mg)	MSR (g)	MSPA (g)	IC	CAV (kg)	ALAN (nM)	ACAL (nM)	NF (g kg ⁻¹)	IAF	Ψ _w (MPa)
Estádio reprodutivo R₂															
DNHR	Com	30,80	15,56	45,69	71,63	1,48	0,93	5,38	36,28	0,63	7,42	7,18	48,15	3,79	-4,23
DNHR	Sem	29,51	35,35	35,63	50,25	1,15	0,78	4,29	36,08	0,70	4,51	2,57	47,76	3,09	-2,71
CNCC	Com	26,84	865,69	42,44	58,69	1,28	0,84	4,81	38,88	1,52	3,50	2,56	53,59	3,43	-0,01
CNCC	Sem	27,35	1096,66	38,06	67,06	1,48	0,70	4,46	37,43	1,47	6,16	3,43	50,46	3,20	-0,01
Estádio reprodutivo R₃															
DNHR	Com	34,10	1,18	50,00	127,75	2,57	1,21	5,98	35,51	0,49	8,90	12,44	38,97	4,17	-11,70
DNHR	Sem	34,71	4,33	31,50	102,25	2,90	1,30	5,37	37,93	0,44	9,40	11,43	40,60	3,78	-13,33
CNCC	Com	31,79	47,29	75,13	246,88	3,27	1,56	7,38	36,23	0,80	10,42	15,35	36,06	5,08	-0,46
CNCC	Sem	31,38	33,46	59,63	155,38	2,80	1,38	7,40	38,01	0,79	5,42	6,24	34,43	5,11	-0,88
Estresse	1-MCP	Massa Sementes/Planta (g)				Número Vagens/Planta			Número Sementes/Planta			Massa/Semente (g)			
Estádio reprodutivo R₈															
DNHR	Com	8,98				19,06			40,44			0,22			
DNHR	Sem	8,54				18,31			39,44			0,22			
CNCC	Com	10,06				21,75			46,13			0,22			
CNCC	Sem	9,90				21,94			44,81			0,22			

Legenda: DNHR= déficit hídrico no estádio reprodutivo. CNCC= condição normal de capacidade de campo. 1-MCP = 1-metilciclopropeno; TF= temperatura foliar em graus Celsius; CE= condutância estomática em mmol m²s; NNP= número de nódulos por planta; MSNP= massa seca de nódulos por planta; MSN= massa seca por nódulo; MSRP= massa seca das raízes por planta; MSPA= massa seca da parte aérea por planta; IC= índice de clorofila; CAV= conteúdo de água por vaso em kg; ALAN= alantoína; ACAL= ácido alantóico; NF= nitrogênio foliar; IAF= índice de área foliar; Ψ_w= potencial hídrico em MPa (megapascal).

A aplicação de 1-MCP afetou significativamente a temperatura foliar e os teores de ácido alantóico. O estresse hídrico no vaso influenciou de forma significativa a temperatura foliar, a condutância estomática, o índice de clorofila, o conteúdo de água nos vasos, o teor de ácido alantóico, o teor de nitrogênio foliar e o potencial hídrico no estágio R₂ (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 – Análise de variância das determinações efetuadas no solo dos vasos e nos componentes de produção das plantas de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R₂.

Características avaliadas	Estresse	1-MCP	Estresse x 1-MCP	CV (%)
Temperatura foliar (°C)	*	*	*	1,80
Condutância estomática (mmol/m ² s)	*	NS	NS	3,91
Número de nódulos	NS	NS	NS	56,02
Massa seca de nódulos (mg)	NS	NS	NS	82,40
Massa unitária de nódulos (mg)	NS	NS	NS	52,62
Massa seca das raízes (g)	NS	NS	NS	32,89
Massa seca da parte aérea (g)	NS	NS	NS	25,42
Índice de clorofila (IC)	*	NS	NS	6,15
Conteúdo de água (kg)	*	NS	NS	85,56
Alantoína (nM)	NS	NS	NS	85,56
Ácido alantóico (nM)	*	*	*	60,75
Nitrogênio foliar (g kg ⁻¹)	*	NS	NS	7,71
Índice de área foliar (IAF)	NS	NS	NS	22,92
Potencial hídrico (MPa)	*	NS	NS	96,54

NS = Não significativo * = Significativo a 5% pelo teste F

A redução do conteúdo de água diminuiu o potencial hídrico do solo no estágio R₂. A porcentagem média de água nos vasos dos tratamentos sob DHER foi de 45%, em relação à CNCC. A avaliação do potencial hídrico possibilitou a identificação da efetividade dos regimes de irrigação aplicados (Tabela 3.4).

Tabela 3.4 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o conteúdo de água (kg) disponível em vasos e do potencial hídrico (MPa) do solo subsuperficial, com soja no estádio R2.

Conteúdo de água	DBER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	0,63	1,52	1,07 A
Sem 1-MCP	0,70	1,47	1,09 A
Médias	0,67 b	1,49 a	1,08
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,833		E x M = 0,370
DMS (média) = 0,14	DMS (interação) = 0,20		
Potencial hídrico do solo	DBER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	-4,23	-0,01	-2,12 A
Sem 1-MCP	-2,71	-0,01	-1,36 A
Médias	-3,47 a	-0,01 b	-1,74
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,212		E x M = 0,214
DMS (média) = 1,22	DMS (interação) = 1,72		

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey $p < 0,05$). Legenda: DBER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

A aplicação de 1-MCP influenciou, significativamente, a temperatura foliar, elevando-a sob o efeito do déficit hídrico (1,34%) no estádio R₂. Temperaturas elevadas em folhas de plantas podem sugerir uma condição de estresse. As temperaturas foliares de 30,80 °C e de 29,61 °C foram influenciadas pelo conteúdo de água no vaso de 0,63 kg e 0,70 kg, que resultaram em potencial hídrico de -4,23 MPa e -2,71 MPa, respectivamente, sob déficit hídrico. Ficou evidenciado o efeito do déficit hídrico sobre a temperatura foliar, com consequente aumento significativo em 11,30% (Tabelas 3.4 e 3.5). Guimarães e Stone (2008) observaram que esse efeito se deve à absorção de calor da superfície foliar pelo processo de transformação da água do estado líquido ao gasoso, que é tanto maior quanto maior a transpiração. Esse fato também foi verificado por Nascimento et al. (2011), em que sob déficit hídrico, aplicando-se aproximadamente metade da lâmina requerida pelo feijão-caupi, aumentou em 11,70% a temperatura das folhas.

A principal rota para a troca gasosa entre planta e a atmosfera ocorre através dos estômatos. A variação na abertura dos estômatos afeta a taxa de transpiração e o balanço de energia das plantas. Essa variação afeta também a taxa fotossintética líquida, por comprometer a troca de CO₂ e, conseqüentemente, a FBN. O efeito do déficit hídrico no solo dos vasos diminuiu significativamente a condutância estomática em 97,40% no estádio R₂ (Tabela 3.5). Os dados obtidos por Nascimento et al. (2011) corroboram os deste estudo, em que verificaram em feijão-caupi sob déficit hídrico, a redução da condutância estomática em 72%.

Condição também verificada por Paiva et al. (2005) que observaram em feijoeiro a redução da condutância estomática em resposta aos baixos potenciais hídricos no solo.

O índice de clorofila permite avaliar o índice de intensidade da cor verde em várias espécies de plantas. A perda de pigmentos é um indicador visível de eventos como deficiência hídrica. O índice de clorofila foi reduzido, significativamente, em 5,19% sob efeito do déficit hídrico no solo dos vasos no estádio R₂ (Tabela 3.5). Porém, Carvalho et al. (2003) relatam que, de acordo com o déficit hídrico, clorofilômetros não identificam a condição de estresse das folhas das plantas.

Tabela 3.5 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre a temperatura foliar (°C), a condutância estomática foliar (mmol/m²s) e o índice de clorofila foliar (IC) em plantas de soja no estádio R₂.

Temperatura foliar	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	30,80 a A	26,83 b A	28,81 A
Sem 1-MCP	29,61 a B	27,35 b A	28,43 B
Médias	30,15 a	27,09 b	28,62
p>F	Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,042	E x M < 0,001
DMS (média) = 0,37		DMS (interação) = 0,53	
Condutância estomática	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	15,56	865,68	440,62 A
Sem 1-MCP	35,35	1096,66	556,00 A
Média	25,45 b	981,17 a	63,20
p>F	Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,274	E x M = 0,355
DMS (média) = 230,36		DMS (interação) = 325,77	
Índice de clorofila	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	36,27	38,87	37,57 A
Sem 1-MCP	36,07	37,42	36,75 A
Médias	36,17 b	38,15 a	37,16
p>F	Estresse (E) < 0,021	1-MCP (M) = 0,316	E x M = 0,445
DMS (média) = 1,66		DMS (interação) = 2,34	

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey p<0,05). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

Em soja o N₂ fixado é transportado dos nódulos para as partes aéreas da planta na forma de ureídeos. King e Purcell (2005) e Sinclair et al. (2003) sugerem que o acúmulo de ureídeos em folhas e nódulos tem relação com a sensibilidade da FBN quando sob efeito de déficit hídrico. Na Tabela 3.6, é verificado o aumento do teor de ácido alantóico em 62,87% sob efeito de deficiência hídrica no solo. A aplicação de 1-MCP também influenciou os teores de ácido alantóico, elevando-os sob déficit hídrico no estádio R₂, três dias após a aplicação de 1-MCP

(38 DAE), com o teor máximo de ácido alantóico de 7,17 nM. Sob déficit hídrico, a aplicação de 1-MCP também promoveu o aumento do número (45,69) e massa dos nódulos (1,48 mg), porém não foi significativo, contudo, pode ter estimulado a FBN e, conseqüentemente, o aumento de ureídeos, sem que o N se convertesse em biomassa de plantas. Dessa forma, sob déficit hídrico, a aplicação de 1-MCP pode ter aumentado o teor de ácido alantóico em R₂ no exsudato do xilema.

O déficit hídrico diminuiu o teor de nitrogênio foliar em 7,82% no estágio R₂ (Tabela 3.6). Didonet et al. (1989) observaram em R₂ o aumento da contribuição dos ureídeos para o N total das plantas, porém ocorreu um decréscimo no estágio R₃, quando a produção de ureídeos pelo sistema radicular era máxima. Igualmente, em R₂ o N foliar foi de 49,99 g kg⁻¹ e em R₃ foi de 37,15 g kg⁻¹ (Tabela 3.6 e 3.10), o que indica que os ureídeos estavam sendo direcionados, preferivelmente, para a formação das vagens em R₃.

Tabela 3.6 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o teor de ácido alantóico (nM) do exsudato do xilema e do teor de nitrogênio foliar (g kg⁻¹) em plantas de soja no estágio R₂.

Ácido alantóico	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	7,17 a A	2,55 b A	4,86 A
Sem 1-MCP	2,56 a B	3,43 a A	2,99 B
Médias	4,87 a	2,99 b	3,93
p>F Estresse (E) < 0,034	1-MCP (M) = 0,035		E x M = 0,003
DMS (média) = 1,73	DMS (interação) = 2,45		
Nitrogênio foliar	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	48,15	53,59	50,87 A
Sem 1-MCP	47,76	50,46	49,11 A
Médias	47,95 b	52,02 a	49,99
p>F Estresse (E) < 0,005	1-MCP (M) = 0,207		E x M = 0,322
DMS (média) = 2,79	DMS (interação) = 3,95.		

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey p<0,05). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

No estágio R₃, a aplicação de 1-MCP afetou o número de nódulos e o teor de ácido alantóico. O estresse hídrico afetou a temperatura foliar, a condutância estomática, o número de nódulos, a massa seca de nódulos, a massa seca da parte aérea, o conteúdo de água nos vasos, o nitrogênio foliar, o índice de área foliar e o potencial hídrico do solo (Tabela 3.7).

Tabela 3.7 – Análise de variância das determinações efetuadas no solo dos vasos e dos componentes de produção das plantas de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R3.

Características avaliadas	Estresse	1-MCP	Estresse x 1-MCP	CV (%)
Temperatura foliar (°C)	*	NS	NS	3,91
Condutância estomática (mmol/m ² s)	*	NS	NS	86,36
Número de nódulos	*	*	NS	37,67
Massa seca de nódulos (mg)	*	NS	NS	56,99
Massa unitária de nódulos (mg)	NS	NS	NS	43,01
Massa seca das raízes (g)	NS	NS	NS	29,36
Massa seca da parte aérea (g)	*	NS	NS	20,26
Índice de clorofila (IC)	NS	NS	NS	7,86
Conteúdo de água (kg)	*	NS	NS	29,66
Alantoína (nM)	NS	NS	NS	61,70
Ácido alantóico (nM)	NS	*	NS	54,31
Nitrogênio foliar (g kg ⁻¹)	*	NS	NS	11,10
Índice de área foliar (IAF)	*	NS	NS	18,95
Potencial hídrico (MPa)	*	NS	NS	32,12

NS = Não significativo * = Significativo a 5% pelo teste F

O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico do solo pela redução do conteúdo de água, que teve sua determinação pontual aos 46 DAE em R₃. A porcentagem média de água nos vasos dos tratamentos com DHER foi de 55,7%, em relação à CNCC. A avaliação do potencial hídrico possibilitou a identificação da efetividade dos regimes de irrigação impostos no experimento (Tabela 3.8), como também verificado em R₂ aos 37 DAE.

Tabela 3.8 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o conteúdo de água (kg) disponível no solo em vasos e do potencial hídrico (MPa) do solo subsuperficial, com plantas de soja no estágio R3.

Conteúdo de água	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	0,49	0,80	0,64 A
Sem 1-MCP	0,44	0,79	0,62 A
Médias	0,44 b	0,79 a	0,74
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,680		E x M = 0,736
DMS (média) = 0,14		DMS (interação) = 0,19	
Potencial hídrico	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	-11,70	-0,46	-6,08 A
Sem 1-MCP	-13,33	-0,88	-7,11 A
Médias	-12,52 a	-0,67 b	-6,59
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,181		E x M = 0,427
DMS (média) = 1,53		DMS (interação) = 2,17	

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey p<0,05). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

O efeito do estresse hídrico reduziu em 93,18 a condutância estomática e aumentou em 8,93% a temperatura foliar em R₃ (Tabela 3.9). Em virtude do controle da lâmina de água de 50% nos vasos para DHER sob CNCC em R₃, as determinações das condições hídricas foliares apresentaram-se semelhantes a R₂, exceto para o índice de clorofila, que não apresentou diferenças entre os tratamentos, possivelmente pelo aumento de ureídeos circulantes na parte aérea das plantas, mantendo-se nessa fase de início da formação das vagens, coloração foliar uniforme.

O efeito da deficiência hídrica sobre o rendimento de grãos depende da intensidade, da duração, da época de ocorrência e da interação com outros fatores determinantes da expressão do rendimento final. O efeito do estresse hídrico reduziu em 23,27% a massa seca da parte aérea (Tabela 3.9), após 12 dias de regime de restrição de água nos vasos aos 46 DAE em R₃, o que influenciou a redução da produção de sementes em, aproximadamente, 12% (Tabela 3.12).

Gomes et al. (2000), observou redução na massa da parte aérea em feijoeiro sob déficit hídrico, com conseqüente redução do IAF. A massa seca da parte aérea é um componente que se correlaciona com o índice de área foliar (IAF), que pode ser considerado um parâmetro indicativo de produtividade de uma cultura. O efeito do estresse hídrico reduziu o IAF em 21,96%. A média do tratamento com CNCC apresentou IAF de 5,10 e para DHER foi de 3,98 em R₃ (Tabela 3.9). O efeito do déficit hídrico sob o IAF em R₃ indica redução da produção de sementes para os tratamentos sob DHER, situação evidenciada em R₈ com redução na produção da soja sob estresse. Koller et al. (1970) relatam que a interceptação da radiação solar depende do IAF, e descreve que em condições normais, as plantas de soja atingem até o final do florescimento IAF de 5,0 e 8,0, porém o IAF decresce próximo à maturidade fisiológica entre 4,0 e 6,0. Contudo, o IAF é aumentado, proporcionalmente, com o aumento da população de plantas (HEIFFIG et al., 2006).

Tabela 3.9 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre a temperatura foliar (°C), a condutância estomática foliar (mmol/m²s), a massa seca da parte aérea (g) e o índice de área foliar (IAF) em plantas de soja no estádio R3.

Temperatura foliar	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	34,10	31,78	32,94 A
Sem 1-MCP	34,71	31,37	33,04 A
Médias	34,40 a	31,58 b	32,99
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,828		E x M = 0,270
DMS (média) = 0,93	DMS (interação) = 1,32		
Condutância estomática	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	1,17	47,28	24,23 A
Sem 1-MCP	4,23	33,46	18,89 A
Médias	2,75 b	40,37 a	21,56
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,424		E x M = 0,207
DMS (média) = 13,49	DMS (interação) = 19,07		
Massa seca da parte aérea	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	5,97	7,38	6,67 A
Sem 1-MCP	5,37	7,39	6,38 A
Médias	5,67 b	7,39 a	6,53
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,537		E x M = 0,513
DMS (média) = 0,96	DMS (interação) = 1,36		
Índice de área foliar	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	4,17	5,08	4,63 A
Sem 1-MCP	3,78	5,11	4,45 A
Médias	3,98 b	5,10 a	4,54
p>F Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,556		E x M = 0,503
DMS (média) = 0,62	DMS (interação) = 0,88		

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey $p < 0,05$). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

Em resposta ao déficit hídrico, houve limitação dos componentes de produção da planta de soja com redução do número de nódulos em 39,51%. Contudo, sob efeito da aplicação de 1-MCP houve o aumento do número de nódulos por planta em 37,31% em R₃, sugerindo o efeito favorável do produto aos componentes da FBN (Tabela 3.10).

A massa seca dos nódulos foi reduzida em 42,82%, quando influenciada pelo déficit hídrico em R₃; porém, não houve diferenças significativas entre as médias, quando submetidas à aplicação de 1-MCP. (Tabela 3.10).

Neste estudo, a aplicação de 1-MCP influenciou o aumento do teor de ácido alantóico na seiva do xilema em 57,30% no estádio R₃ (Tabela 3.10). King e Purcell (2005) relatam que, enquanto a FBN diminui em resposta ao déficit hídrico, ocorre um acúmulo de ureídeos nas folhas, devido ao catabolismo reduzido. Os autores sugerem que, a inibição da enzima nitrogenase em condições de deficiência

hídrica está associada a um mecanismo de retroalimentação negativa, em que altos níveis de ureídeos em folhas ou nódulos são os efeitos fundamentais.

Tabela 3.10 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP sobre o número de nódulos das raízes, a massa total de nódulos (mg), o teor de ácido alantóico (nM) e o nitrogênio foliar (g kg⁻¹) em plantas de soja no estágio R3.

Número de nódulos	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	50,00	75,12	62,56 A
Sem 1-MCP	31,50	59,62	45,56 B
Médias	40,75 b	67,37 a	54,06
p>F	Estresse (E) < 0,001	1-MCP (M) = 0,025	E x M = 0,836
DMS (média) = 14,75		DMS (interação) = 20,86	
Massa total de nódulos	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	127,75	246,87	187,31 A
Sem 1-MCP	102,25	155,37	128,81 A
Médias	115,00 b	201,12 a	158,06
p>F	Estresse (E) < 0,011	1-MCP (M) = 0,076	E x M = 0,309
DMS (média) = 65,24		DMS (interação) = 92,26	
Ácido alantóico	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	12,44	15,35	13,89 A
Sem 1-MCP	11,43	6,24	8,83 B
Médias	11,93 a	10,79 a	11,36
p>F	Estresse (E) < 0,605	1-MCP (M) = 0,027	E x M = 0,074
DMS (média) = 4,47		DMS (interação) = 6,32	
Nitrogênio foliar	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	38,97	36,06	37,51 A
Sem 1-MCP	40,60	34,43	37,51 A
Médias	39,78 a	35,24 b	37,51
p>F	Estresse (E) < 0,004	1-MCP (M) = 0,997	E x M = 0,277
DMS (média) = 3,02		DMS (interação) = 4,26	

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey $p < 0,05$). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

Sob déficit hídrico o teor de nitrogênio foliar foi aumentado em 12,88% no estágio R₃ (Tabela 3.10). Sinclair et al. (2003), Purcell et al. (2004), King e Purcell (2005) enfatizam que o déficit hídrico diminui a capacidade do sistema de FBN da planta e tem relação com o acúmulo de ureídeos em folhas. Os menores teores de nitrogênio nas folhas nos tratamentos com CNCC indicam que, sem déficit hídrico, o nitrogênio (ureídeos) foi direcionado, preferivelmente, para a formação das vagens no estágio reprodutivo R₃ de desenvolvimento da soja.

A aplicação de 1-MCP não afetou os componentes de produção, porém o estresse hídrico afetou, significativamente, o número de vagens, o número de sementes e a massa de sementes por planta (tabela 3.11).

Tabela 3.11 – Análise de variância dos componentes de produção de soja sob os efeitos de estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP no estágio R8.

Características avaliadas	Estresse	1-MCP	Estresse x 1-MCP	CV (%)
Número de vagens por planta	*	NS	NS	13,80
Número de sementes por planta	*	NS	NS	13,40
Massa de sementes por planta (g)	*	NS	NS	13,10
Massa unitária por sementes (g)	NS	NS	NS	5,84

NS = Não significativo

* = Significativo a 5% pelo teste F

O déficit hídrico reduziu o número de vagens em 14,47%, o número de sementes em 12,16% e a massa de sementes por planta em 12,22%. (Tabela 3.12). Theisen et al. (2008) verificaram que, em plantas de soja sob estresse hídrico por saturação do solo nos estádios reprodutivos iniciais, houve redução da produtividade em até 21% em relação à testemunha conduzida sob regime hídrico normal. Porém, com a aplicação de 1-MCP foi reduzida parte das perdas de produtividade, com melhor resultado quando a aplicação foi durante o estágio R₂.

A aplicação de 1-MCP não afetou significativamente os componentes de produção; porém, o tratamento com 1-MCP sob déficit hídrico (DHER) apresentou aumento percentual de 5,15% em relação a sua testemunha sem 1-MCP e com DHER. Apesar do pouco aumento percentual, relativamente, esse dado pode sugerir que, em grande escala a aplicação de 1-MCP em períodos de seca pode ser viável em soja. Contudo, estudos sobre a viabilidade econômica e aplicabilidade do produto em condições de campo são necessários.

Tabela 3.12 – Médias das interações entre os efeitos do estresse hídrico e da aplicação de 1-MCP para os componentes de produção para o número de vagens, o número de sementes e a massa de sementes (g) em plantas de soja no estádio R8.

Número de Vagens	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	19,06	21,75	20,40 A
Sem 1-MCP	18,31	21,93	20,12 A
Médias	18,68 b	21,84 a	20,26
p>F	Estresse (E) < 0,003	1-MCP (M) = 0,778	E x M = 0,639
DMS (média) = 2,02		DMS (interação) = 2,86	
Número de Sementes	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	40,43	46,12	43,28 A
Sem 1-MCP	39,43	44,81	42,12 A
Médias	39,93 b	45,46 a	42,70
p>F	Estresse (E) < 0,010	1-MCP (M) = 0,5725	E x M = 0,939
DMS (média) = 4,14		DMS (interação) = 5,86	
Massa de Sementes	DHER	CNCC	Médias
Com 1-MCP	8,98	10,06	9,52 A
Sem 1-MCP	8,54	9,90	9,22 A
Médias	8,76 b	9,98 a	9,37
p>F	Estresse (E) < 0,009	1-MCP (M) = 0,499	E x M = 0,752
DMS (média) = 0,89		DMS (interação) = 1,26	

Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas) não diferem entre si (Tukey $p < 0,05$). Legenda: DHER = Déficit hídrico nos estádios reprodutivos. CNCC = Condição normal de capacidade de campo.

3.5 CONCLUSÕES

A aplicação de 1-Metilciclopropeno (1-MCP) no estádio de floração plena em plantas de soja sob o regime de déficit hídrico, durante os estádios reprodutivos R_2 e R_3 , minimiza alguns dos efeitos negativos à fixação biológica do nitrogênio (FBN); contudo, no estádio de maturação plena não se tem efeito positivo sobre os componentes de produção.

A aplicação de 1-MCP no estádio reprodutivo R_2 , afeta os teores de ácido alantóico e o número de nódulos, elevando-os quando sob o efeito do regime de deficiência hídrica.

O déficit hídrico reduz o número de nódulos, a massa seca de nódulos, a massa seca da parte aérea, o índice de área foliar (IAF) e o nitrogênio (N) foliar; porém, aumenta o teor de N nas folhas e o teor de ácido alantóico.

No estádio R_8 , sob o efeito dos 13 dias em que foi aplicada a condição de déficit hídrico em R_2 e R_3 , reduz o número de vagens, o número de sementes e a massa de sementes.

3.6 REFERÊNCIAS

- ARGENTA, L. C.; MATTHEIS, J.; FAN, X. Retardamento da maturação de maçãs 'Fuji' pelo tratamento com 1-MCP e manejo da temperatura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p. 270-273, 2001.
- BURG, S. P.; BURG, E. A. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. **Plant Physiology**, v.42, p. 144-152, 1967.
- CARVALHO, L. M. et al. Disponibilidade de água no solo e crescimento de artemísia. **Horticultura Brasileira**, v.21, p. 726-730, 2003.
- CUNHA, G. R.; BERGAMASCHI, H. Efeito da disponibilidade hídrica sobre o rendimento das culturas. In: BERGAMASCHI, H. (Coord.). **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: UFRGS - Ed. Universitária, 1992. p. 85-97.
- DIDONET, A. D. et al. Disponibilidade de ureídeos durante o desenvolvimento da vagem de soja inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*. **Rev. Bras. Fisiol. Vegetal**, v.1, p. 87-91, 1989.
- DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social and economic contributions. **Soil Biol. Biochem.**, v.29, p. 771-774, 1997.
- EMBRAPA: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de Produção de soja - Região Central do Brasil 2011**. Sistema de Produção, 14. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 255 p.
- FINOTO, E. L.; SEDIYAMA, T.; BARROS, H. B. Fixação Biológica de Nitrogênio e Inoculação com *Bradyrhizobium*. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de Produção e Usos da Soja**. Londrina, Editora Mecenaz, 2009. p. 59-69.
- GOMES, A. A. e al. Acumulação de biomassa, características fisiológicas e rendimentos de grãos em cultivares de feijoeiro irrigado e sob sequeiro. **Pesq. Agropec. Bras.** Brasília, v.35, n.10, p. 1927-1937, out. 2000.
- GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F. **Métodos de Avaliação das Condições Hídricas das Plantas**. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 8 p. (boletim técnico).
- GUIMARÃES, C. M. et al. Infrared thermometry for drought phenotyping of inter and intra specific upland rice lines. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient**, v.14, n.2, 2010.
- HEIFFIG; L. S. et al. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. **Bragantia**. Campinas, v.65, n.2, p. 285-295, 2006.
- HIRAYAMA, M.; WADA, Y.; NEMOTO, H. Estimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. **Breeding Science**, v.56, p. 47-54, 2006.
- HUNGRIA, M. Metabolismo do Carbono e do Nitrogênio nos nódulos. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 249-283.

- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina, Embrapa Soja. (Circular Técnica / Embrapa Soja, n.17; Circular Técnica / Embrapa Cerrados, n. 34), 2001. 48 p.
- KING, C. A.; PURCELL, L. C. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiol.**, n.137, p. 1389-1396, 2005.
- KOLLER, H. R.; NYQUIST, W.E.; CHORUSH, I.S. Growth analysis of the soybean community. **Crop Sci.** v.10, p. 407-412, 1970.
- LELIÈVRE, J. M. et al. Ethylene and fruit ripening. **Physiol. Plant.**, v.101, p. 727-739, 1997.
- NASCIMENTO, S. P. et al. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.** Campina Grande, v.15, n.8, Aug. 2011.
- NÓBREGA, J. Q. et al. Análise de crescimento do feijoeiro submetido a quatro níveis de umidade do solo. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v.5, n.3, 2001.
- PAIVA, A. S. et al. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Eng. Agríc.** v.25, n.1, 2005.
- PAVAN, M. A. et al. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina: IAPAR, 1992. 40 p.
- PORAT, R. et al. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. **Physiol. Plant.**, v.88, p. 243-250, 1995.
- PURCELL, L. C.; KING, C. A.; BALL, R. A. Soybean Cultivar Differences in Ureides and the Relationship to Drought Tolerant Nitrogen Fixation and Manganese Nutrition. **Crop Sci.**, n.40, p. 1062–1070, 2000.
- PURCELL, L. C. et al. Soybean N₂ fixation estimates, ureide concentration, and yield responses to drought. **Crop Sci.**, n.44, p. 484-492. 2004.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 856 p.
- SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**. Campina Grande, v.2, n.3, p. 287-294, 1998.
- SEREK, M.; SISLER, E. C.; REID, M. S. 1-methylcyclopropene, a novel gaseous inhibitor of ethylene action, improved the life of fruits, cut flowers and potted plants. **Acta Horticulturae**. Wageninzen, v.394, p. 337-345, 1995.

SINCLAIR, T. R.; VADEZ, V.; CHENU, K. Ureide accumulation in response to Mn nutrition by eight soybean genotypes with N₂ fixation tolerance to soil drying. **Crop Sci.**, n.43, p. 592-597, 2003.

SISLER, E. C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v.100, p. 577-582, 1997.

SISLER, E. C.; SEREK, M.; DUPILLE, E. Comparison of cyclopropene, 1-methylcyclopropene, and 3,3-dimethylcyclopropene as ethylene antagonists in plants. **Plant Growth Regulation**, v.18, p. 169-174, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820 p.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS - Departamento de Solos, 1995. 174 p. (Boletim Técnico, 5).

THEISEN, G. et al. **Ação de regulador do metabolismo de etileno sobre a produtividade de soja cultivada em terras baixas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 15 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 68).

THOMAS, A. L.; COSTA, J. A. Influência do déficit hídrico sobre o desenvolvimento e rendimento da soja. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.29, p. 1389-1396, 1994.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Embrapa: Planaltina, 1997. 524 p.

VIANA, J. S. **Cultivares e sistemas de cultivo de soja-verde em areia** - PB. Tese (Doutorado). 2007. 139 p. Universidade Federal da Paraíba, Areia - PB, 2007.

VOGELS, G. D.; VAN DER DRIFT, C.; Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Anal. Biochem**, v.33, p. 143-157, 1970.

WATKINS, C. B.; NOCK, J. F.; WHITAKER, B. D. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v.19, n.1, p. 17-32, 2000.

ZILLI, J. E. et al. Inoculação de Bradyrhizobium em soja por pulverização em cobertura. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.43, n.4, abr. 2008.