

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**RESPOSTA DA SOJA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO  
EM SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM AMBIENTE DE  
VÁRZEA E MODIFICAÇÕES ANATÔMICAS EM  
CONDIÇÕES DE HIPOXIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Dâmaris Sulzbach Santos Hansel**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

**RESPOSTA DA SOJA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO  
EM SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM AMBIENTE DE  
VÁRZEA E MODIFICAÇÕES ANATÔMICAS EM  
CONDIÇÕES DE HIPOXIA**

**Dâmaris Sulzbach Santos Hansel**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**

**Orientador: Prof. Dr. Enio Marchesan**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Hansel, Dâmaris Sulzbach Santos  
Resposta da soja à aplicação de nitrogênio em sistemas de implantação em ambiente de várzea e modificações anatômicas em condições de hipoxia. / Dâmaris Sulzbach Santos Hansel.-2015.  
81 f.; 30cm

Orientador: Enio Marchesan  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2015

1. Glycine max 2. Saturação 3. Baixo teor de O<sub>2</sub> 4. Aerênquimas I. Marchesan, Enio II. Título.

---

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Dâmaris Sulzbach Santos Hansel. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: [damarissulzbach@hotmail.com](mailto:damarissulzbach@hotmail.com)

---

**Universidade Federal de Santa Maria**  
**Centro de Ciências Rurais**  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**RESPOSTA DA SOJA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO EM  
SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM AMBIENTE DE VÁRZEA E  
MODIFICAÇÕES ANATÔMICAS EM CONDIÇÕES DE HIPOXIA**

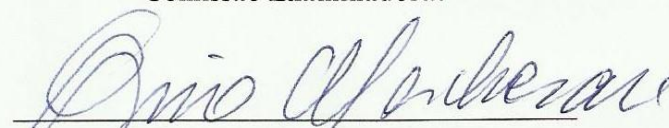
elaborado por

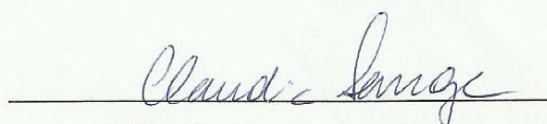
**Dâmaris Sulzbach Santos Hansel**

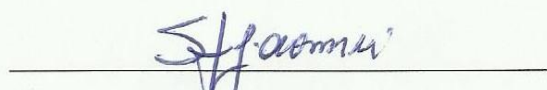
como requisito parcial para obtenção do grau de

**Mestre em Agronomia**

Comissão Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
**Enio Marchesan, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Claudia Erna Lange, Dra.**  
(Oryza e Soy Ltda.)

  
\_\_\_\_\_  
**Sandro José Giacomini, Dr.**  
(UFSM)

Santa Maria, 28 de fevereiro de 2015

**Aos meus pais,**

**Julio Carlos Rohrsetzer Santos e Maria Margarete Sulzbach Santos,**

Por acreditarem em mim, pelo incentivo e orações sempre.

**Ao meu marido, companheiro de vida e profissão,**

**Fernando Dubou Hansel,**

Pelo amor e apoio em todas as etapas.

**À minha irmãzinha,**

**Hanna Sulzbach Santos Carvalho,**

Minha amiga desde sempre e para sempre.

**Dedico e ofereço.**

## AGRADECIMENTOS

Em todo tempo, à Deus, pois nos momentos mais difíceis Ele estava ali, sem nunca me desamparar. Por ter me permitido viver experiências únicas e inesquecíveis.

Aos meus paizinhos que me ensinaram muito mais do que se aprende na faculdade ou pós-graduação. Meus exemplos de equilíbrio de vida.

Ao meu orientador, professor Enio Marchesan, pela sua dedicação e empenho em tornar seus alunos melhores profissionais, pelas suas aulas muito bem preparadas e orientações muito pensadas, com certeza serás um marco na minha formação.

Ao meu marido, que entendeu minhas ausências e deixou muitas programações de lado. Que foi meu amor e amigo durante essa jornada.

À Anelise Lencina, minha mão direita desde o início. Minha parceira de casa de vegetação, laboratório e campo. Minha amiga.

Ao Bruno Aramburu, que sempre muito competente foi peça essencial no desenvolver dos experimentos.

Aos meus queridos colegas de pós-graduação Gustavo Mack Teló, Gerson Meneghetti Sarzi Sartori, Alana Wandscheer, Guilherme Cassol, Robson Giacomeli, e Lillian Oliveira. Agradeço pelas discussões no começo, durante o processo e na finalização, vocês foram fundamentais.

Agradeço a todos os componentes desse grupo ímpar que é o GPAI – Grupo de pesquisa em arroz irrigado e uso alternativo de várzeas, com certeza vocês são profissionais diferenciados e competentes. Sem vocês nada disso teria sido possível. Não tem tempo ruim, sol ou chuva vocês não mediram esforços!

Aos professores Sandro Giacomini, João Marcelo Oliveira, Alberto Cargnelutti e Claudia Lange, pelo ensinamentos e contribuições.

Agradeço também aos meus amigos, que semanalmente me ouviram, me amaram e me mantiveram em suas orações.

Sou grata à minha família estendida, Tânia, Adilson e Mari Hansel, o apoio e cuidado de vocês por mim é muito importante.

À UFSM, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, à CAPES pela bolsa de estudos e aos professores que dedicam as suas vidas para adicionar na nossa.

À todos vocês, obrigada!

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **RESPOSTA DA SOJA À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO EM SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM AMBIENTE DE VÁRZEA E MODIFICAÇÕES ANATÔMICAS EM CONDIÇÕES DE HIPOXIA**

AUTOR: DÂMARIS SULZBACH SANTOS HANSEL  
ORIENTADOR: ENIO MARCHESAN  
Santa Maria, 28 de fevereiro de 2015.

A cultura da soja vem ganhando espaço nas áreas de várzea. Onde antes só havia o cultivo de arroz, cresce o interesse pela soja devido às dificuldades crescentes em relação ao controle de plantas daninhas e ao interesse pela diversificação de culturas. Porém, o manejo utilizado e as características naturais das áreas de várzea para o cultivo de arroz tornam difícil a drenagem. Em vista do cultivo de uma planta em presença de lâmina de água, como a soja, é necessário que hajam algumas mudanças de manejo para beneficiar o estabelecimento e desenvolvimento da cultura. No primeiro experimento utilizou-se a cultivar TECIRGA 6070 RR e testou-se diferentes momentos de aplicação de nitrogênio (N) em cobertura, com o objetivo de fornecer à cultura o suprimento de N para auxiliar a fixação biológica de nitrogênio, que em ambientes saturados pode ser prejudicada. Também testou-se dois mecanismos de semeadura, o disco duplo e um mecanismo que rompe parte da camada compactada utilizando haste sulcadora, presente nos solos de várzea. Não houve diferença entre tratamentos de aplicações de N, possivelmente devido a não haver estresses hídricos. Porém para diferentes mecanismos houve diferença no desenvolvimento das plantas e na produtividade, destacando-se o mecanismo rompedor com haste sulcadora. O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação utilizando também a cultivar TECIRGA 6070 RR, com o objetivo de mensurar modificações anatômicas e seus possíveis benefícios diante de diferentes tempos de saturação em diferentes estádios vegetativos. Os aerênquimas foram desenvolvidos no hipocótilo e raiz, os quais foram utilizados como mecanismo de sobrevivência pela planta quando o solo foi saturado no estágio VC-V1 durante seis dias, juntamente às raízes adventícias. No estágio V6 os aerênquimas apresentaram maior desenvolvimento, mas devido à fragilidade do tecido e resistência do solo, houve o rompimento dos canais de condução de ar atmosférico, formados pelos aerênquimas. Este rompimento ocorreu entre o hipocótilo e raiz, sendo inundado por água e cessando a condução de ar para pelos canais para as raízes submersas. Nesse estágio a planta teve a sua sobrevivência apenas com o auxílio das raízes adventícias, formadas no hipocótilo da planta.

**Palavras-chave:** Glycine max. Saturação. Baixo teor de O<sub>2</sub>. Aerênquimas.

## **ABSTRACT**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **SOYBEAN RESPONSE TO NITROGEN APPLICATION IN IMPLANTATION SYSTEMS IN A LOWLAND ENVIRONMENT AND MODIFICATIONES ANATÔMICAS EM CONDIÇÕES DE HIPOXIA**

AUTOR: DÂMARIS SULZBACH SANTOS HANSEL  
ORIENTADOR: ENIO MARCHESAN  
Santa Maria, 28 de fevereiro de 2015.

Soybean has gained space in lowland areas. Where before had only irrigated rice, grows the interest for soybean, due to rising issues on weed control and the interest for crop diversification in the same farm. However, the management used and the natural characteristics of lowland areas with rice cultivation collaborate for maintaining saturated soil in the field. Considering the cultivation of an upland crop, it is necessary that some management changes be done to benefit the establishment and development of the crop. In the first experiment different moments of broadcast Nitrogen (N) application were tested, in order to nourish the plant with the nutrient to help the biologic N fixation, that in saturated soils, is damaged. Also was used two seeding mechanisms, the conventional (offset double disc) and a mechanism that disrupts the compacted layer (planter shank) present in lowland soils. There was no difference between N application treatments. However, for the different mechanisms there was a difference in development and productivity, highlighting the planter shank. The second experiment was performed in the greenhouse also using cultivar TECIRGA 6070 RR, with the aim of observing anatomical modifications and their possible benefits among different time of saturation and vegetative stages. The aerenchymas were formed in the hypocotyl and roots, which were used as a survival mechanism by the plant when soil was saturated in the VC-V1 stage during six days, along with the adventitious roots. In the V6 stage, the aerenchymas showed better development, but due to tissue fragility and soil resistance, there was rupture of the atmospheric air conducting canals, formed by aerenchyma. This rupture occurred between the hypocotyl and the root, filling the canals with water and stopping the air conduction to submerged roots. In this stage the plant survived only with the support of the adventitious roots, formed on the plants hypocotyl.

**Key-word:** Glycine max. Saturation. Low O<sub>2</sub> rate. Aerenchyma.



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

- Tabela 1 – Número de nódulos totais por planta (NT), massa seca de nódulos viáveis por planta (g) (MSN) e porcentagem de nódulos viáveis por planta (%NV) em função de aplicação de nitrogênio em diferentes estádios e em dois sistemas de implantação, avaliados em V6, R2 e R4, cultivar TECIRGA 6070 RR. Santa Maria, RS. 2015..... 43
- Tabela 2 – Contraste ortogonal da produtividade entre tratamentos de aplicação de N. D1 – 0 kg de N, D2 – 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2, D3 – 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4, D4 – 40 kg de N em V6, D5 – 40 kg de N em R2, D6 – 40 kg de N em R4. Santa Maria, RS. 2015 ..... 43

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO

- Figura 1 – Fatores determinantes da nodulação em *Rhizobium* sp. NGR234 induzidos por flavonóides. (A) Flavonóides excretados pelas raízes ativam a expressão de genes do rizóbio requeridos para o processo de nodulação (nod, nol, e noe). (B) Fatores Nod são lipo-quito-oligossacarídeos modificados como os  $\beta$ -1,4-oligomeros conectados de N-acetil-D-glucosamina, com um ácido graxo substituindo o grupo N-acetil em suas terminações não redutoras (BROUGHTON et al., 2003) ..... 21

### CAPÍTULO I

- Figura 1 – Comprimento de parte aérea e parte radicular, mensurados em estágio fonológico V6, R2 e R4. Santa Maria, 2015 ..... 44
- Figura 2 – Massa seca de parte aérea e parte radicular, mensurados em estágio fonológico V6, R2 e R4. Santa Maria, 2015. .... 45
- Figura 3 – Resistência à penetração na linha de semeadura com uso de haste sulcadora, disco duplo e na entre linha. Umidade do solo de 0,3 g cm<sup>-3</sup> na camada de 0 – 20 cm de profundidade. Santa Maria, RS. 2015 ..... 46
- Figura 4 – Conteúdo de ureídeos e nitrato na folha e no caule por grama de massa seca de planta (mmol/g planta), avaliados em V6, R2 e R4..... 46
- Figura 5 – Produtividade entre mecanismos de semeadura. Santa Maria 2015..... .47
- Figura 6 – Precipitação pluvial na safra 2013/14, com uma irrigação por banho, utilizando uma irrigação de 52mm no estágio fenológico V4, quando o solo estava com 60% da capacidade de campo. Santa Maria, 2015 ..... 47

### CAPÍTULO II

- Figura 1 – Fotomicrografias de indivíduos completos de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR, apresentando caule, hipocótilo (hip) e raiz principal (setas brancas), coletados em estádios fisiológicos VC-V1 e V6. Figuras 1A a 1C representam estágio fisiológico VC-V1. A. Zero dias de saturação. B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. Figuras 1D a 1F representam estágio fisiológico V6. A. Zero dias de saturação. B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. Cotilédone = ct; Lenticela = ltc; raízes adventícias = setas pretas. Santa Maria, RS. 2015 ..... 67

- Figura 2 – Microscopia de luz de seções histológicas transversais ao hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC-V1. A. Zero dias de saturação. B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. A região cortical, com tecidos primários (= rct) apresenta lacunas (= lc). As células derivadas do felogênio (= fg) formam o aerênquima secundário (= AS). Lacunas esquizo-lisígenas = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema secundário = XS; floema = F; asterisco = câmbio vascular; fibras pericíclicas = fp..... 68
- Figura 3 – Microscopia de luz de seções histológicas transversais ao hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos zero, dois e seis dias de saturação. A. Zero dias de saturação. Região cortical apresenta amplas lacunas (= lc). Imagem em detalhe apresenta estômato (seta) e câmara subestomática (cs). B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. Aerênquima secundário (= AS) desenvolvido. Lacunas esquizo-lisígenas = lc; epiderme = ep; espaços intercelulares = cabeças de setas; xilema secundário = XS; floema secundário = FS; felogênio = fg ..... 69
- Figura 4 – Microscopia de luz de seções histológicas do hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos seis dias de saturação. A. Seção longitudinal. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos do hipocótilo até a raiz adventícia (= adv). B. Seção transversal da raiz adventícia mostrada em 4A. Cabeças de setas indicam espaços intercelulares. Aerênquima secundário (= AS); lacunas esquizo-lisígenas = lc; região cortical = rct; endoderme = seta branca; xilema secundário = XS ..... 70
- Figura 5 – Microscopia de luz de seções histológicas transversais à raiz principal de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC-V1 aos zero, dois e seis dias de saturação. A. Zero dias de saturação. B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. Epiderme e tecidos corticais rompidos. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos da raiz. Aerênquima secundário (= AS); lacuna esquizógena = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema primário = XP xilema secundário = XS; floema = F; asterisco = câmbio vascular; raiz lateral = rl ..... 71
- Figura 6 – Análise morfológica de hipocótilo e raiz de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC-V1 aos seis dias de saturação. A. Fotomacrografia. Seta superior indica o hipocótilo (incluindo porção de raiz adventícia (= radv); seta inferior indica raiz principal. B e C. Epiderme e tecidos corticais rompidos. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos da raiz. Aerênquima secundário (= AS); lacuna esquizógena = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema primário = XP xilema secundário = XS; floema = F; asterisco = câmbio vascular; raiz lateral = rl..... 72

Figura 7 – Microscopia de luz de seções histológicas transversais à raiz principal de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos zero, dois e seis dias de saturação. A. Zero dias de saturação. Lacunas esquizolisígenas (LC). B. Dois dias de saturação. C. Seis dias de saturação. Epiderme e tecidos corticais rompidos. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos da raiz. Aerênquima secundário = AS ; lacuna esquizógena = lc; xilema secundário = XS; floema = F; raiz lateral = rl; elementos da rizosfera = setas vazadas ..... 73

## SUMÁRIO

<b>I – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>II – REVISÃO: SOJA EM AMBIENTE DE VÁRZEA .....</b>	<b>15</b>
<b>III – CAPÍTULO I - RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA AO USO DE NITROGÊNIO MINERAL SOB DOIS SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM SOLO DE VÁRZEA.....</b>	<b>25</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>25</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>26</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>27</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>30</b>
<b>Resultados e discussão .....</b>	<b>33</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>38</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>39</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>43</b>
<b>IV – CAPÍTULO II – ALTERAÇÕES ANATÔMICAS EM SOJA (Glycine max) EM FUNÇÃO DE EXCESSO HÍDRICO .....</b>	<b>48</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>48</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>49</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>50</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>52</b>
<b>Resultados e discussão .....</b>	<b>54</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>61</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>62</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>67</b>
<b>V – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>74</b>
<b>VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>75</b>

## I INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul (RS) grande parte das áreas de várzea são cultivadas com a cultura de arroz irrigado. Apesar das áreas de várzea destinadas ao arroz irrigado possibilitarem alta produtividade de grãos em comparação a alguns anos atrás, é necessário dar atenção aos fatores que podem impedir a continuação desse incremento.

As lavouras de arroz apresentam crescentes problemas com plantas daninhas, sendo o arroz vermelho o principal infestante. Apesar da grande contribuição do sistema de tolerância do arroz cultivado à herbicidas do grupo das imidazolinonas para o controle do arroz daninho, mais uma vez há dificuldade em controlar essa planta daninha devido à seleção natural de plantas resistentes a estes herbicidas. Assim como o arroz vermelho, um número crescente de plantas daninhas também tem desenvolvido resistência aos herbicidas utilizados na lavoura arrozeira, tornando cada vez mais difícil o controle dessas plantas presentes nas lavouras. Em vista disso, é necessário que haja rotação de culturas com o arroz irrigado, possibilitando o controle mais eficaz das plantas daninhas na cultura subsequente ao arroz devido à utilização de herbicidas de diferentes grupos químicos. A rotação contribui também para diminuir a infestação de pragas e para o complemento nutricional através, principalmente, do nitrogênio deixado no solo pela cultura de soja, o que favorece a sustentabilidade no processo da produção agrícola. E devido à estes fatores, a soja apresenta-se como uma boa alternativa de rotação com o arroz irrigado.

No entanto, devido às características dos solos de várzea, a soja apresenta dificuldades de estabelecimento devido à baixa condutividade hidráulica do solo. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) não pode apresentar a mesma eficiência em solos alagados temporariamente em comparação às terras altas. Em um sistema em que a planta tem melhores condições de desenvolvimento de raízes e planta, e no qual a simbiose com as bactérias não é prejudicada, estas tem a capacidade de disponibilizar a maior parte do N necessário para o estabelecimento e produção da cultura. No entanto, em um sistema anaeróbico, a simbiose muitas vezes não fornece as quantidades necessárias de N à cultura.

O nitrogênio mineral pode ser uma opção para suprir a necessidade de N para as plantas proporcionarem alta produtividade de grãos de soja, porém é necessário analisar quanto do N mineral aplicado e quanto do N disponibilizado pela simbiose será utilizado pela planta de soja, para que haja o entendimento da contribuição de cada uma das fontes, sem que uma fonte prejudique a absorção da outra.

É importante que a simbiose estabelecida entre a planta e a bactéria seja explorada, para que a máxima produtividade de grãos seja alcançada com o menor investimento possível em insumos minerais.

Nesse estudo, foi avaliado a contribuição da fixação biológica de N para a planta de soja e a resposta da planta em relação à adição de fertilizante mineral nitrogenado para a cultura em ambiente de várzea, em busca da compreensão dos mecanismos, potencial e dificuldades da planta em ambiente de várzea, além das modificações anatômicas desenvolvidas pelas plantas de soja diante de períodos de inundação, o que ocorre comumente durante o ciclo da planta neste ambiente.

## 2 REVISÃO

### SOJA EM AMBIENTE DE VÁRZEA

No Rio Grande do Sul, as áreas de várzeas que apresentam estrutura para irrigação e drenagem ocupam um espaço de aproximadamente três milhões de hectares, sendo 1,1 milhões de hectares cultivados anualmente com arroz (MARCHESAN, 2013). Estes solos estão predominantemente localizados na região das Planícies Costeiras, Externa e Interna, e no Litoral Sul junto as Lagoas dos Patos e Mirim, nas Planícies dos rios da Depressão Central, como os rios dos Sinos, Caí, Taquari e Jacuí, e nas regiões da Campanha e Fronteira-Oeste, ao longo dos rios Ibicuí, Santa Maria, Quaraí e outros menores (PINTO et al., 2004).

A área de soja em ambiente de várzea no Rio Grande do Sul passou de 100.000 hectares na safra 2010/11 para mais de 300.000 hectares na safra de 2013/14 (IRGA, 2014). Este aumento de área cultivada com soja é devido a vários fatores relacionados ao monocultivo do arroz irrigado. Alguns desses fatores são: a dificuldade de controle de plantas daninhas; a menor utilização de água para lavoura; o benefício da rotação de culturas para o sistema, através da melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo, e a quebra do ciclo de pragas e seu controle; a diversificação de renda do produtor, assim como a melhor distribuição das atividades agrícolas no tempo e na propriedade.

A principal dificuldade encontrada nas lavouras de arroz irrigado são as crescentes implicações relacionadas ao controle de plantas daninhas, sendo o arroz daninho a principal planta infestante e de difícil controle (SOSBAI, 2012). As plantas invasoras da cultura do arroz irrigado tem desenvolvido resistência aos herbicidas usualmente utilizados nas lavouras. Dentre estas plantas, o arroz-vermelho (*Oryza sativa*) ainda ocupa o primeiro lugar como planta invasora mais preocupante, por ser de difícil controle e apresentar alto grau de infestação das áreas cultivadas (FLECK et al., 2008; SANTOS et al., 2007), assim como outras plantas invasoras que desenvolveram resistência, como o capim-arroz, *Echinochloa* sp. (ANDRES, 2007). A tecnologia Clearfield® veio para auxiliar o controle do arroz-vermelho, mas diante do mau uso dessa tecnologia, algumas populações de plantas tornaram-se resistentes (MENEZES et al., 2009). Diante disso, em algumas áreas tem-se verificado estagnação da produtividade de arroz, mesmo utilizando cultivares de alto potencial produtivo



(CORREIA, 2013). Para contornar a dificuldade de cultivo do arroz irrigado diante dessas dificuldades, cresce o cultivo de outras culturas nesse ambiente.

A rotação de culturas visa melhorar vários aspectos da lavoura. Além do controle de arroz-vermelho, em rotação com o arroz irrigado, a rotação de culturas pode proporcionar melhorias na adequação e na qualidade do solo, otimização do uso de máquinas e mão-de-obra, quebra de ciclos de pragas e doenças e diversificação de renda da propriedade, além de proporcionar benefícios relacionados com a fixação do nitrogênio da cultura da soja para a cultura do arroz (VERNETTI JÚNIOR et al., 2009, VILLA, 2006). Associado aos benefícios agronômicos no sistema produtivo, os preços atuais da soja, sua produtividade em áreas de arroz e o preço dos insumos utilizados para produção tem garantido rentabilidade para o produtor rural (MARCHESAN, 2013). Esta prática tem o objetivo de incrementar a produtividade de grãos de arroz, por meio da quebra do ciclo de pragas, de moléstia e de plantas daninhas, tanto pelos benefícios diretos, como na possibilidade de controle do arroz-vermelho com herbicidas com mecanismos de ação alternativos, como por exemplo, o glifosato (THOMAS; COSTA, 2010, ZEMOLIN, 2014).

Em vista disso, surgem opções de culturas de rotação, sendo a cultura da soja a alternativa que tem se mostrado mais viável, a qual contribui com a manutenção da competitividade do sistema (VERNETTI JUNIOR, 2002). A soja (*Glycine max* L. Merril.) é uma das culturas mais importantes no mundo e também no Brasil (FANTE et al., 2010).

O ambiente de várzea apresenta características que podem limitar o desenvolvimento de outras culturas. Dentre as classes de solo encontradas em áreas de várzea do RS, destacam-se os Planossolos, os quais estão presentes em 56% das áreas, pelas classes dos Chernossolos (16%), Neossolos (11,6%), Plintossolos (8,3%), Vertissolos (9%) e Gleissolos (7,1%) (PINTO et al., 2004). Como característica comum, os solos de várzea apresentam formação em condição de drenagem deficiente ou hidromórfica, o que lhes confere determinadas peculiaridades nos atributos físicos e químicos em relação aos demais tipos de solo existentes no estado, principalmente os de terras altas. Além da drenagem natural deficiente está presente em grande parte desses solos uma camada compactada subsuperficial, a qual tem sido um dos principais fatores responsáveis pelas dificuldades encontradas pela planta de soja ao se estabelecer no ambiente de várzea, sendo reconhecido como fator negativo para o crescimento das raízes e ao movimento vertical de água. A compactação é caracterizada pelo desarranjo das partículas de solo, pela consistência do solo, volume e tamanho dos poros, os quais não permitem a passagem de gases facilmente (TAYLOR; BRAR, 1991).

A compactação excessiva pode impedir o crescimento radicular, limitar a absorção de nutrientes e a maximização do rendimento das culturas (BICKI; SIEMENS, 1991), além de diminuir a taxa de infiltração da água e a capacidade de retenção, o conteúdo de água disponível às plantas, a aeração do solo, prejudicando o pleno desenvolvimento das espécies cultivadas, através do déficit hídrico ou ao excesso hídrico (BARCELOS et al., 1999). Quando há excesso hídrico na área, além de prejudicar o desenvolvimento direto da planta, também há restrição em relação à simbiose entre planta e as bactérias de *Bradyrhizobium*.

Do ponto de vista físico, os solos de várzea são caracterizados pela baixa porosidade total, com predominância de microporos, camadas compactadas próximas à superfície, baixa estabilidade de agregados e tendência à formação de encrostamento superficial. Essas características fazem com que estes solos apresentem baixa condutividade hidráulica e velocidade de infiltração de água, dificultando o processo de drenagem do perfil (GOMES et al., 2006). Os solos alagados temporariamente tem características que impedem muitas culturas de se estabelecerem, devido à maioria das culturas produtoras de grãos serem mesófitas. Sua principal característica é a de drenagem deficiente, isso se deve ao relevo plano, que leva ao não escoamento da água, o que é agravado pela camada superficial ser pouco profunda e a camada subsuperficial ser praticamente impermeável (Pauletto et al., 1998). A substituição do ar pela água nos espaços porosos e o estabelecimento de uma lâmina de água sobre o solo restringem as trocas gasosas com a atmosfera. A camada superficial de milímetros permanece oxidada. Rapidamente esse oxigênio pode ser extinguido devido ao consumo dos microorganismos, como as bactérias fermentativas e as archaea metanogênicas, predominantes na comunidade microbiana. A planta de soja sofre desordens metabólicas devido à falta de  $O_2$ , e esse fator diminui a eficiência na utilização de C, e aumenta a produção de etanol e lactato (MARSCHNER, 1995). A síntese de fitoreguladores (giberilinas e citocininas) também é diminuída pela falta de  $O_2$  (SMIT, 1990). As plantas de soja podem tolerar o excesso de água e o ambiente anaeróbico, mas são prejudicadas em condições anaeróbicas quando as concentrações de  $CO_2$  na região radicular são elevadas a 30%, que é a quantidade encontrada nas lavouras de soja alagadas (BORU, 2003), sendo que o limite de  $CO_2$  tolerado pelas plantas é de 20% (COSTA, 1996).

O processo diagnosticado como compactação, tem sido reconhecido como fator negativo para o crescimento das raízes e ao movimento vertical de água. A compactação excessiva pode impedir o crescimento radicular, limitar a absorção de nutrientes e a maximização do rendimento das culturas (BICKI; SIEMENS, 1991). Além de diminuir a taxa de infiltração da água e a capacidade de retenção, o conteúdo de água disponível às

plantas, a aeração do solo, prejudicando o pleno desenvolvimento das espécies cultivadas (BARCELOS et al., 1999).

As transformações que ocorrem nos solos compactados são consequência dos seguintes fatores: aumento da resistência mecânica do solo a penetração radicular, redução da aeração, alteração do fluxo de água e calor e da disponibilidade de água e de nutrientes. A compactação resulta da operação de máquinas e implementos pesados em condições de umidade excessiva do solo (MUNARETO et al., 2010). Diante dessas transformações é provável que em um determinado tempo e local, um desses fatores afete negativamente a germinação, emergência, crescimento e produtividade de grãos das culturas. Para que haja a utilização das áreas temporariamente alagadas, onde o estabelecimento de culturas de sequeiros encontram dificuldades de crescimento e desenvolvimento (BAMBERG et al., 2009), torna-se importante a drenagem, favorecendo a aeração do solo. A melhoria das condições de drenagem, juntamente com a implantação de culturas com maior tolerância ao estresse hídrico, proporcionam melhores condições para a rotação e/ou sucessão de culturas com o arroz irrigado em solos de várzea. A drenagem deficiente geralmente está associada à falta de oxigênio, causando uma redução da respiração das raízes e do volume total, assim como a profundidade das raízes (GOMES et al., 2006), absorção de água e nutrientes (FANTE et al., 2010), a fotossíntese e a fixação biológica de nitrogênio (OLIVEIRA et al., 2013).

O nitrogênio é considerado o elemento mais importante depois da água para o crescimento de plantas no seu ambiente natural (FRANCO; DÖBEREINER, 1994; TUBIC et al., 2011). Por ser elemento essencial, seu balanço afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e a translocação de assimilados, a taxa de crescimento entre folhas e raízes e a produtividade de grãos (FAGAN et al., 2007; KING et al., 2014). A soja necessita 80 kg de N para produzir uma tonelada de grãos para a produção de 4000 kg é necessário que a soja absorva 320 kg ha<sup>-1</sup> de N, com uma exportação média de 240 kg ha<sup>-1</sup> (HUNGRIA et al., 2000). É estimado que entre 65 e 85% desta elevada demanda seja suprida pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), e os restantes 15 a 35% pelo solo. Quando a soja alcança rendimentos altos o balanço de N pode ser negativo, ou seja, o aporte de N via FBN ficaria aquém da quantidade exportada pelos grãos. Quando a FBN é eficiente, ela pode chegar a suprir N para produzir 4000 kg ha<sup>-1</sup> (VARGAS et al., 1982), no entanto a máxima eficiência das bactérias é alcançada nas condições ótimas para a cultura, sendo que o ambiente de várzea não proporciona essas condições devido à formação dos solos alagados temporariamente. Novo et al. (1999) relataram que a FBN não supriu todas as necessidades da planta de soja,

sendo que a dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral promoveu incremento de 22 a 47% no rendimento da cultura. Zotarelli et al. (2002) afirmaram que a soja exporta mais N do que é capaz de obter via fixação biológica de nitrogênio, a FBN é um processo complexo que por sua vez, compreende a adaptação da bactéria à planta e as interações da mesma com o solo, sendo sua eficiência controlada, em parte, por fatores endógenos como sinais químicos e hormonais (SICZEK & LIPIEC, 2011).

A soja é entre as culturas comerciais uma das que melhor utiliza a simbiose realizada pelas bactérias rhizobium, sendo entre as leguminosas em geral classificada como potencial simbiótico médio (HARDARSON, 1993). Relata-se que a produtividade está 40% correlacionada com a nodulação (BRANDELEIRO et al. 2009). A infecção pelas bactérias causa o desenvolvimento de um novo órgão complexo, o nódulo, onde a bactéria se estabelece. A formação de um nódulo efetivo em fixar o N<sub>2</sub> é um evento biológico complexo que exige que haja a coordenação entre os genes da bactéria e da planta. Dentro desse evento, há a etapa de formação do nódulo e modificações morfológicas que são estabelecidas de acordo com os genes das bactérias compatíveis com os genes da planta hospedeira (STACEY et al., 1995). A formação dos primeiros nódulos nas raízes de soja iniciam dos dez a doze dias após a emergência da soja aumentando o seu desenvolvimento em tamanho e número até a formação de vagens (HUNGRIA, M. et al. 2001). O período reprodutivo é onde há maior demanda por nutrientes (MIRANSARI, M. 2010), e em vista de o nitrogênio ser o nutriente de maior utilização pela planta de soja, são nestes estádios que a planta precisa de maior fornecimento de N. No entanto, o suprimento de carboidratos para os nódulos diminui de 45% para 7% da fotossíntese entre os estádios vegetativos iniciais e os estádios de enchimento de grãos (VOISIN ET AL. 2003), diminuindo assim, a simbiose e conseqüente fornecimento de N para a planta. Uma vez estabelecida a simbiose, o rizóbio começa a fixação do nitrogênio atmosférico para a planta hospedeira. Segundo Hungria e Bohrer (2000), a nodulação pode ser considerada eficiente se a maioria dos nódulos estiverem estabelecidos na coroa da raiz principal. Dentre estes, os nódulos maiores que 2mm são considerados mais eficientes em fixar N<sub>2</sub> (HUNGRIA, M. et al. 2001).

Os pesquisadores Novo et al.(1999) e Hardarson & Zapata (1984) encontraram aumento na produtividade de grãos de soja em algumas cultivares diante da aplicação de nitrogênio mineral. No entanto, Hungria et al.(2002) não encontraram diferença significativa na produtividade de soja. Ainda, Silva et al. (2011) encontraram que a altura de plantas, inserção da primeira vagem e número de vagens por planta aumentaram diante da aplicação de nitrogênio na semeadura, porém não houve diferença significativa na produtividade.

Experimentos com fixação biológica de N<sub>2</sub> demonstram que há inibição da fixação biológica quando há adição de N mineral, inibindo a nitrogenase e a nodulação (FRANCO; NEVES, 1992). No entanto, Abdel-Wahab e Abd- Alla (1996) observaram incremento em número e massa seca de nódulos quando houve aplicação de nitrogênio mineral em baixas taxas (16 e 32 kg N ha<sup>-1</sup>). Assim como Hardarson e Zapata (1984) observaram que algumas cultivares fixam N na mesma proporção em solos com alta ou baixa concentração de N inorgânico.

Jackson (1985) relata que a inundação do solo prejudica a nodulação de leguminosas e inibe a fixação de N<sub>2</sub> em nódulos formados anteriormente ao alagamento. Segundo Zenzen et al. (2007) as alterações do meio influenciam fortemente a simbiose da bactéria com a planta de soja. Em seus estudos os pesquisadores observaram que o número de nódulos foi consideravelmente menor diante do alagamento, os quais tiveram queda e senescência, em função do metabolismo hipóxico. Da mesma forma, houve redução na massa seca e no volume dos nódulos.

As plantas liberam compostos como carboidratos, ácidos orgânicos, vitaminas, aminoácidos e derivados fenólicos e dentre estes, os flavonóides são os mais importantes no que se refere ao aspecto simbiótico. Os flavonóides são capazes de induzir a expressão de genes do rizóbio necessários para o processo de nodulação (*nod*, *nol* e *noe*) (EMBRAPA, 2008). A regulação da expressão do gene *nod* varia de estirpe para estirpe, mas é quase sempre mediada pelo NodD, que é uma proteína que pertence a uma família de reguladores transcricionais (LysR-like) que se ligam a um motivo de 47 pares de bases altamente conservado no DNA (*nod* boxes) encontrados nas regiões promotoras de muitos loci para nodulação (FISCHER et al., 1988). Assim, o NodD atua tanto como sensor do sinal emitido pela planta, como um ativador transcricional de genes *nod* (EMBRAPA, 2008).

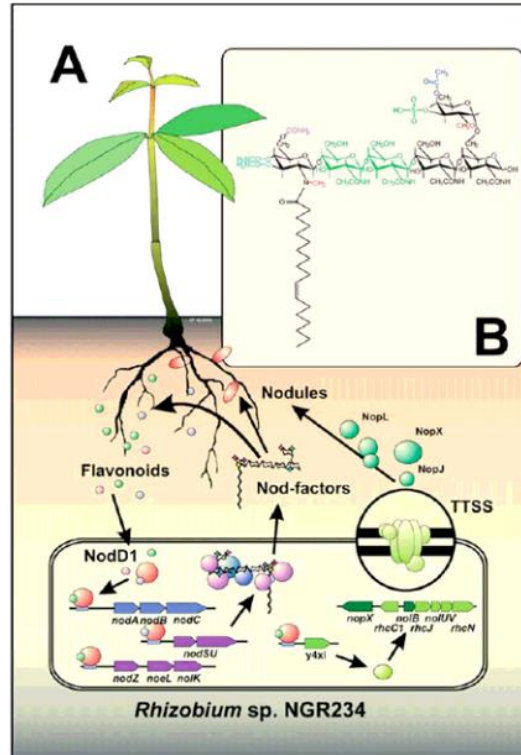


Figura 1– Fatores determinantes da nodulação em *Rhizobium sp. NGR234* induzidos por flavonóides. (A) Flavonóides excretados pelas raízes ativam a expressão de genes do rizóbio requeridos para o processo de nodulação (*nod*, *noI*, e *noe*). (B) Fatores Nod são lipo-quito-oligosacarídeos modificados como os β-1,4-oligómeros conectados de N-acetil-D-glucosamina, com um ácido graxo substituindo o grupo N-acetil em suas terminações não redutoras (BROUGHTON et al., 2003).

Durante a simbiose, a planta oferece aos seus endossimbiontes fotossintatos em troca de nitrogênio reduzido, em forma de amônio e amino ácidos (WHITE et al., 2007). Para que o N atmosférico seja reduzido e assimilado, a planta utiliza 15 a 35% do total da capacidade fotossíntese, através do aumento da carga respiratória e formação das cadeias carbônicas para a síntese de formas orgânicas de nitrogênio (SCHUBERT; RYLE, 1980). A forma em que o N fixado pelas bactérias de rizóbio é transportado na planta são os ureídeos (FUJIHARA; YAMAGUCHI, 1978), os quais são formados pela soma dos compostos: alantoína e ácido alantóico (REINBOTHE; MOTHES, 1962). O nitrogênio fixado pelo rizóbio é usado para a síntese de purina, a qual é oxidada a alantoína e ácido alantóico através de várias enzimas. Os ureídeos sintetizados no nódulo são levados para a parte aérea, onde eles são degradados e o seu conteúdo de N reassimilado (DÍAZ-LEAL, 2012). As plantas de clima temperado exportam amidas (glutaminas e asparaginas), e as plantas de clima tropical exportam ureídeos (SCHUBERT, 1986; TEMPLE ET AL., 1998; GOGGIN ET AL., 2003; TODD ET AL., 2006). O teor de ureídeos tem sido sugerido como forte indicador da taxa de fixação de N

(MCCLURE, 1980; PATTERSON, 1982), demonstrado por experimentos com gas  $^{15}\text{N}$ -nitrogênio (OHYAMA; KUMAZAWA 1978) e por ensaios de redução de acetylene (MC CLURE; ISRAEL, 1979). O teste de ureídos é considerado simples, de baixo custo, e rápido (PATTERSON, 1982). Além do transporte do N gerado pela fixação, os ureídos também são importantes na quebra e resgate do nitrogênio das purinas (STASOLLA, 2003). E recentemente tem sido considerado no processo da eliminação de espécies reativas de oxigênio (BRYCHKOVA, 2008). Uma vez que a alantoína chegou no seu destino, ela é convertida em ácido alantóico pela enzima alantoinase (EC 3.5.2.5.). O ácido alantóico pode ser quebrado em glioxilato, liberando quatro moléculas de amônia e duas de  $\text{CO}_2$ . A via usual com suporte genético identificado para cada passo, aparenta ser conversão de ácido alantóico para (S)-ureidoglycine pelo ácido alantóico amidohidrolase (EC 3.5.3.9.), a hidrólise do (S)-ureidoglycine para (S)-ureidoglicolato é realizado pela ureidoglicina aminohidrolase (EC 3.5.3.-), e conversão de (S)-ureidoglicolato para glioxilato por uma ureidoglicolato amidohidrolase (EC 3.5.3.19) liberando  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$  gerando (S)-hidroxiglicina, o qual passa por uma desaminação não enzimática, produzindo glioxilato (TODD, 2006B; WERNER, 2011; WERNER, 2008; WERNER, 2010).

Os ambientes de várzea tendem a manter um ambiente com pouco oxigênio, devido à sua formação e manejo, e a baixa disponibilidade de oxigênio, sob condições de excesso hídrico (hipoxia), inviabiliza a respiração das raízes (LANZA et al., 2013). No entanto há indicações que sugerem que a soja seja originária de áreas alagadiças da China e tenha sido desenvolvida para melhor se adaptar à regiões bem drenadas (EVANS, 1996). Este fato mostra que, provavelmente, a planta de soja mantém no seu germoplasma genes capazes de permitir sua adaptação fisiológica às condições impostas pelo cultivo em várzeas, como observado por Pires et al. (2002), que afirmaram que a soja apresenta mecanismos adaptativos para as condições de baixo teor de oxigênio de solos inundados. Outras leguminosas, como a ervilha de jardim por exemplo, são muito mais sensíveis que a soja, quando submetida a 24 horas de saturação a sua produtividade pode ser reduzida em até 50% (TAIZ e ZAIGER, 2013).

A tolerância das plantas à falta de oxigênio é avaliada pela habilidade que a planta tem de desenvolver mecanismos que conduzam  $\text{O}_2$  para a região rizosférica, criando um ambiente oxidado envolta das raízes (DREW 1985; ARMSTRONG e WEB, 1985; BARLETT e JAMES, 1993). Um desses mecanismos é o desenvolvimento de aerênquimas, pela morte das células da planta, causada pelo etileno, além de alongamento de raízes (JACKSON, 1985). Outro mecanismo é a formação de raízes adventícias (PIRES et al., 2002). Os aerênquimas

formados no caule, hipocótilo, raiz principal, raízes adventícias, e nódulos das raízes de soja, são chamados de aerênquimas secundários. Estes aerênquimas apresentam espaços intercelulares que são compostos de células vivas que não são suberizadas, e tem a função de abastecer as raízes e os nódulos com oxigênio (SHIMAMURA, et al. 2003). Acredita-se que as mudanças estruturais podem contribuir para o sustento da respiração aeróbica e crescimento da planta (ARMSTRONG e WEBB, 1985; DREW et al. 1985). Porém, tem sido sugerido que órgãos aerenquimatosos são frequentemente preenchidos com água ou fluido, característica que os impediria de realizar a transferência do O<sub>2</sub> (CANNY 1995). Na cultivar Asoagari, de *Glycine max* (SHIMAMURA et al., 2010), foram feitas considerações sobre a difusão de O<sub>2</sub>, do caule para as raízes através de tecidos alagados, em plantas que passaram por períodos de cinco semanas de alagamento. Em soja a exposição de tecidos aerenquimatosos é observado em diferentes cultivares em função da diferenciação do próprio aerênquima (THOMAS et al., 2005; SHIMAMURA et al., 2003; SHIMAMURA et al., 2010), que gera aumento em diâmetro não acompanhado pela epiderme que se rompe. Situação similar é observada em outras espécies como *Trifolium resupinatum* (GIBBERD et al., 2001), *Luffa cylindrica* (Shimamura et al., 2007) e diferentes espécies de Melastomataceae (SOMAVILLA; GRACIANO-RIBEIRO, 2012). Em diferentes monocotiledôneas, considerando aquelas típicas de ambiente alagado, ou solo encharcado, o tecido aerenquimatoso raramente é exposto ao ambiente externo, uma vez que o aerênquima dos tecidos corticais não sofre crescimento contínuo, ou modular por meio da formação de aerênquima secundário, sendo citado que seu desenvolvimento é controlado (EVERT, 2013). Além disso, nas raízes, a epiderme, usualmente associada a exoderme, forma uma estrutura compacta que atua como excelente isolante do aerênquima (EVERT, 2013). Considerando-se que os condutos de ar na região cortical em tais plantas são delimitados por lamelas e/ou diafragmas, mesmo com a emergência de raízes laterais, podem ser mantidos espaços contínuos de ar em comunicação entre a região cortical das raízes com a região cortical do hipocótilo, caule e folhas. *Oryza sativa* possui estrutura anatômica muito bem estudada nesse aspecto (WEBB et al., 1986; AULAKH et al., 2000; VOESENEK et al., 2006).

A falta de O<sub>2</sub> pode prejudicar o desempenho de espécies leguminosas como a soja, pois são particularmente sensíveis ao estresse do alagamento devido à dependência da simbiose para o fornecimento de nitrogênio, um processo que demanda grandes quantidades de O<sub>2</sub> (BACANMWO e PURCELL, 1999), e por isso é inibida praticamente de imediato quando ocorre alagamento (AMARANTE; SODEK, 2006, JUSTINO; SODEK 2013). A



atividade da nitrogenase e de glutamina na seiva do xilema é mais rapidamente estabelecido quanto mais curto o período de saturação (JUSTINO e SODEK, 2013).

A soja apresenta dificuldades em se estabelecer no ambiente de várzea. Porém, é possível que através de alguns cuidados com o manejo e mecanismos de adaptação da própria cultura, que a planta passe por momentos de estresse causado pelo excesso e déficit hídrico nas áreas. Para que a planta seja altamente produtiva e competitiva entre outras culturas de rotação é necessário que se estabeleça neste ambiente uma boa estrutura de solo, através do rompimento da camada compactada característica do ambiente de várzeas, para que todas as funções exercidas pela planta para a sua boa nutrição, sejam realizadas com sucesso. Para que assim a planta não tenha que ser suprida com nutrientes minerais.

### 3 CAPÍTULO I

## RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA AO USO DE NITROGÊNIO MINERAL SOB DOIS SISTEMAS DE IMPLANTAÇÃO EM SOLO DE VÁRZEA

### Resumo

A cultura da soja vem crescendo como alternativa para o controle de plantas invasoras resistentes aos herbicidas utilizados na cultura do arroz irrigado. No entanto, a soja é sensível aos estresses hídricos que frequentemente ocorrem nessas áreas, em função do relevo plano e também pela camada compactada do solo que dificulta a drenagem. Isso pode interferir na fixação biológica de nitrogênio (FBN), afetando a disponibilidade de N às plantas. Diante disso, busca-se alternativas de manejo para que não ocorra déficit de N às plantas. O experimento foi realizado em condições de campo na safra 2013/14, na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, em delineamento de blocos com parcelas subdivididas. O fator A foi composto de dois mecanismos de semeadura: disco duplo (A1) e haste sulcadora (A2). O fator D foi composto por 6 momentos de aplicação utilizando a mesma dose (inteira ou parcelada) de N: 0 kg de N (D1), 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2 (D2), 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4 (D3), 40 kg de N em V6 (D4), 40 kg de N em R2 (D5) e 40 kg de N em R4 (D6). A utilização da haste sulcadora proporciona às plantas maior produtividade em comparação ao disco duplo independente da aplicação de N.

**Palavras- Chave:** *Glycine max*, estresse hídrico, camada compactada, simbiose

**Abstract**

The use of soybean in lowland areas is growing, due to the crop being an alternative crop rotation option for these areas. However, the soybean is sensible to water stresses caused by the plain terrain and the compacted soil layer, which makes drainage difficult. This can interfere on biological N fixation, affecting the availability of N to plants. Therefore, alternatives are sought so the crop continues to be supplied with N. To this end, this study aims to evaluate management alternatives so that N deficit does not occur. The experiment was performed in the 2013/14 crop season, in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, as a random block design with split-plot. Factor A was composed by two seeding mechanisms: offset double disc (A1) and planter shank (A2). Factor D was composed by 6 N application moments and the same dose (full or divided): 0 kg of N (D1), 20 kg of N at V6 stage +20 kg of N at R2 stage (D2), 20 kg of N at R2 stage + 20 kg of N at R4 stage (D3), 40 kg of N at V6 stage (D4), 40 kg of N at R2 stage (D5) e 40 kg of N at R4 stage (D6). The use of planter shank provides higher grain yield in comparison to the double disc, independent from N application.

**Key-words:** *Glycine max*, water stress, compacted layer, symbiosis

## Introdução

As áreas de várzeas são tradicionalmente utilizadas para o cultivo de arroz irrigado, visto que são áreas com relevo plano caracterizadas como solos hidromórficos com uma camada subsuperficial pouco profunda e baixa infiltração.

Essas características fazem com que estes solos apresentem baixa condutividade hidráulica e velocidade de infiltração de água, dificultando o processo de drenagem do perfil (GOMES et al., 2006). Neste sentido, este ambiente é ideal para a cultura de arroz irrigado devido à capacidade de retenção de água, a qual possibilita a formação de lâmina de água viabilizando o cultivo do arroz irrigado.

No entanto, para realizar rotação de culturas em áreas de várzea são grandes os desafios assim o cultivo de soja nessas áreas necessita de cautela, em vista das características dessa área. O processo diagnosticado como compactação tem sido um dos principais fatores responsáveis pelas dificuldades encontradas pelas plantas de soja ao se estabelecer no ambiente de várzea, (VALICHESKI et al., 2012). A compactação excessiva pode impedir o crescimento radicular, limitar a absorção de nutrientes e a maximização do rendimento das culturas (BICKI & SIEMENS, 1991).

A planta de soja tem seu fornecimento principal de nitrogênio gerado pela simbiose entre as plantas e as bactérias fixadoras de *Bradyrhizobium* (SCHOLLES & VARGAS, 2004). A infecção pelas bactérias causa o desenvolvimento de um novo órgão complexo, o nódulo, onde a bactéria se estabelece. Para o bom funcionamento da simbiose é necessário que haja oxigênio em uma parte do processo e também ausência de oxigênio em outra parte do processo. Por isso, a entrada de oxigênio é tão rigorosamente controlada que mesmo em condições normais o oxigênio é fator limitante para a atividade da nitrogenase (LAYZELL & HUNT, 1990).

O nitrogênio é considerado o elemento mais importante depois da água para o crescimento de plantas no seu ambiente natural (FRANCO; DÖBEREINER, 1994; TUBIC, 2011), e é considerado o nutriente mais demandado pela cultura para a obtenção de altas produtividades (AMADO et al., 2010). O balanço de nitrogênio afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e a translocação de assimilados, a taxa de crescimento entre folhas e raízes e a produtividade de grãos (FAGAN et al., 2007; KING et al., 2014).

Uma alternativa para minimizar os efeitos da camada compactada do solo de várzeas e viabilizar o cultivo da soja é testar mecanismos de implantação por ocasião da semeadura, dos quais pode-se destacar a utilização de discos ondulados ou haste sulcadora, que tem apresentado efeitos positivos na descompactação do solo na linha de semeadura (DRESCHER et al., 2011; SARTORI et al., 2014).

As hipóteses a serem testadas através desse experimento foram: 1) O nitrogênio é um nutriente cuja insuficiência limita o desenvolvimento e produtividade do cultivo de soja nos solos de várzea do RS. 2) As condições físicas dos solos de várzea, quando na presença de compactação, adensamento, advindas da desestruturação do solo após o cultivo do arroz irrigado, impactam negativamente na capacidade das plantas adquirirem o N a partir da simbiose. Em vista disso, o objetivo do presente trabalho foi buscar alternativas para a melhor adaptação da cultura da soja no ambiente de várzeas, através de aplicação de nitrogênio em diferentes estádios fisiológicos da planta para suprir a deficiência de N, caso a simbiose tenha sido prejudicada pelo excesso hídrico e com o objetivo de somar à fixação biológica, em vista das dificuldades encontradas pela planta de soja e *Bradyrhizobium* para a realização da simbiose, resultando em baixa eficiência de fixação de N (ALVES et al., 2006). Foram avaliados também dois sistemas de semeadura, utilizando um sistema convencional de preparo de solo, com disco duplo, e um sistema com rompimento da camada compactada, utilizando haste sulcadora, para que fosse observada a resposta da planta diante de um sistema

com melhores condições de desenvolvimento das raízes com menos problemas de hipoxia e maior retenção de água nas camadas abaixo da camada antes compactada.

## Material e métodos

O experimento foi realizado na safra agrícola 2013/14 na área didático experimental de várzea do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O solo é classificado como Planossolo Háptico eutrófico arênico pertencente à unidade de mapeamento Vacacaí (Embrapa, 2013). A análise do solo apresentou as seguintes características físico-químicas: Argila(m/v): 26,0%; pH em água – 5,7; P-Mehlich (mg/dm<sup>3</sup>) – 11,8; K (mg/dm<sup>3</sup>) – 40,0; Ca- 6,8; Mg- 3,2; Al- 0,0; M.O.(m/v) – 2,1%.

O delineamento experimental foi o de parcelas subdivididas em blocos ao acaso em esquema bifatorial (2x6), com 4 repetições. O fator A foi composto de dois sistemas de semeadura: disco duplo (A<sub>1</sub>), que trabalhou em uma profundidade de 8 a 10cm, e haste sulcadora(A<sub>2</sub>) que trabalhou em uma profundidade de 18cm. O fator D foi composto pela aplicação de nitrogênio em diferentes estádios fenológicos e utilizando a mesma dose (inteira ou dividida), sendo os níveis: sem aplicação (D<sub>1</sub>), aplicação de 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2 (D<sub>2</sub>), aplicação de 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4 (D<sub>3</sub>), aplicação de 40 kg de N em V6 (D<sub>4</sub>), aplicação de 40 kg de N em R2 (D<sub>5</sub>), aplicação de 40 kg de N em R4 (D<sub>6</sub>).

As unidades experimentais mediram 10 m<sup>2</sup> (7 x 2,5 m – 6 linhas de semeadura com espaçamento de 0,5 m). A cultivar de soja utilizada foi a TEC IRGA 6070 RR, de ciclo médio e com adaptação para várzeas, apresentando tolerância ao excesso hídrico. As sementes foram tratadas com o fungicida Fludioxonil+Mefenoxam (100ml/100kg), inseticida Thiamethoxam (200 ml/100kg) e CoMo(100ml/100kg). As sementes foram inoculadas com inoculante líquido de bactérias *Bradyrhizobium japonicum semia* 5079 e 5080 (5x10<sup>9</sup> cel/mL), dupla dosagem.

Foi utilizada semeadora de modelo MF 407, com peso de 2210 kg. As sementes foram semeadas em uma profundidade de 2,5 cm, em uma quantidade de 13 sementes por metro

linear, emergindo 11 por metro linear, semeado dia 26 de novembro, emergindo 7 dias após. A adubação de base foi de 350 kg, sendo 0 kg de N ha<sup>-1</sup>, 70 kg de P ha<sup>-1</sup> e 70 kg de K ha<sup>-1</sup>, realizada conforme a indicação da análise de solo.

Para o controle de plantas daninhas foi utilizado o dessecante glifosato em pré emergência, estádios V3 e V6. As aplicações de defensivos agrícolas foram realizadas conforme recomendações técnicas e necessidade de controle.

A cultura de soja foi irrigada através de faixas, no período de baixa pluviosidade, no estágio fenológico V4, quando o solo estava com 60 % da capacidade de campo até o molhamento total da área experimental e formação de lâmina, utilizando-se irrigação de 52mm. Após realizou-se a drenagem.

As avaliações de massa seca e comprimento de parte aérea e raiz, nodulação, ureídeos totais e nitrato, foram realizadas 10 dias após cada aplicação de nitrogênio, sendo a primeira no estágio V6, a segunda no estágio R2, e a terceira no estágio R4. Foi considerada a segunda linha de semeadura para estas avaliações. Foram coletadas cinco plantas através da abertura de uma trincheira de 30 cm de largura, estando a linha de semeadura no centro, utilizando uma pá de corte. Após, as plantas foram separadas do solo, mergulhando-as em um recipiente com água e agitando-as levemente até a separação do solo. Foram levadas ao laboratório onde se realizou a lavagem final e a separação das raízes da parte aérea, cortando-se no ponto que estava ao nível do solo. A medição do comprimento da parte aérea, até a inserção do último racemo, e das raízes pivotantes foi realizada com trena milimétrica em 5 plantas por parcela. Em seguida as partes aéreas e radiculares foram levadas à estufa a 65°C até atingirem massa constante.

Foi realizada a contagem do número de nódulos nas plantas nos estádios V6, R2 e R4 em três plantas por parcela. Foram considerados apenas nódulos com tamanho maior que 2 mm. Estes nódulos foram cortados transversalmente e classificados de acordo com a sua



coloração, onde nódulos de coloração rósea (legmoglobina ativa) foram considerados viáveis, e os com coloração escura ou esverdeada (legmoglobina inativa) foram considerados inviáveis. Os nódulos viáveis foram levados à estufa com ventilação forçada de ar 65°C até massa constante para a avaliação de massa seca.

Os teores de ureídeos totais e nitrato foram analisados nos estádios V6, R2 e R4. Foram utilizadas cinco plantas por parcela, secas e moídas, separando caules e folhas para a análise. Os teores de N, ureídeos totais e nitrato foram analisados em 300 mg de tecido, com base na metodologia de Vogels e Van der Drift (1970) e Cataldo et al. (1975), respectivamente, e analisado em espectrofotômetro para a leitura da absorbância. Essa avaliação permite a observação da proveniência do N presente no caule e folhas da planta, sendo os ureídeos provindos da fixação biológica e o nitrato provindo da solo+ N mineral (HERRIDGE, 1982).

A resistência do solo foi analisada através de penetrômetro digital até a profundidade de 20 cm. Realizada quando a cultura estava na metade do ciclo em 20 pontos, em 3 pontos por parcela: sobre a linha de semeadura do tratamento de disco duplo, de haste sulcadora e nas entrelinhas. Foram coletadas amostras de solo para determinação da umidade do solo nas camadas de 0 - 5, 5 - 10, 10 - 15 e 15 - 20 cm.

A colheita das plantas foi realizada em área útil de 5 x 1,5 m (7,5 m<sup>2</sup>), quando os grãos apresentaram grau de umidade médio de 13%. Posteriormente à trilha, foi realizada a limpeza e pesagem dos grãos e os dados foram transformados para kg ha<sup>-1</sup> para a produtividade.

Os parâmetros avaliados foram submetidos ao teste das pressuposições do modelo matemático. A análise da variância dos dados do experimento foi realizada através do teste F. Para as médias do fator qualitativo foi utilizado o teste de Tukey. Para os resultados expressos graficamente, determinou-se o intervalo de confiança de 5% ( $P \leq 0,05$ ).

## Resultados e discussão

Não houve interação entre os tratamentos avaliados para comprimento e massa seca de raízes.(Tabela....) Em relação ao comprimento de parte aérea, não houve diferença significativa entre as aplicações de nitrogênio nos estádios fenológicos avaliados. No entanto, observa-se que a avaliação de comprimento e massa seca realizada no estágio fenológico R4, quando todos os tratamentos com aplicação de N já haviam sido realizados, apresentaram diferença em números absolutos. Quando comparados os tratamentos fracionados de N nos estádios R2+R4 com os estádios V6+R2, o tratamento com a aplicação somente no período reprodutivo foi superior. Da mesma forma, observa-se que a dose única no estágio R4 foi superior à dose única em R2 e V6 (Figura 1 e 2). Em vista disso, observa-se que houve incremento, tanto de comprimento de parte aérea quanto de massa seca, para aplicações mais tardias de N (Figura 2). Uma hipótese é devido à diminuição da fixação biológica de N (FBN) entre planta e bactéria ao longo do ciclo da cultura., corroborando com Voisin et al. (2003), que relatam que o suprimento de carboidratos para os nódulos diminui de 45% para 7% na fotossíntese entre os estádios vegetativos iniciais e os estádios de enchimento de grãos. Essa diminuição é observada também em número de nódulos inviáveis na coleta realizada em R4 em comparação com a coleta realizada em R2 (Tabela 1). Além de ocorrer a diminuição da FBN, a fase reprodutiva apresenta maior exigência de nutrientes, sendo o N o nutriente exigido em maior quantidade, em vista do desenvolvimento das vagens e grãos ocorrerem nessa fase. Por essas razões a aplicação de N mineral pode ter sido utilizada no desenvolvimento da planta, uma vez que exigência da planta não estava sendo suprida com o nitrogênio fixado do ar atmosférico pela simbiose, sendo complementada pela adição de nitrogênio mineral, de acordo com Bahry (2014), que observou que o nitrogênio quando aplicado em fase reprodutiva age positivamente no desenvolvimento das plantas de soja, uma vez que a simbiose não está suprimindo a demanda nutricional da planta.

Quando comparados mecanismos de semeadura, houve diferença estatística para comprimento de parte aérea, sendo superior para semeadura com haste sulcadora nos estádios fenológicos V6 e R2, não havendo diferença estatística em R4 (Figura 1). Para massa seca de parte aérea, houve diferença significativa para a semeadura com haste em todos os estádios (Figura 2).

O comprimento e a massa seca radicular não foram influenciados pelas aplicações de N, porém, quando comparados os sistemas, a semeadura com haste sulcadora apresentou maior crescimento da raiz pivotante na coleta em R4, mostrando que houve aprofundamento da raiz principal da planta de soja, devido à descompactação realizada por este mecanismo. A descompactação foi representada através da resistência à penetração, a qual apresenta valores altos para áreas onde se utilizou disco duplo e valores mais baixos para os tratamentos com haste sulcadora, sendo a resistência mensurada aos 15 cm de profundidade de  $\pm 2$  MPa para disco duplo, enquanto para haste sulcadora o valor foi  $\pm 1$  MPa (Figura 3). Em um ambiente onde houve o rompimento de parte da camada subsuperficial compactada, a planta apresentou melhor crescimento. Esta observação corrobora com Drescher et al. (2011), que relataram que o mecanismo haste sulcadora é efetivo no aumento da macroporosidade, e na diminuição da microporosidade e densidade do solo, mitigando os efeitos da compactação, principalmente na região de crescimento das raízes. O maior desenvolvimento das raízes possivelmente afetou também o crescimento da parte aérea que se comportou de forma similar, mostrando melhor desenvolvimento de planta quando utilizado o sistema de semeadura com haste sulcadora (Figura 1). Em relação à avaliação de massa seca de raízes não houve diferença estatística (Figura 2).

Não se observou estresses hipóxicos e de déficit hídrico nas plantas de soja, em função da boa distribuição de precipitação pluvial ao longo do período de cultivo (Figura 6). Em função disso, os efeitos dos mecanismos utilizados não mostraram diferenças significativas

para comprimento e massa seca, porém, em todas as avaliações de desenvolvimento de planta é possível observar que em números absolutos as plantas semeadas com haste sulcadora, o mecanismo descompactador foi superior (Figuras 1b e 2b). Estes resultados estão em conformidade com estudos anteriores que relatam que quando não há deficit hídrico, a camada compactada tem seu efeito negativo minimizado (CARDOSO et.al., 2006)

Pode-se observar que em relação ao crescimento da parte aérea, tanto para comprimento como para massa seca, houve maior incremento do estágio R2 para R4 do que de V6 para R2. Sendo o incremento em comprimento total de V6 para R2 de somente 39,68% e de 22,85% da massa seca total (Figuras 1 e 2). Assim, a planta de soja da cultivar TEC IRGA 6070 RR tem seu maior desenvolvimento de parte aérea em estádios reprodutivos, sendo importante a suplementação mais intensa nessa fase da planta, mostrando em números o observado à campo, devido ao longo período antes do fechamento de linha dessa cultivar. Porém em relação ao comportamento radicular, pode-se observar que a maior parte do desenvolvimento é de V6 para R2, representando 63,8% do incremento de massa seca total, em comparação à R2 para R4.

Não houve interações para as avaliações de nodulação. Para número total de nódulos não houve diferença para a avaliação realizada em V6 ou R2, porém na avaliação em R4 é possível observar que a o numero total de nódulos apresenta diferenças significativas entre tratamentos e porcentagem dos nódulos viáveis é muito baixa (Tabela 1). A viabilidade baixa em relação à totalidade se dá devido à maior parte dos nódulos, analisados na coleta realizada em R4 apresentarem uma coloração esverdeada (nódulos não viáveis) nessa fase de desenvolvimento da planta. Observa-se na avaliação anterior, em R2, que não há diferença significativa entre os tratamentos, porém a aplicação de 40 kg de N em V6 apresenta o número absoluto menor de nódulos na avaliação realizada, sendo esse o tratamento que apresenta maior número de nódulos inviáveis na próxima coleta, em R4. Também na

avaliação em R4 a aplicação de 40 kg de N em R4, o número total de nódulos, o que nessa avaliação pode ler-se nódulos inviáveis, é menor. Sabe-se que a fixação biológica é bastante vulnerável quanto à estresses hídricos (SINCLAIR, 2007) e a atividade dos nódulos é extremamente sensível ao balanço hídrico dentro das plantas (SINCLAIR & VADEZ, 2012) tanto por déficit quanto por excesso hídrico. Quando ocorre excesso hídrico os espaços porosos são preenchidos rapidamente por água quando há precipitação, restringindo as trocas gasosas, dificultando a difusão de oxigênio, e permitindo que apenas a camada superficial do solo mantenha oxigênio devido à proximidade com a atmosfera. A planta de soja sofre desordens metabólicas devido à falta de O<sub>2</sub>, e esse fator diminui a eficiência na utilização de C, e aumenta a produção de etanol e lactato (MARSCHNER, 1995). Porém no ano agrícola 2013/14 não houve excesso e não houve déficit, não prejudicando a simbiose planta- bactéria.

A avaliação de N ureídios totais e N nitrato não apresentaram interação entre aplicação de N e sistemas de semeadura, além de não apresentarem diferenças significativas entre tratamentos. Observa-se que houve acréscimo de quantidade de ureídios como de nitrato nos caules e nas folhas ao longo do ciclo (Figura 4). O transporte dos compostos de N é realizado via fluxo do xilema, a falta de água pode prejudicar o transporte desses compostos, como o transporte de ureídios dos nódulos para a parte aérea, inibindo a resposta da fixação de N (SINCLAIR e VADEZ, 2012). Através desse método é possível saber de onde está vindo o N contido na planta, se ele é provindo da simbiose ou do solo+ fertilização. No entanto, assim como as plantas se comportaram de forma semelhante devido à falta de estresses hídricos em relação ao desenvolvimento, também não apresentaram diferenças entre concentrações de N ureídios e N nitrato.

Em um âmbito geral pode-se constatar que houve bom desenvolvimento da soja, a qual teve capacidade de exercer suas funções e trocas, sem ocasionar paralisação da atividade

dos nódulos por períodos que chegassem a desfavorecer o crescimento da planta pelo suprimento insuficiente de N.

Não houve interação entre aplicações de N e mecanismos de semeadora para a avaliação de produtividade. Também não houve diferença significativa para as aplicações N, assim como encontrado em trabalhos anteriores em áreas de sequeiro, onde as aplicações de N em cobertura não tiveram efeito positivo sobre a produtividade (MENDES et al. 2008). No entanto, houve diferença entre sistemas de semeadura, sendo que a produtividade da haste sulcadora foi de 4526kg de grãos por hectare, enquanto a da semeadura com disco duplo foi de 4251kg (Figura 5).

A análise de produtividade por contrastes ortogonais mostra que , a estimativa do contraste foi significativa para os tratamentos com aplicação de N em comparação à testemunha sem aplicação de N, quando utilizado o mecanismo de semeadura disco duplo. Quando utilizado haste sulcadora, o contraste ortogonal para aplicações de N em relação à testemunha foi não significativo (Tabela 2). A partir disso, pode-se dizer que quando o solo apresenta condições físicas que permitem o aprofundamento e desenvolvimento de raízes e conseqüentemente maior suprimento nutricional às plantas, não há necessidade da aplicação de N mineral. Porém, quando há presença de camada subsuperficial compactada, a planta tem seu desenvolvimento limitado, refletindo em baixa produtividade. Nas condições do experimento, quando utilizado o mecanismo disco duplo, as plantas de soja responderam positivamente ao N, o qual colaborou com a simbiose realizada entre planta e bactérias.

O ano agrícola 2013/14 foi um ano que apresentou precipitações periodicamente regulares no local do experimento e em quantidade suficiente para não ocasionar estresse hídrico para a planta. Em apenas um período foi observada deficiência hídrica, e nesse momento a lavoura foi irrigada através de irrigação em faixas, sanando esse déficit (Figura 6).

## **Conclusão**

A utilização da haste sulcadora proporciona maior crescimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas e maior produtividade de grãos de soja em comparação ao disco duplo, independente da aplicação de N.

Em condições físicas do solo não limitantes ao desenvolvimento radicular, não há resposta da soja à fertilização nitrogenada.

### Referências bibliográficas

- ALVES, B. J. R. et al. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41 p. 449-456, 2006
- AMADO, T. J. C. et al. Manejo do solo visando à obtenção de elevados rendimentos de soja sob sistema plantio direto. In: Thomas AL & Costa JA (Eds.) **Soja - Manejo para alta produtividade de grãos**. Porto Alegre, UFRGS. p.35-97. 2010
- BAHRY, C. A. et al . Efeito do nitrogênio suplementar sobre os componentes de rendimento da soja em condição de estresse hídrico. **Revista Ceres**, v. 61(2), 2014 .
- BAMBERG, A. L. et al. Densidade de um planossolo sob sistemas de cultivo avaliada por meio da tomografia computadorizada de raios gama. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* [online]. v. 33(5), p. 1079-1086. 2009
- BARCELOS, A. A. et al. Infiltração de água em um Latossolo Vermelho-escuro sob condições de chuva intensa em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 23(1), p. 35-43, 1999
- BICKI, T. J.; SIEMENS, J. C. Crop responses to wheel traffic soil compaction. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, v. 34(3), p. 909-913, 1991
- CARDOSO, E. G.; et al. Sistema radicular da soja em função da compactação do solo no sistema de plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41(3), p.493-501, 2006
- COSTA, J. A.; MARCHEZAN, E. Características dos estádios de desenvolvimento da soja. Campinas: Fund. Cargill, 30p. 1982
- DRESCHER, M.S. et al. Persistência do efeito de intervenções mecânicas para a descompactação de solos sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35(5) p.1713-1722, 2011



EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação dos solos. Brasília: Embrapa-SPI, 2013

FAGAN, E.B. et al. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja – Revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.14(1), p.89-106. 2007

FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathológica**, São Paulo, v.20(1) p.68-74, 1994

GOMES, A.S. et al. Caracterização de indicadores da qualidade do solo, com ênfase as áreas de várzea do Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 40 p. (Documentos, 169). 2006

HERRIDGE, D.F. Relative abundance of ureides and nitrate in plant tissue of soybean as a quantitative assay of nitrogen fixation. **Plant Physiology**. v.70, p.1-6. 1982

KING, C.A. et al. A possible relationship between shoot N concentration and the sensitivity of N<sub>2</sub> fixation to drought in soybean. **Crop Science**, v.54(1), p.746-756, 2014

LAYZELL, D.B.; HUNT, S. Oxygen and regulation of nitrogen fixation in legume nodules. **Physiology Plantarum**, v. 80, p.322-327. 1990

MARCHEZAN, E.; VIZZOTTO, V. R.; ROCHA, M. G.; MOOJEN, E. L.; SILVA, J. H. S. Produção animal em várzea sistematizada cultivada com forrageiras de estação fria submetidas a diferentes níveis de adubação. **Ciência Rural**, v. 32, p. 303-308, 2002.

MARCHESAN, E. Desafios e perspectivas de rotação com soja em áreas de arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., Santa Maria, **Anais...**Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2013. p. 1628-1637. 2013

MENDES I DE C et. al. Late supplemental nitrogen fertilization on soybean cropped in Cerrado Oxisols. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43 p.1053-1060. 2008

MISSIO, E.L.; RUBIN, S.de.A.L.; GABE, N.L.; OZELAME, J.G. Desempenho de genótipos de soja em solo hidromórfico de várzea. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.16(1,2), p.23-29, 2010

PAULETTO, E.A.; SOUSA, R.O.; GOMES, A.S. Caracterização e manejo de solos de várzea cultivados com arroz irrigado. Peske, S.T., Nedel, J.L., Barros, A.C.S.A. (ed.). Universidade Federal de Pelotas – RS, 659p. 1998

SARTORI, G.M.S. et al. Desempenho agrônômico de soja submetida à irrigação em diferentes sistemas de implantação em área de várzea. 29ª Jornada Acadêmica Integrada. Santa Maria, RS. 2014

SCHOLLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.973-979, 2004

SINCLAIR, T.R., et al. Drought Tolerance and Yield Increase of Soybean Resulting from Improved Symbiotic N<sub>2</sub> Fixation. **Field Crops Research**, v.101, p.68-71. 2007

SINCLAIR, T.R.; VADEZ, V. The Future of Grain Legumes in Cropping Systems. **Crop Pasture Science**, v.63, p.501-512. 2012

SOSBAI. SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Porto Alegre, SOSBAI. 176p. 2012

TUBIC, S.B. et al. Importance of microbiological fertilizer used in soybean production: Agronomical and biological aspects. **African Journal of Microbiology Research**, v.5(27) p.4909-4916, 2011

VALICHESKI, R.R. et al. Desenvolvimento de plantas de cobertura e produtividade da soja conforme atributos físicos em solo compactado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16(9), p.969–977, 2012

VERNETTI JR, F. de J. et al. Plantio direto de soja e milho em solo de várzea e em seqüência a diferentes coberturas mortas. In: DA SILVA, C.A.S.; GASTAL, M.F da C. (Eds.). REUNIÃO TÉCNICA, DIVERSIFICAÇÃO DO USO DE VÁRZEAS DE CLIMA TEMPERADO, 2002, Pelotas. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado. p. 153-157. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 90), 2002.

VERNETTI JUNIOR, F. de J. et al. Arroz irrigado em sucessão a milho e soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3; REUNIÃO DA CULTURA DE ARROZ IRRIGADO, 25., 2003, Balneário Camboriú, SC. Anais... Itajaí: EPAGRI, p.246-247, 2003.

## Anexos

Tabela 1 - Número de nódulos totais por planta (NT), massa seca de nódulos viáveis por planta (g) (MSN) e porcentagem de nódulos viáveis por planta (%NV) em função de aplicação de nitrogênio em diferentes estádios e em dois sistemas de implantação, avaliados em V6, R2 e R4, cultivar TECIRGA 6070 RR. Santa Maria, RS. 2015.

Aplicações de nitrogênio	Estádios coletados									
	V6+10 dias			R2+10 dias			R4+10 dias			
	NT	MSN	%NV	NT	MSN	%NV	NT	MSN	%NV	
0 kg de N	35,2 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	96,3 <sup>ns</sup>	110,0 <sup>ns</sup>	1,7	94,5 <sup>ns</sup>	209,9 ab	5,2 <sup>ns</sup>	3,5 <sup>ns</sup>	
20 kg de N em V6+20 kg de N em R2	34,9	0,6	97,2	119,1	1,7	94,1	200,6 ab	4,3	4,2	
20 kg de N em R2+										
20 kg de N em R4	32,8	0,6	96,4	112,3	1,6	94,4	194,9 ab	5,0	2,5	
40 kg de N em V6	40,3	0,6	96,7	91,5	1,5	93,8	294,9 a	6,5	3,2	
40 kg de N em R2	37,7	0,6	97,0	107,2	1,5	92,0	207,5 ab	5,4	3,7	
40 kg de N em R4	37,6	0,6	96,8	110,6	1,7	95,2	159,0 b	4,0	3,2	
<b>Sistemas de implantação</b>										
Disco duplo	39,4 <sup>ns</sup>	0,6	96,4 <sup>ns</sup>	102,2 <sup>ns</sup>	1,6	92,9 <sup>ns</sup>	219,5 <sup>ns</sup>	5,3 <sup>ns</sup>	3,1 <sup>ns</sup>	
Haste Sulcadora	33,4	0,6	97,1	114,7	1,7	94,0	202,8	4,9	3,7	
Média	36,4	0,6	96,8	108,4	1,7	93,5	211,2	5,1	3,4	
CV %	20	19	2	27	23	3	30	31	68	

Tabela 2 – Contraste ortogonal da produtividade entre tratamentos de aplicação de N. D1 – 0 kg de N, D2 – 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2, D3 – 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4, D4 – 40 kg de N em V6, D5 – 40 kg de N em R2, D6 – 40 kg de N em R4. Santa Maria, RS. 2015.

	Testemunha	Tratamentos	Estimativa do contraste	
			(Trat - Test)	*
Disco Duplo	3955	4311	356	*
Haste Sulcadora	4610	4510	-100	ns

(1) Média de D2, D3, D4, D5 e D6

\* Estimativa do contraste é significativa a 5% de probabilidade

ns - não significativo

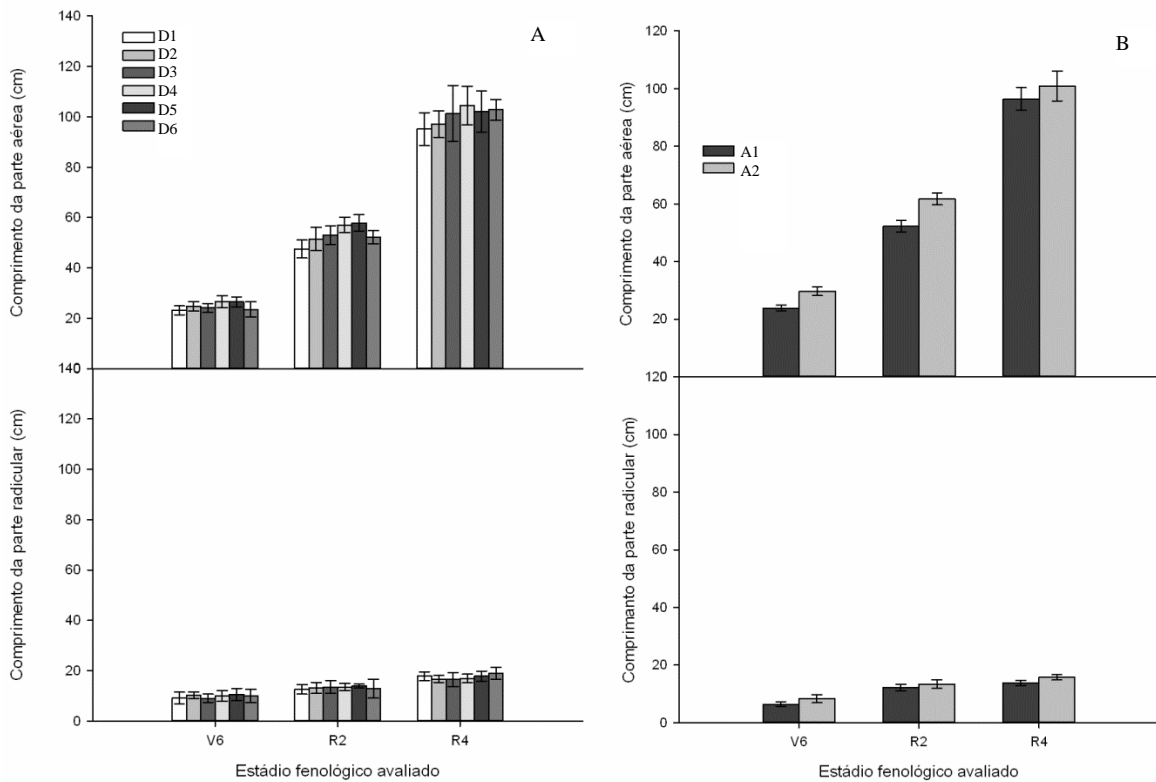


Figura 1 – Comprimento de parte aérea e parte radicular, mensurados em estágio fonológico V6, R2 e R4. A1- disco duplo, A2 – haste sulcadora, D1 – 0 kg de N, D2 – 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2, D3 – 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4, D4 – 40 kg de N em V6, D5 – 40 kg de N em R2, D6 – 40 kg de N em R4. Santa Maria, RS. 2015

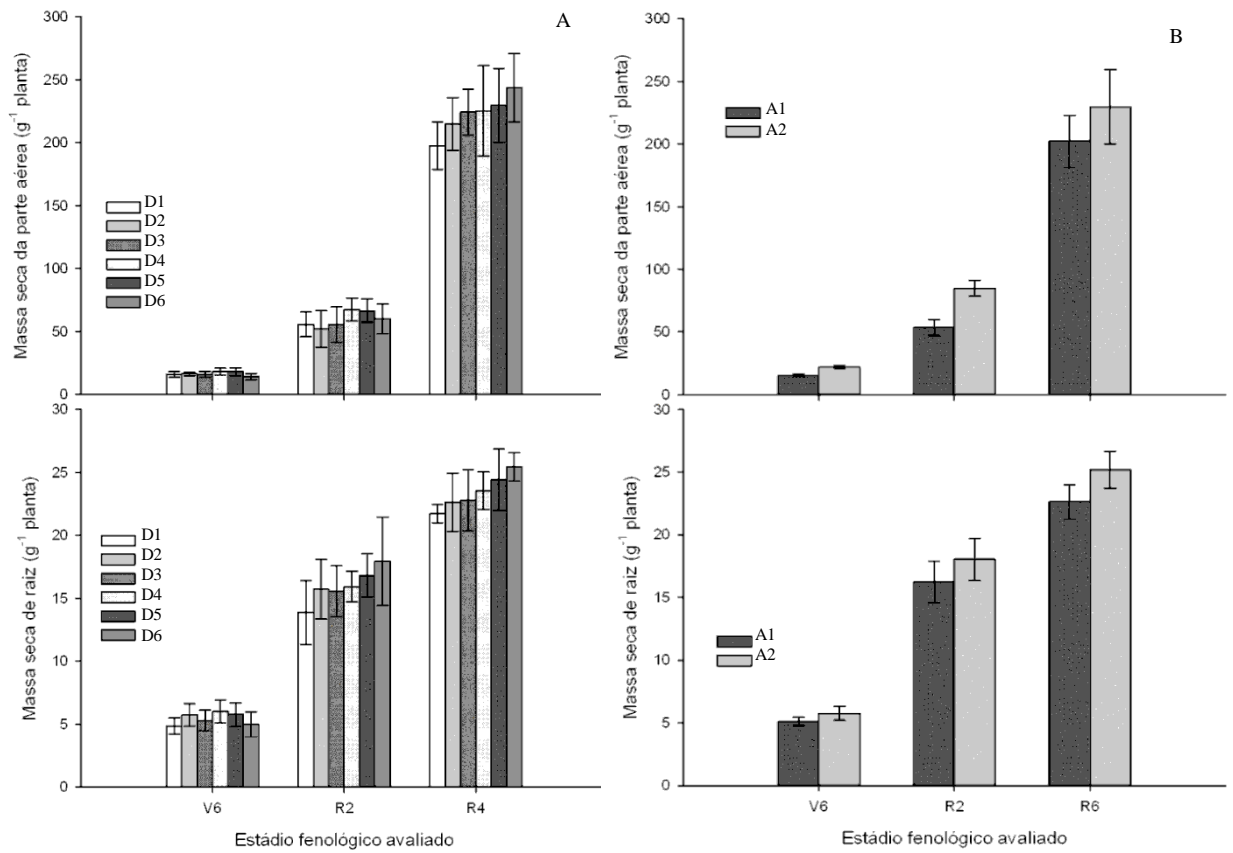


Figura 2 – Massa seca de parte aérea e parte radicular mensurados em estágio fonológico V6, R2 e R4. A1- disco duplo, A2 – haste sulcadora, D1 – 0 kg de N, D2 – 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2, D3 – 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4, D4 – 40 kg de N em V6, D5 – 40 kg de N em R2, D6 – 40 kg de N em R4. Santa Maria, RS. 2015.

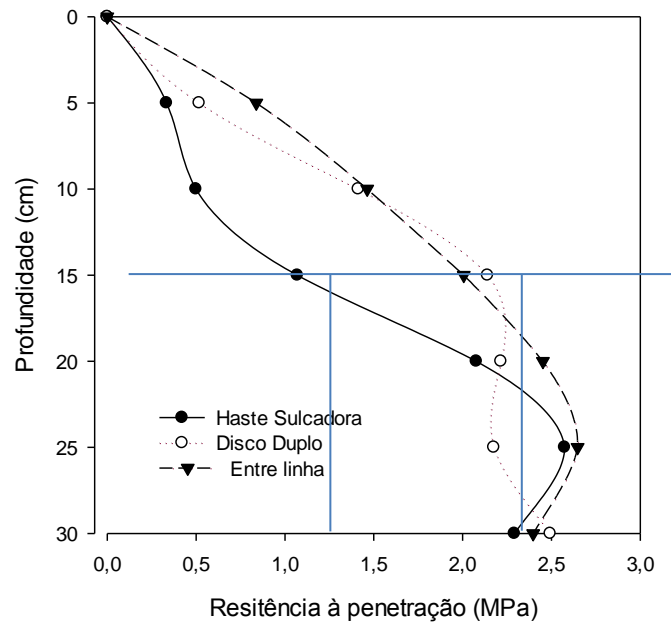


Figura 3 - Resistência à penetração na linha de semeadura com uso de haste sulcadora, disco duplo e na entre linha. Umidade do solo de  $0,3 \text{ g cm}^{-3}$  na camada de 0 – 20 cm de profundidade. Santa Maria, RS. 2015.

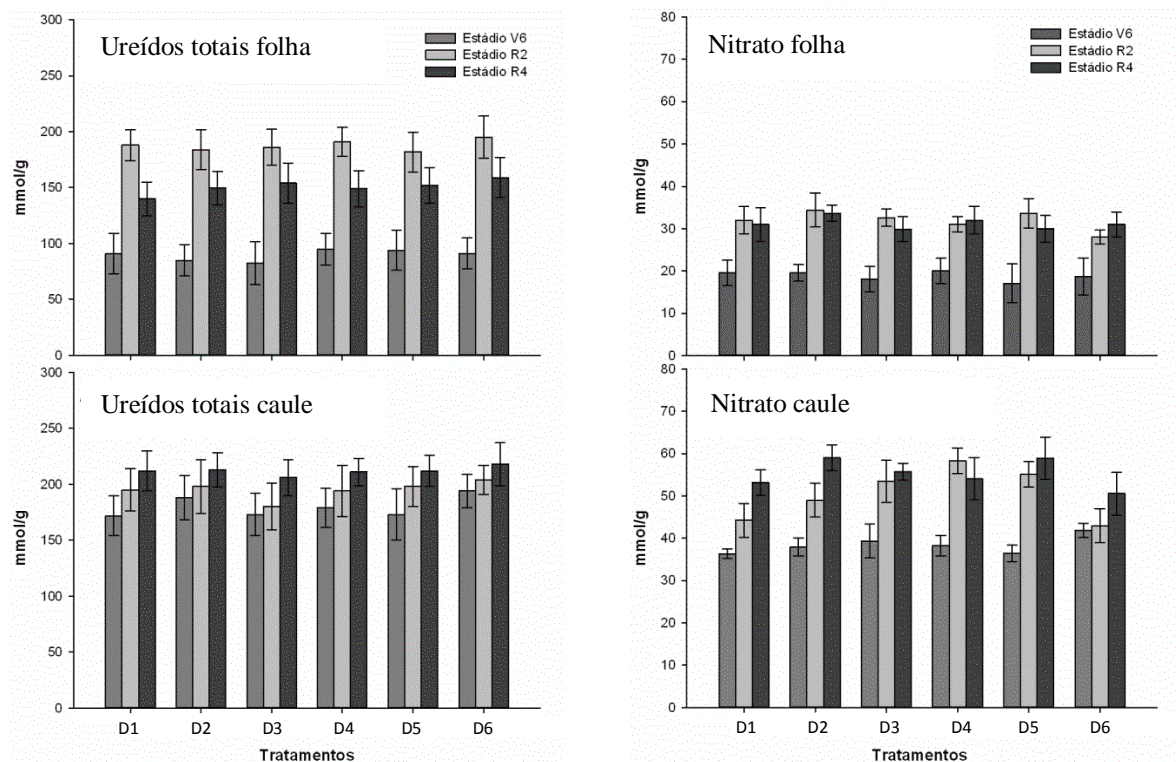


Figura 4 – Conteúdo de ureídeos e nitrato na folha e no caule por grama de massa seca de planta (mmol/g planta), avaliados em V6, R2 e R4. A1- disco duplo, A2 – haste sulcadora, D1 – 0 kg de N, D2 – 20 kg de N em V6 + 20 kg de N em R2, D3 – 20 kg de N em R2 + 20 kg de N em R4, D4 – 40 kg de N em V6, D5 – 40 kg de N em R2, D6 – 40 kg de N em R4. Santa Maria, 2015.

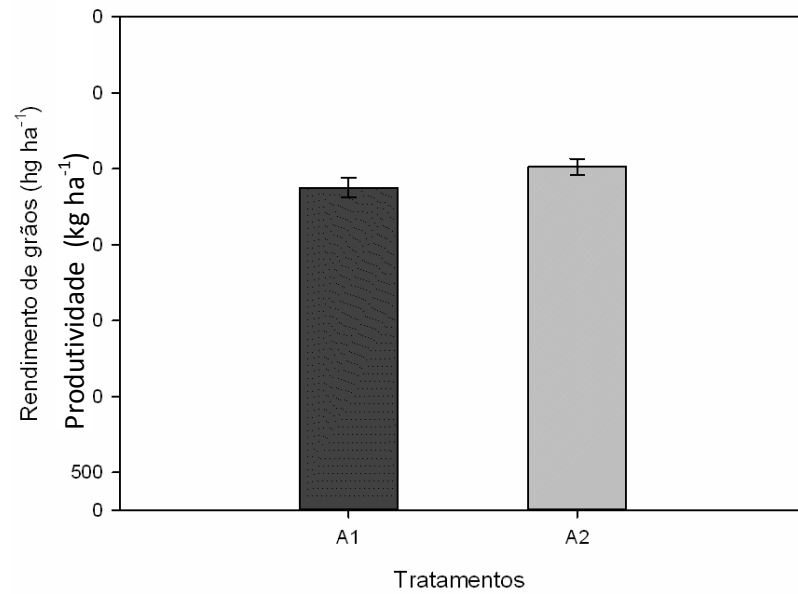


Figura 5 – Produtividade entre mecanismos de semeadura. A1- disco duplo, A2 - haste sulcadora. Santa Maria 2015.

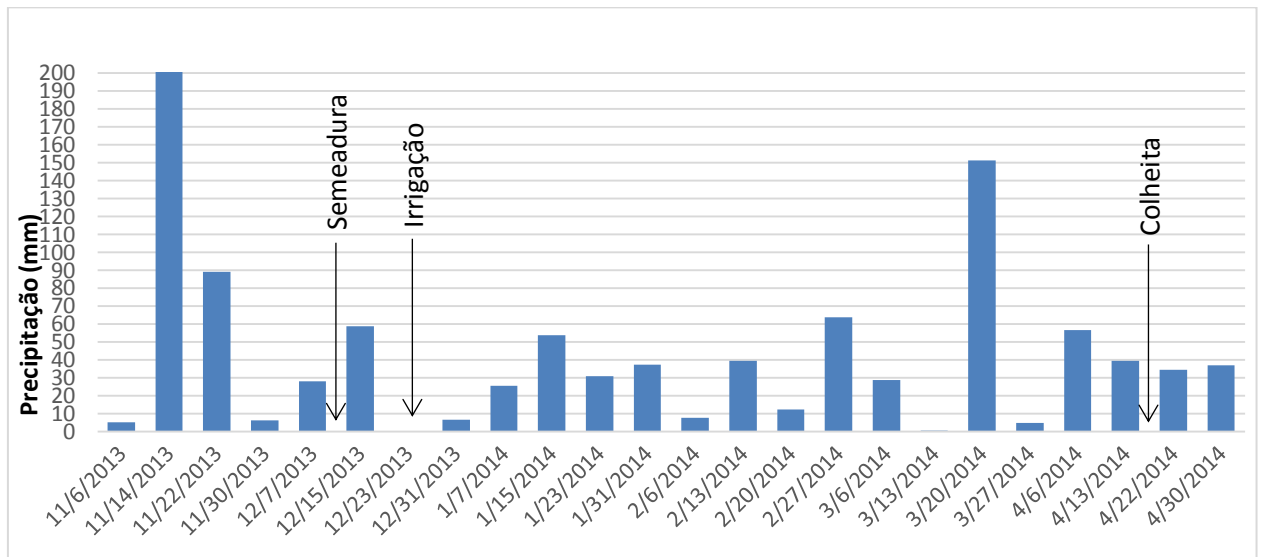


Figura 6 – Precipitação pluvial na safra 2013/14, com uma irrigação por banho, utilizando uma irrigação de 52mm no estágio fenológico V4, quando o solo estava com 60% da capacidade de campo. Santa Maria, 2015.



## 4 CAPÍTULO II

### ALTERAÇÕES ANATÔMICAS EM SOJA (*Glycine max*) EM FUNÇÃO DE EXCESSO HÍDRICO

#### Resumo

A soja é uma cultura com bom potencial para a rotação com arroz irrigado. Porém, quando há precipitações intensas, os solos de várzea podem reter a água por várias horas ou dias, ocasionando a hipóxia e conseqüentemente prejudicando o desenvolvimento de culturas como a soja. O objetivo do presente trabalho foi observar alterações anatômicas em plantas de soja submetidas ao excesso hídrico. A soja apresentou alterações anatômicas em função do alagamento, as quais puderam ser verificadas nos estádios fenológicos VC e V6. Aos 6 dias de inundação no estágio VC e a partir de 2 dias de inundação no estágio V6, as plantas desenvolveram aerênquimas, porém, o rompimento da epiderme e parênquima foram muito profundos à ponto da passagem de ar ser interrompida em parte dos canais, devido à presença de água no nível do rompimento. No entanto, a planta de soja desenvolveu concomitantemente raízes adventícias, e estas colaboraram com a manutenção das funções fotossintéticas da planta durante o período de estresse por hipoxia. Aparentemente, a formação de raízes adventícias figuram como estratégias importantes para a tolerância nessa cultivar de soja.

**Palavras chave:** baixo teor de oxigênio, modificações anatômicas, tolerância à hipoxia.

**Abstract**

Soybean is a high potential alternative for a crop rotation with irrigated rice. However, intense rainfall, on the lowland environment using conventional crop management for rice fields, tends to retain water for hours or even days, inducing soil hypoxia. This work aimed to observe anatomic alterations of soybean plants of the cultivar TECIRGA 6070 RR, submitted to water surplus. Soybean plants presented anatomic alterations in the phenological stages VC and V6. At 6 days of saturation at VC stage and from 2 days of saturation at V6 stage, the plants formed aerenchymas, although, the rupture of the epidermis and parenchyma were deep to the point of interrupting air passage in part of the canals, due to presence of water at rupture level. However, the soybean plants concomitantly developed adventitious roots, and these collaborated with the maintenance of the photosynthetic functions of the plant during the period of hypoxia stress. Apparently, the formation of adventitious roots figure as an important strategy for hypoxia tolerance for the cultivar for this cultivar.

**Key-words:** low oxygen rate, anatomic modifications, hypoxia tolerance.

## Introdução

As áreas de várzea no Rio Grande do Sul tem sido originalmente usadas para o cultivo do arroz irrigado, em razão do relevo plano e o solo com características que fazem com que este ambiente seja ideal para a cultura. No entanto, em razão do uso intensivo dessas áreas com o cultivo de arroz irrigado aliado ao uso inadequado de herbicidas para o controle seletivo, uma grande quantidade de espécies invasoras vem se tornando resistentes, e para contornar esse problema surge como alternativa a rotação de culturas. Porém as características das áreas de várzeas, como por exemplo, a facilidade de saturação do solo, restringe a rotação de culturas nessas áreas com culturas de sequeiro.

Neste cenário uma cultura em potencial para ser utilizada nas áreas de várzea é a soja, no entanto, surgem obstáculos que impedem o adequado desenvolvimento da espécie. Após precipitações intensas o solo de várzea tende a saturar por vários dias até que a água precipitada seja drenada para fora da lavoura e consumida por evapotranspiração. Em até 24 horas após uma precipitação elevada que gera alagamento, em um ambiente de 20° C, pode haver o esgotamento do O<sub>2</sub> pelo consumo deste pela comunidade microbiana (OLIVEIRA et al. 2013; SOUSA et al., 2010). A falta de O<sub>2</sub> pode prejudicar o desempenho de espécies leguminosas como a soja, pois são particularmente sensíveis ao estresse do alagamento devido à dependência da simbiose para o fornecimento de nitrogênio, um processo que demanda grandes quantidades de O<sub>2</sub> (BACANMWO & PURCELL, 1999), sendo a simbiose inibida praticamente de imediato quando ocorre alagamento (AMARANTE & SODEK, 2006; JUSTINO & SODEK 2013). Estudos relatam que a atividade da nitrogenase e de glutamina na seiva do xilema é mais rapidamente estabelecida quanto mais curto o período de saturação (JUSTINO & SODEK, 2013).

No entanto, há informações de que a soja seja oriunda de regiões alagadas da China, sendo posteriormente adaptada para o ambiente de sequeiro (EVANS, 1996). Assim, a planta de soja mantém no seu germoplasma genes capazes de permitir sua adaptação fisiológica às condições impostas pelo cultivo em várzeas, como sugerido por Pires et al. (2002).

Diante disso, existem genótipos tolerantes de soja que tendem a desenvolver adaptações morfológicas para as condições de hipoxia (BADINELLI, 2008; PIRES et al., 2002; THOMAS, 2004). A tolerância das plantas à falta de oxigênio é avaliada pela habilidade que a planta tem de desenvolver mecanismos que conduzam O<sub>2</sub> para a região rizosférica, criando um ambiente oxidado envolta das raízes (DREW 1985; ARMSTRONG e WEB, 1985; BARLETT e JAMES, 1993). Um desses mecanismos é o desenvolvimento de

aerênquimas, decorrente da morte das células da planta, causada pelo etileno que aumenta suas quantidades no tecido vegetal, além de alongamento de raízes (JACKSON, 1985). Outro mecanismo oriundo desse processo é a formação de raízes adventícias (PIRES et al., 2002).

Os aerênquimas podem ser divididos em dois tipos; os corticais e os secundários. Os aerênquimas secundários são desenvolvidos pela divisão celular induzida pela hipoxia, formando um tecido de parênquima esponjoso. Os aerênquimas corticais são formados por separação ou diferenciação de células adultas (aerênquima esquizógeno) ou por morte e dissolução de células (aerênquima lisígeno). Os dois tipos de aerênquima podem ser encontrados na mesma planta e o aerênquima esquizógeno pode preceder a ocorrência do aerênquima lisígeno no mesmo órgão (THOMAS, 2005). É importante destacar que os aerênquimas podem se formar no caule, hipocótilo, raiz principal, raízes adventícias, e nódulos das raízes, rizomas e folhas submersas (DREW et al., 2000; GIBBERD et al., 2001; SHIMAMURA et al., 2003; SCHUSSLER & LONGSTRETH, 2000; THOMAS et al., 2005;).

Acredita-se que as mudanças estruturais podem contribuir para o sustento da respiração aeróbica e crescimento da planta (ARMSTRONG & WEBB, 1985; DREW et al. 1985). Porém, tem sido sugerido que órgãos aerenquimatosos são frequentemente preenchidos com água ou fluido, característica que os impediria de realizar a transferência do O<sub>2</sub> (CANNY 1995). Na cultivar Asoagari, de *Glycine max* (SHIMAMURA et al., 2010), foram feitas considerações sobre a difusão de O<sub>2</sub>, do caule para as raízes através de tecidos alagados, em plantas que passaram por períodos de cinco semanas de alagamento. Em soja a exposição de tecidos aerenquimatosos é observado em diferentes cultivares em função da diferenciação do próprio aerênquima (THOMAS et al., 2005; SHIMAMURA et al., 2003; SHIMAMURA et al., 2010), que gera aumento em diâmetro não acompanhado pela epiderme que se rompe. Situação similar é observada em outras espécies como *Trifolium resupinatum* (GIBBERD et al., 2001), *Luffa cylindrica* (SHIMAMURA et al., 2007) e diferentes espécies de Melastomataceae (SOMAVILLA & GRACIANO-RIBEIRO, 2012). Em diferentes monocotiledôneas, considerando aquelas típicas de ambiente alagado, ou solo encharcado, o tecido aerenquimatoso raramente é exposto ao ambiente externo, uma vez que o aerênquima dos tecidos corticais não sofre crescimento contínuo, ou modular por meio da formação de aerênquima secundário, sendo citado que seu desenvolvimento é controlado (EVERT 2013). Além disso, nas raízes, a epiderme, usualmente associada a exoderme, forma uma estrutura compacta que atua como excelente isolante do aerênquima (EVERT, 2013). Considerando-se que os condutos de ar na região cortical em tais plantas são delimitados por lamelas e/ou diafragmas, mesmo com a emergência de raízes laterais, podem ser mantidos espaços

contínuos de ar em comunicação entre a região cortical das raízes com a região cortical do hipocótilo, caule e folhas. *Oryza sativa* possui estrutura anatômica muito bem estudada nesse aspecto (AULAKH et al., 2000; VOESENEK et al., 2006; WEBB et al., 1986).

Mudanças anatômicas são prováveis de serem desenvolvidas em longo tempo de aclimatação ao estresse causado pela saturação no campo (BACANMWO & PURCELL, 1999). Porém em condições reais de campo, os períodos de saturação são inferiores aos usualmente estudados (BACANMWO & PURCELL, 1999; PIRES et al., 2002; SHIMAMURA et al., 2003 THOMAS et al., 2005). As modificações podem se mostrar diferentes diante do momento em que a planta sofre o estresse. Diante disso, este trabalho visa avaliar as modificações anatômicas durante diferentes estádios fenológicos e tempos de saturação do solo.

### **Material e métodos**

O experimento foi realizado na safra de 2013/14 em casa de vegetação na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sendo o solo coletado da área experimental de várzea. O solo é classificado como Planossolo Háptico eutrófico arênico pertencente à unidade de mapeamento Vacacaí (EMBRAPA, 2013). O experimento foi em esquema fatorial e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 3 repetições para cada tratamento. O fator A foi composto pelos estádios em que o solo foi mantido em saturação, com lâmina de água de três centímetros, sendo os estádios VC, folhas unifolioladas com as margens não mais se tocando e V6, seis nós do caule com folhas desenvolvidas começando com os nós das folhas unifolioladas (COSTA & MARCHEZAN, 1982). O fator D foi composto por três condições de saturação do solo (solo não saturado, 2 e 6 dias). As unidades experimentais foram vasos plásticos com volume de 5 litros com dimensões de 20 x 20 cm. O solo foi seco a 60 °C e 4 Kg foi adicionado para cada unidade experimental. Utilizou-se solo de várzea para que a planta pudesse ter seu desenvolvimento em um ambiente representativo das condições físicas das áreas de várzea, em vista desse responder de forma distinta (em comparação a substratos normalmente utilizados em experimentos de saturação, como a turfa) ao alagamento. Essa prática ocorreu para que a planta tivesse a resistência que as raízes e caule encontram no campo. Essa resistência influencia nas rupturas dos tecidos que já estão frágeis devido ao alagamento, pois quando o solo é alagado, a água substitui o ar presente nos poros do solo, e ao comprimir o ar remanescente nos espaços, destrói os agregados (MEURER, 2012).

A irrigação foi realizada a cada dois dias até a capacidade de campo. A cultivar de soja utilizada foi TEC IRGA 6070 RR, devido à sua adaptação em terras baixas, na quantidade de cinco sementes por vaso para posterior raleio e permanência de apenas uma planta em cada vaso. A semeadura foi realizada no dia 15 de Novembro de 2013 na profundidade de 3 cm. A adubação de base foi realizada conforme a indicação da análise de solo.

As plantas foram coletadas após cada tempo de saturação (antes da irrigação, 2 dias e 6 dias após saturação), em cada estágio avaliado, para a observação das transformações anatômicas da planta mediante o alagamento. As plantas foram coletadas e lavadas e posteriormente levadas ao laboratório para fixação do material, onde foram seccionadas entre raízes e hipocótilo. Desse material foram retiradas as partes da planta de interesse, hipocótilo e raízes, as quais foram dissecadas com auxílio de microscópio estereoscópio Leica M80. Posteriormente, o material foi fixado em glutaraldeído 3% lavado em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,2 (GABRIEL, 1982) e desidratado em série etílica ascendente (10, 30, 50, 70, 90, 100%), 30 min cada etapa. Após, foi realizada lavagem em Tween20 durante cinco dias. O material foi pré-infiltrado com uma solução 1:1 de hidroxietilmetacrilato e etanol absoluto durante o período de 24 h, seguido de infiltração em hidroxietilmetacrilato por cerca de 24 h, e as partes da planta a ser estudada foi emblocada com a mesma resina em Histomold Leica até sua polimerização (GERRITS & SMID, 1983). Os blocos resultantes foram seccionados em micrótomo de rotação Leica RM2245, na espessura de 6 µm, os quais foram afixados em lâminas histológicas de vidro através de aquecimento em chapa aquecedora a 60 °C durante 30 minutos.

As seções para análise em microscópio de luz foram coradas com Azul de Toluidina 0,05% pH 4.4 (FEDER e O'BRIEN, 1968) e 3% Azul de Astra aquoso, durante 1 h 30min a 2 h e fucsina básica 0,05% em álcool etílico 50% durante 1 min (adaptado de KRAUS et al., 1998), seguido de diferenciação e rebaixamento da coloração em solução de etileno glicol e etanol absoluto 1:1. Para detecção de lipídios foi utilizado o corante Sudan Black B (O'BRIEN & McCULLY 1981).

As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio Leica DM2000 onde foram obtidas fotomicrografias através de captura digital em câmara Leica DFC 295 e software LAS Leica.

## Resultados e discussão

### Morfologia externa

A cultivar de soja TEC IRGA 6070RR, possui um eixo hipocótilo-radícula cilíndrico, nos diferentes estádios analisados. A porção hipocotiledonar possui 1,5 a 2,5 cm de comprimento em VC-V1 (Figuras 1A a 1C), e entre 5 e 7 cm de comprimento no estádio V6 (Figuras 1D a 1F). O hipocótilo é o local da diferenciação de lenticelas típicas, além do local de emergência de raízes adventícias em casos de alagamento (Figuras 1C e 1F).

Tanto em VC quanto em V6 se observa aumento da produção de raízes adventícias superficiais em função do tempo de alagamento (Figuras 1C e 1F). Cabe salientar que em V6 a resposta da planta ao alagamento, em relação à velocidade e quantidade de produção de raízes adventícias é relativamente maior. Assim, em função do estresse gerado pelo alagamento, ocorre alteração do padrão estrutural da planta em função da emergência de raízes adventícias na região hipocotiledonar. Em diferentes espécies de *Rumex*, Polygonaceae, (VISSER et al., 1996), a formação de raízes adventícias é considerada um aspecto do desenvolvimento associado ao alagamento, tendo sido observado também em *Helianthus annuus* (KAWASE, 1974).

Para a formação de raízes adventícias, a planta envia carboidratos para as novas estruturas que, em uma situação sem estresse, seriam utilizadas para expansão de área foliar, porém para garantir a sobrevivência da planta, esses carboidratos são realocados para a formação de raízes adventícias (BACANMWO & PURCELL, 1999), as quais são preferência de translocação de fotossintatos em comparação com raízes primárias devido à sua porosidade elevada (JUSTIN & ARMSTRONG, 1987). Assim, as raízes adventícias podem colaborar com a elevação do desenvolvimento dos espaços internos para o transporte de gases para as partes submersas por um caminho de menor resistência para aumentar o transporte de O<sub>2</sub> e aumentar a condutividade hidráulica nas raízes (BACANMWO & PURCELL, 1999). Quando o solo é bem drenado, as raízes obtêm oxigênio suficiente para a respiração aeróbica do espaço gasoso do solo, sendo a concentração de O<sub>2</sub> no solo semelhante à do ar úmido. Quando alagado e a temperatura está acima de 20°C, o solo perde rapidamente grande parte do O<sub>2</sub> disponível e a sua entrada e difusão é muito lenta, o que permite que apenas poucos centímetros na superfície da lâmina de água sejam oxigenados (SHIMAMURA et al., 2010; TAIZ & ZAIGER, 2012). Assim, são formados gradientes de concentração de oxigênio, delimitando uma camada superficial oxidada e outra, abaixo, reduzida (TAIZ & ZAIGER, 2012). A camada oxidada pode ter uma espessura variável, mas sem passar de alguns

centímetros, a qual apresenta oxigênio dissolvido e compostos oxidados (MEURER, 2012). É nesta camada de poucos centímetros que se estabelecem as raízes adventícias. Tendo disponível oxigênio para a respiração radicial e substituindo, para sobrevivência, as raízes mais profundas. Em *Rumex palustres* (VISSER *et al.*, 1996) o sistema radicular adventício substitui o sistema primário após uma semana de alagamento.

Na região hipocotiledonar, de emergência de raízes adventícias, ocorre emergência de raízes tanto na região de formação de amplas lenticelas, quanto regiões adjacentes, onde a epiderme é contínua (Figuras 1C, 1E, 1F). Porém a região cortical, em função do tempo de alagamento, se mostra diferenciada em um aerênquima muito desenvolvido e contínuo na região cortical. Em função da abertura ampla ao ambiente externo, gerada pelas lenticelas hipertrofiadas, é possível que mesmo regiões opostas às mesmas estejam alagadas, preenchendo espaços intercelulares com água e interrompendo o contato dos espaços de ar e de sua transmissão para os tecidos radiculares da raiz principal.

Aparentemente, a função que seria destes canais alagados pode ser compensada pela produção constante de raízes adventícias superficiais, as quais, como observado em VC ou V6 aos zero e dois dias, apresentam espaços contínuos de ar. Assim, a oxigenação de raízes ocorrerá pelo tempo de alagamento nas raízes adventícias e nos canais íntegros, os quais portanto, apresentam condições de suprir as demandas nutricionais e hídricas da raiz para sua sobrevivência, como observado neste trabalho.

### **Anatomia do hipocótilo e da raiz em solo não saturado**

A epiderme ocorre com uma única camada de células compactas, na qual ocorreram estômatos (Figura 2A). A região cortical é preenchida por tecido parenquimático com espaços intercelulares pouco desenvolvidos, porém se estabelecendo entre todas as células na região (Figura 2A).

A endoderme, limite interno do córtex, apresenta uma única camada de células (Figura 2). O periciclo apresenta duas camadas celulares (Figura 2). Não se desenvolvem espaços intercelulares entre as células da endoderme e do periciclo.

No estágio V6 são constatadas algumas mudanças estruturais em função do desenvolvimento. Os estômatos possuem câmaras subestomáticas em contato com espaços intercelulares e lacunas na região cortical. A epiderme apresenta crescimento proliferativo por divisões anticlinais, aparentemente, associado ao crescimento do tecido vascular.



A região cortical é preenchida por tecido parenquimático. Apresenta sete a dez camadas celulares de espessura, tendo havido desenvolvimento de espaços intercelulares mais amplos, lacunas ou amplas cavidades (Figura 3A). Espaços intercelulares e lacunas possuem origem esquizógena, enquanto as cavidades possuem origem esquizo-lisígenas.

No estágio fenológico V6, o tecido parenquimático inicia a formação de aerênquima independentemente do alagamento, porém sem romper as camadas externas, a epiderme. Porém estudos anatômicos nas cultivares IAC-8 e IAC-14, de *Glycine max*, que se desenvolveram em solos compactados, não desenvolveram aerênquima. Essa diferença entre cultivares pode ser explicada pela formação de aerênquima ser uma característica constitutiva de algumas cultivares, induzida pela genética da cultivar.

Internamente à região cortical ocorre o periciclo, local onde ocorre diferenciação de feixes de fibras pericíclicas esclerificadas. Mais internamente, ocorre tecido parenquimático, similar ao observado na região cortical, embora com volumes celulares menores. Os feixes de fibras pericíclicas figuram como referências topográficas se diferenciando internamente à endoderme e externamente ao floema (ESAU, 1977).

No presente estudo o reconhecimento dos limites, principalmente pelo reconhecimento dos tecidos limítrofes, de endoderme e de periciclo, é importante, pois a origem do felogênio primário, ou periderme primária, e as peridermes sequenciais e aerênquima secundário em soja, sob efeito de alagamento, foram descritas com base nesses tecidos (THOMAS et al., 2005).

### **Anatomia da raiz principal e de suas derivadas**

Em indivíduos em estágio fenológico VC, com solo não saturado, se observa epiderme simples, uma região cortical parenquimática com endoderme como limite interno, envolvendo, portanto, uma região central cujo limite externa está representado por células do periciclo (Figura 6A). A região cortical é preenchida por tecido parenquimático com espaços intercelulares pouco desenvolvidos, o que demonstra que a planta ainda não está desenvolvendo aerênquima no estágio vegetativo VC quando não há saturação. A raiz principal é sempre tetrarca, estrutura típica em soja (KUMUDINI, 2010).

Em indivíduos em estágio fenológico V6, de maneira geral, as raízes em estágio primário de desenvolvimento apresentaram epiderme simples. A região cortical é composta por parênquima típico, devendo ser evidenciada a presença de espaços intercelulares e lacunas (Figura 6A). Assim como no hipocótilo, no estágio vegetativo mais adiantado inicia-se a

formação de aerênquima mesmo quando não há exposição ao alagamento. Esta observação pode estar relacionada à baixa porosidade do solo, o que impede a difusão completa do O<sub>2</sub>, acrescida da característica constitutiva da cultivar de formar aerênquimas. A endoderme é contínua e composta por uma única camada celular.

O cilindro central possui limite externo no periciclo, composta por uma camada celular (Figura 5A), devendo ser considerado que não foi possível confirmar a presença de mais de uma camada de células no periciclo. Na variedade ‘Monroe’ de soja, o periciclo foi descrito com uma a duas camadas junto ao floema e duas a três camadas junto ao xilema (SUN, 1955). O floema possui uma calota de fibras internamente ao periciclo, seguido de tecido vascular. O xilema primário ocupa a porção central do cilindro central e atinge o periciclo ocorrendo, na periferia do cilindro central, alternadamente o floema.

### **Desenvolvimento secundário**

O desenvolvimento inicial dos tecidos vasculares possui predomínio xilemático, o qual contribui com grande quantidade de células, e efetivo aumento do diâmetro das raízes, o qual é acompanhado pelos tecidos corticais e epiderme.

Em função do acúmulo de células xilemáticas e o aumento de volume radial, logo ocorre deslocamento centrífugo de células, havendo compressão de células do periciclo pelas fibras de floema. Quando o câmbio adquire contorno cilíndrico se observa a formação do felogênio a partir do periciclo. Em análises similares em indivíduos de *Glycine max* ‘FT Abyara’ foi descrito que o periciclo participa da formação de tecido que se forma o aerênquima secundário (THOMAS et al., 2005), resultado compatível com aspectos de desenvolvimento demonstrados no presente estudo (Figuras 2C, 3C, 4A, 5B, 5C, 7B). De maneira geral, a formação do felogênio é descrita, tanto para raízes quanto para caules, em diferentes tecidos, incluindo o periciclo (ESAU, 1977; FAHN, 1990; ROMBERGER et al., 1993).

Nas condições do experimento, principalmente pelo uso de solo de local de cultivo, se observa grande compressão e perdas da epiderme e camadas externas da região cortical (Figura 4A, 6B, 6C). São observados partículas de solo e elementos da rizosfera associados aos tecidos comprimidos (Figura 7B).

### **Alterações estruturais em função da saturação do solo**

Aos dois dias de saturação do solo, a análise histológica do hipocótilo mostrou que em indivíduos em estágio VC, a única diferença em relação ao solo não saturado, diz respeito à estimulação de divisões celulares, tangenciais e radiais, na camada celular externa a endoderme (Figura 2B), também observado em outra cultivar de soja (THOMAS et al., 2005) e outras espécies de dicotiledôneas (KAWASE, 1974; SHIMAMURA et al., 2007). Nas raízes, também em VC, foi observada a formação de lacunas de ar na região cortical, em função de desagregação da lamela média (Figura 5B). Assim, após dois dias de alagamento são observadas características estruturais de adaptação ao ambiente hipóxico, embora a sinalização para desencadeamento de tais alterações deve ocorrer antes, indicando a sensibilidade da cultivar ao alagamento.

Aos seis dias de saturação, em VC, houve grandes modificações no hipocótilo e nas raízes (Figuras 2C, 5B). Assim, após seis dias de alagamento se observa a formação de grandes espaços intercelulares e lacunas esquizógenas e esquizo-lisígenas na região cortical. O felema apresenta grande crescimento proliferativo associado à desagregação celular, formando a primeira camada de aerênquima secundário (Figuras 2C, 6B). Aparentemente, o crescimento acentuado da periderme gera grande aumento do diâmetro do hipocótilo e das raízes e rompimento de tecidos corticais e epiderme (Figuras 6A, 6B). As fases do desenvolvimento do aerênquima secundário no presente estudo são idênticas às descritas para outra cultivar de soja (SHIMAMURA et al., 2003).

A análise histológica permite observar que o rompimento dos tecidos é profundo no hipocótilo e raiz principal, expondo derivadas recentes do felogênio (Figuras 6A, 6B). O felogênio e derivadas recentes do felema se mantêm compactos, fato que isola o tecido vascular. Essas características, observadas aos seis dias de saturação em VC-V1, mostram que, mesmo em estágio inicial, a planta se modificou anatomicamente, com intumescimento do caule, desenvolvimento e rompimento de lenticelas e formação de aerênquima secundário. Como observado em outros trabalhos, os aerênquimas se desenvolvem pouco até os quatro dias de inundação e depois aumentam o seu desenvolvimento rapidamente (THOMAS, 2004).

Em indivíduos em V6 é observado, aos dois dias de saturação, a ampliação das cavidades e lacunas na região cortical, tanto no hipocótilo quanto na raiz (Figuras 3B, 7B) e ampliação e rompimento das lenticelas hipocótilo que acaba se estendendo longitudinalmente na raiz principal (Figura 1E). Em regiões mais inferiores no eixo hipocotiledonar, ou seja, que apresentam estágio de desenvolvimento mais adiantado é observado rompimento e perda de

extensões maiores de tecido na região das lenticelas. No trabalho apresentado por Thomas *et al.* (2005), também em *G. max*, houve hipertrofia das lenticelas, após um dia de alagamento, embora não tenha sido descrita ampliação de espaços intercelulares e cavidades na região cortical.

Em indivíduos em V6 é observado, aos seis dias de saturação, tanto no hipocótilo quanto na raiz, a formação de peridermes sequenciais e aerênquima secundário (Figuras 3C, 4A, 6B, 6C). As peridermes sequenciais se desenvolvem em derivadas do periciclo que se formam externamente às fibras, como observado em indivíduos nos estádios VC e V6 não submetidos ao alagamento. O felogênio, também nas peridermes sequenciais, e suas derivadas mais recentes, com quatro a seis células de largura, mostram estrutura compacta.

Na região de emergência da raiz adventícia, é observada continuidade entre o felema do hipocótilo e o tecido na região cortical da raiz adventícia, ambos com amplos espaços intercelulares (Figura 4A).

As análises de seções longitudinais mostraram que ocorre continuidade de espaços entre aerênquimas secundários também em alturas distintas no hipocótilo (Figura 4A), onde tal aspecto estrutural pode indicar possibilidade de contato do ambiente externo com tecidos profundos tanto radialmente quanto longitudinalmente nos indivíduos (Figuras 4A, 4C). Acredita-se que a conexão radial e longitudinal dos espaços na região cortical permita ampla penetração do fluido líquido da inundação nessas regiões. O alagamento dos tecidos internos gera redução da pressão de oxigênio em função da difusão do O<sub>2</sub>, além do seu consumo pelas células imersas observado em experimento conduzido na cultivar Asoogari de soja (SHIMAMURA *et al.*, 2010).

### **Anatomia das raízes adventícias**

A epiderme diferencia uma zona pilífera e é composta por células justapostas com paredes cutinizadas. A região cortical é composta por sete a dez camadas de células parenquimáticas com espaços intercelulares (Figura 4B). As raízes usualmente são tetrarcas e possuem periciclo com uma única camada celular. (Figura 4B) No período anterior aos dois dias de alagamento não são observadas, externamente ao limite do hipocótilo raízes adventícias. No estágio VC-V1 e V6, aos seis dias de alagamento, as raízes adventícias possuem estrutura similar. Na região cortical são observados espaços intercelulares (Figuras 4A, 4B). Tais espaços intercelulares possuem continuidade com outros espaços intercelulares,

formando lacunas (Figuras 4A e 4B). Há formação de aerênquimas secundários da região cortical no hipocótilo (Figura 6A).

### **Considerações sobre o efeito do alagamento para hipocótilo e raízes**

Podem ser destacados quatro modos de ocorrência de espaços intercelulares: a) espaços intercelulares de volumes reduzidos nos vértices celulares, comuns aos tecidos parenquimáticos, b) desagregação de células, com separação na região da lamela média, podendo ser denominado como espaço esquizógeno, c) formação de espaços intercelulares, ou lacunas, seguido de lise celular, podendo ser denominada esquizo-lisígeno e d) formação de aerênquima secundário. De maneira geral, o último modo de formação de lacunas, em aspectos gerais é muito similar aos tipos lisígeno ou esquizo-lisígeno, contudo o crescimento que gera afastamento das células figura como aspecto interessante de ampliação de espaços, vinculado ao crescimento celular.

A análise das secções histológicas, em diferentes regiões do hipocótilo, raiz principal, raízes adventícias, bem como raízes laterais tanto da raiz principal, quanto das raízes adventícias, mostrou alterações estruturais influenciadas pelo alagamento. As alterações relacionadas a dissociação de células foi predominante, cuja tendência se entende gerar perda dos tecidos periféricos externos ao felogênio mais interno, sempre formado próximo ao tecido vascular. Assim a perda de tecidos está relacionada com o tempo de permanência sob efeito de alagamento, tendo sido observado formação de grande número de espaços intercelulares, aumento do tamanho dos espaços intercelulares e desagregação de células em pequenas e grandes extensões, gerando a formação de cavidades. Essas cavidades sendo consideradas esquizógenas; embora em havendo lise da estrutura celular gera a formação de espaços lisígenos, havendo ainda combinação de ambos os processos.

Em função dos resultados obtidos se permite compreender o efeito do alagamento sobre a estrutura externa e interna, além do desenvolvimento dos indivíduos estudados.

A água também pode ser um carreador de gases como o oxigênio, porém a concentração oxigênio na água ( $8,11 \text{ mg L}^{-1}$  quando saturada, 0,8% (CONNELL, 2005) é extremamente inferior à contida no ar (21%). Nesta situação, há redução das trocas gasosas entre o sistema radicular das plantas e os espaços porosos do solo, uma vez que a taxa de difusão do oxigênio é 10.000 vezes menor no meio aquoso em relação ao solo seco (ARMSTRONG et al., 1994).

## Considerações gerais

O estresse gerado pelo alagamento induz a alteração do padrão estrutural da planta, em função da emergência de raízes laterais na região hipocotiledonar.

A análise histológica comparada do hipocótilo e raiz, relacionando os estádios de desenvolvimento e períodos de alagamento, mostrou que o felema, seguido da formação e diferenciação de células do aerênquima secundário, é responsável por grandes alterações estruturais nos órgãos. O tecido vascular, no hipocótilo e na raiz, tanto primário quanto secundário, não apresenta modificações, em função do alagamento, quando comparado seu desenvolvimento em solo não saturado.

Aparentemente, a tolerância dos indivíduos é dada pela produção constante de raízes adventícias, as quais possuem um aerênquima pouco desenvolvido que, portanto, se mantém isolado do ambiente alagado, mas formando um caminho contínuo com porções superiores do hipocótilo não inundadas, gerando difusão de gases. Assim, de maneira geral, os indivíduos sob estresse incrementam sua estrutura, a qual é similar à observada em indivíduos adaptados ao ambiente alagado, como *Oryza sativa* (Webb & Jackson, 1986; Aulakh et al., 2000). Tal estrutura se aproxima da produção de um sistema radicular fasciculado, com raízes adventícias superficiais, onde a produção constante de tais módulos estruturais substitui a raiz primária (Tomlinson, 1961; Esau, 1977; Bell, 2008).

Nas condições do presente estudo, devido à compactação de solo dentro dos vasos, ao contrário de experimentos realizados com outros substratos (Thomas *et al.*, 2005; Shimamura et al., 2010), foram constatadas grandes perdas de tecidos corticais nas plantas gerando, portanto, rompimento de continuidade de parte dos caminhos de baixa resistência para a difusão de gases, a partir do ambiente aéreo, por via cortical, até a raiz pivotante e todas as demais raízes de diferentes ordens de surgimento. É possível que o efeito da compactação do solo tenha sido somada ao efeito do alagamento, os quais foram fontes de estresse que estimularam alterações estruturais nas plantas, como a formação de aerênquima e raízes adventícias.

## Conclusão

A soja apresenta modificações anatômicas através de aerênquimas e raízes adventícias durante os estádios fenológicos VC e V6, quando em condições de alagamento.

As modificações anatômicas foram importantes para a sobrevivência das plantas de soja da cultivar TECIRGA 6070 RR.

### Referências

AMARANTE, L.; SODEK, L. Waterlogging effect on xylem sap glutamine of nodulated soybean. **Biologia Plantarum**, v. 50, p.405-410, 2006

ARMSTRONG, W. et al. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 43, p.307-358, 1994

ARMSTRONG, W.; WEBB, T. Acritical oxygen pressure for root extension in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, p.1573-1582, 1985

AULAKH, M. S. et al. Pattern and amount of aerenchyma relate to variable methane transport capacity of different rice cultivars. **Plant Biology**, v. 2, p.182-194, 2000

BACANMWO, M.; Purcell, L. C. Soybean root morphological and anatomical traits associated with acclimation to flooding. **Crop Science**, v. 39, p.143-149, 1999

BADINELLI, P. G. Respostas bioquímicas e fisiológicas de plantas noduladas de soja submetidas à hypoxia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, dissertação de mestrado. 100p. 2008

BARTLETT, R. J.; JAMES, B. R. Redox chemistry of soil. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 50, p.151-208, 1993

Bell, A. D. *Plant Form: An Illustrated Guide to Flowering Plant Morphology*. Timber Press. London. 2008

CANNY, M. J. Apoplastic water and solute movement: new rules for an old space. **Annual review of plant biology**, v. 46(1), p.215-236. 1995

- CONNELL, D. W. Basic concepts of environmental chemistry. **CRC Press**. 2005
- COSTA, J. A.; MARCHEZAN, E. Características dos estádios de desenvolvimento da soja. Campinas: **Fundação Cargill**, 30p. 1982
- DREW, M. C. et al. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in plant science**, v. 5(3), p.123-127. 2000
- DREW, M. C. et al. Larger adenylate charge and ATP/ADP ratios in aerenchyma roots of *Zea Mays* in anaerobic media as a consequence of improved internal oxygen transport. **Planta**, v. 165, p.51-58, 1985
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília: Embrapa-SPI. 2013
- ESAU K. Anatomy of seed plants. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley. 1977
- EVANS, L. T. Crop evolution, adaptation and yield. **Cambridge University Press**. 1996
- EVERT, R. F. Anatomia das Plantas de ESAU, meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. São Paulo, Brasil: Ed Edgard Blücher Ltda. 2013
- FAHN A. Plant anatomy, 4th edn. Oxford, UK: **Pergamon Press**. 1990
- FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique. Some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, p.123-142, 1968
- GERRITS, P. O.; SMID, L. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, p.81-85, 1983
- GIBBERD M. R. et al. Waterlogging tolerance among a diverse range of *Trifolium* accessions is related to root porosity, lateral root formation, and aerotrophic rooting. **Annals**



**of Botany**, v. 88, p.579-589, 2001

GOMES, A.S. et al. Caracterização de indicadores da qualidade do solo, com ênfase as áreas de várzea do Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006.

HE et al. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Plant physiology*, Rockville, v. 112, p.463- 472, 1996

JACKSON, M. B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. **Annual review of plant physiology and plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 36, p.145-174. 1985

JUSTIN, S. H. F. W.; ARMSTRONG, W. The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. **New Phytologist**, p.465-495. 1987

JUSTINO, G. C.; SODEK, L. Recovery of nitrogen fixation after short-term flooding of the nodulated root system of soybean. **Journal of Plant Physiology**, v.1, p.274-287. 2013

KAWASE, M. Role of ethylene in induction of flooding damage in sunflower. **Physiologia plantarum**, v. 31(1), p.29-38, 1974

KING, C. A. et al. A possible relationship between shoot N concentration and the sensitivity of N<sub>2</sub> fixation to drought in soybean. **Crop Science**, v. 54(1), p.746-756, 2014.

KRAUS, J. E., et al. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. **Biotechnic & histochemistry**, v. 73(5), p.235-243, 1998

KUMUDINI S. Soybean Growth and Development. In: *The Soybean Botany, production and uses*. CABI. p.48-73, 2010

LANZA, L. M. N. et al. Adubação nitrogenada beneficia soja alagada. **Bragantia**, v. 72, n.1, p.2-9, 2013.

MEURER, E. J. Fundamentos de química do solo. 5ª. Ed.2012

PIRES, J. L. F. et al. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p.41-50, 2002

OLIVEIRA, H. C.. et al. Nitrogen metabolism and translocation in soybean plants subjected to root oxygen deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 66, p.141-149. 2013

O'BRIEN T. P.; MCCULLY M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne, Vic., Australia: Termacarphi Pty Ltd. 1981

ROMBERGER, J. A., HEJNOWICZ, Z., & HILL, J. F. Plant structure: function and development. A treatise on anatomy and vegetative development with special reference to woody plants. **Springer-Verlag GmbH & Co., KG**. 1993

SCHOLLES, D.; VARGAS, L. K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p.973-979, 2004

SCHUSSLER, E. E.; LONGSTRETH, D. J. Changes in cell structure during the formation of root aerenchyma in *Sagittaria lancifolia* (Alismataceae). **American Journal of Botany**, v. 87(1), p.12-19, 2000

SHIMAMURA S. et al. Formation and function of secondary aerenchyma in hypocotyl, roots and nodules of soybean (*Glycine max*) under flooded conditions. **Plant and Soil**, v. 251, p. 351-359, 2003

SHIMAMURA, S., et. al. Cortical aerenchyma formation in hypocotyl and adventitious roots of *Luffa cylindrica* subjected to soil flooding. **Annals of botany**, v. 100(7), p.1431-1439, 2007

SHIMAMURA S. et al. Stem hypertrophic lenticels and secondary aerenchyma enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. **Annals of Botany**, v. 106, p.277-284, 2010

SICZEK, A., LIPIEC, J. Soybean nodulation and nitrogen fixation in response to soil compaction and surface straw mulching. **Soil and Tillage Research**, v. 114(1), p.50-56, 2011.

SOMAVILLA, N. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Ontogeny and characterization of aerenchymatous tissues of Melastomataceae in the flooded and well-drained soils of a Neotropical savanna. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v. 207(3), p.212-222. 2012

SUN, C. N. Society Growth and Development of Primary Tissues in Aerated and Non-Aerated Roots of Soybean. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v. 82(6), p.491-502. 1955.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 954p. 2013.

THOMAS A. L. et. al. Aerenchyma Formation and Recovery from Hypoxia of the Flooded Root System of Nodulated Soybean. **Annals of Botany**, v. 96, p.1191–1198, 2005

THOMAS, A. L. Modificações morfológicas e assimilação de nitrogênio em plantas de soja (*Glycine max*) com sistemas radiculares sob deficiência de O<sub>2</sub>. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, tese de doutorado. 76p. 2004

TOMLINSON, P. B. *Anatomy of the monocotyledons. II. Palmae*. Clarendon Press: Oxford University Press. 1961

VISSER, E. J. W. et. al. An ethylene- mediated increase in sensitivity to auxin induces adventitious root formation in flooded soil *Rumex palustris* Sm. **Plant physiology** v. 112, p.1678-1692. 1996

VOESENEK, L. A. C. J. et. al. How plants cope with complete submergence. **New phytologist**, v. 170(2), 213-226. 2006

WEBB J.; JACKSON M. B. Transmission and cryo-scanning electron microscopy study of the formation of aerenchyma (cortical gas-filled space) in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Botany** v. 37, p.832-84. 1986

## Anexos

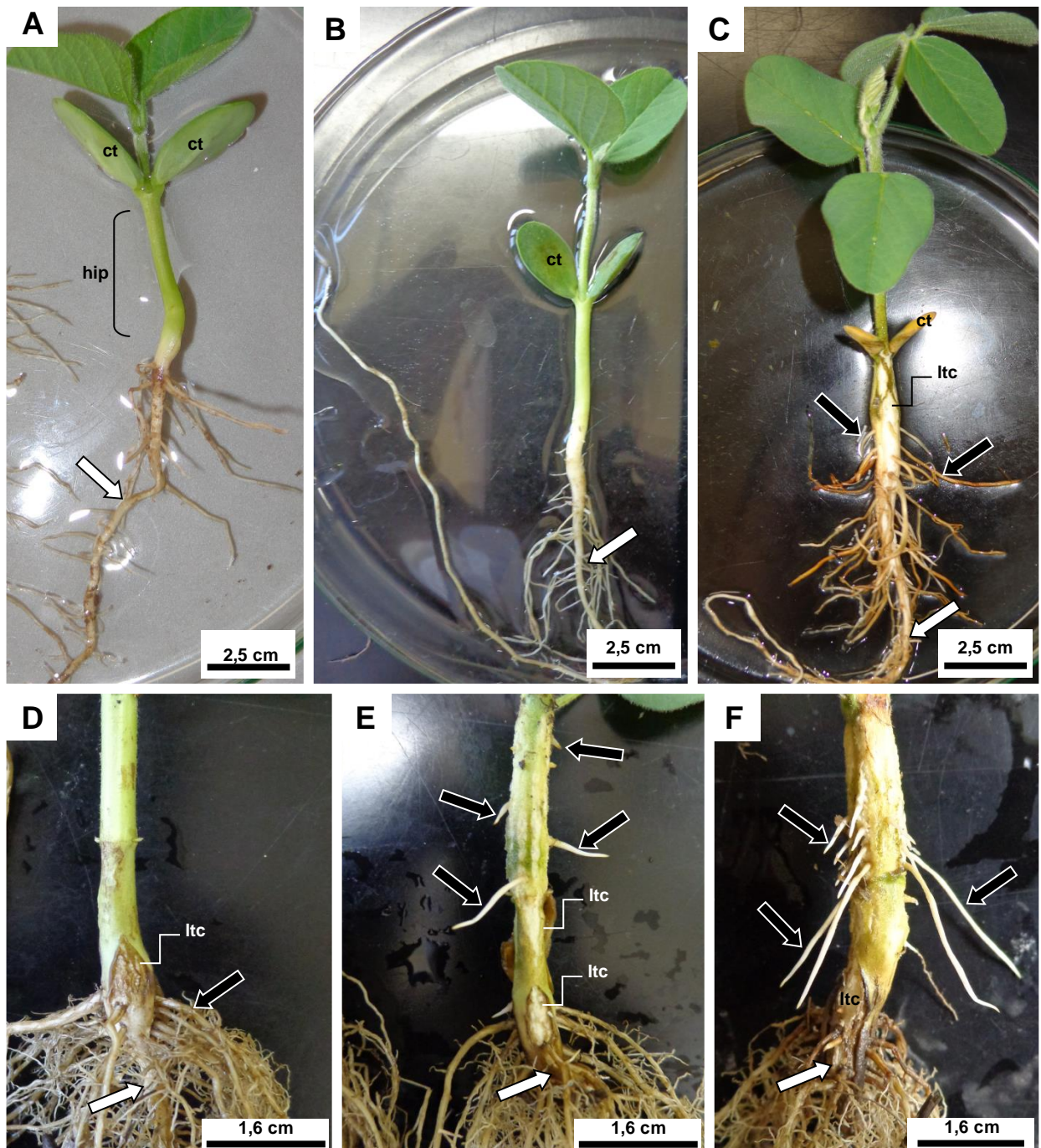


Figura 1 – Fotomicrografias de indivíduos completos de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR, apresentando caule, hipocótilo (hip) e raiz principal (setas brancas), coletados em estádios fisiológicos VC e V6. Figuras 1A a 1C representam estágio fisiológico VC. A. Zero dias de inundação. B. 2 dias de inundação. C. 6 dias de inundação. Figuras 1D a 1F representam estágio fisiológico V6. A. Zero dias de inundação. B. 2 dias de inundação. C. 6 dias de inundação. Cotilédone = ct; Lenticela = ltc; raízes adventícias = setas pretas.

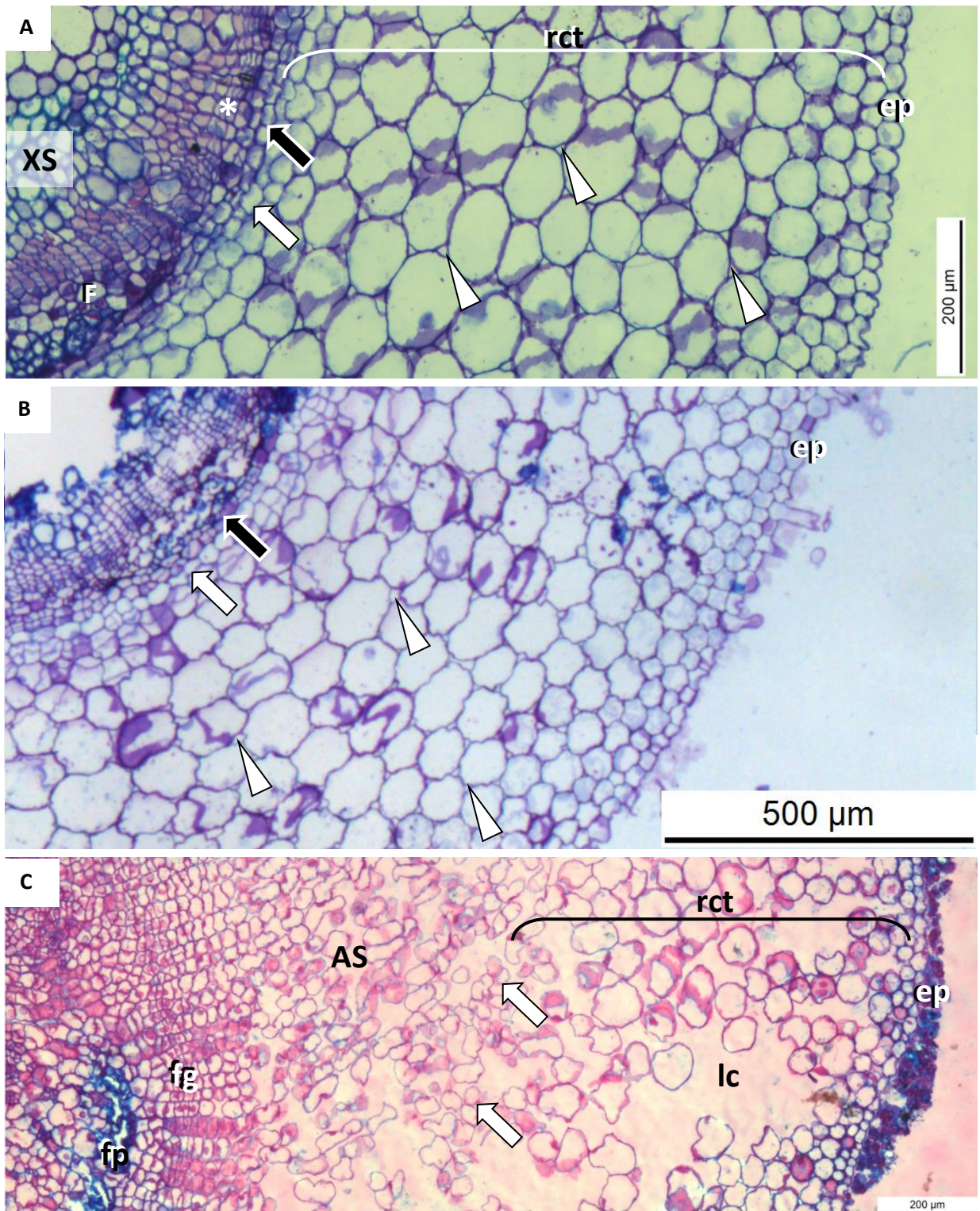


Figura 2 - Microscopia de luz de seções histológicas transversais ao hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC-V1 A. Zero dias de inundação. B. dois dias de inundação. C. seis dias de inundação. A região cortical, com tecidos primários (= rct) apresenta lacunas (= lc). As células derivadas do felogênio (= fg) formam o aerênquima secundário (= AS). Lacunas esquizo-lisígenas = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema secundário = XS; floema = F; asterisco = câmbio vascular; fibras pericíclicas = fp.

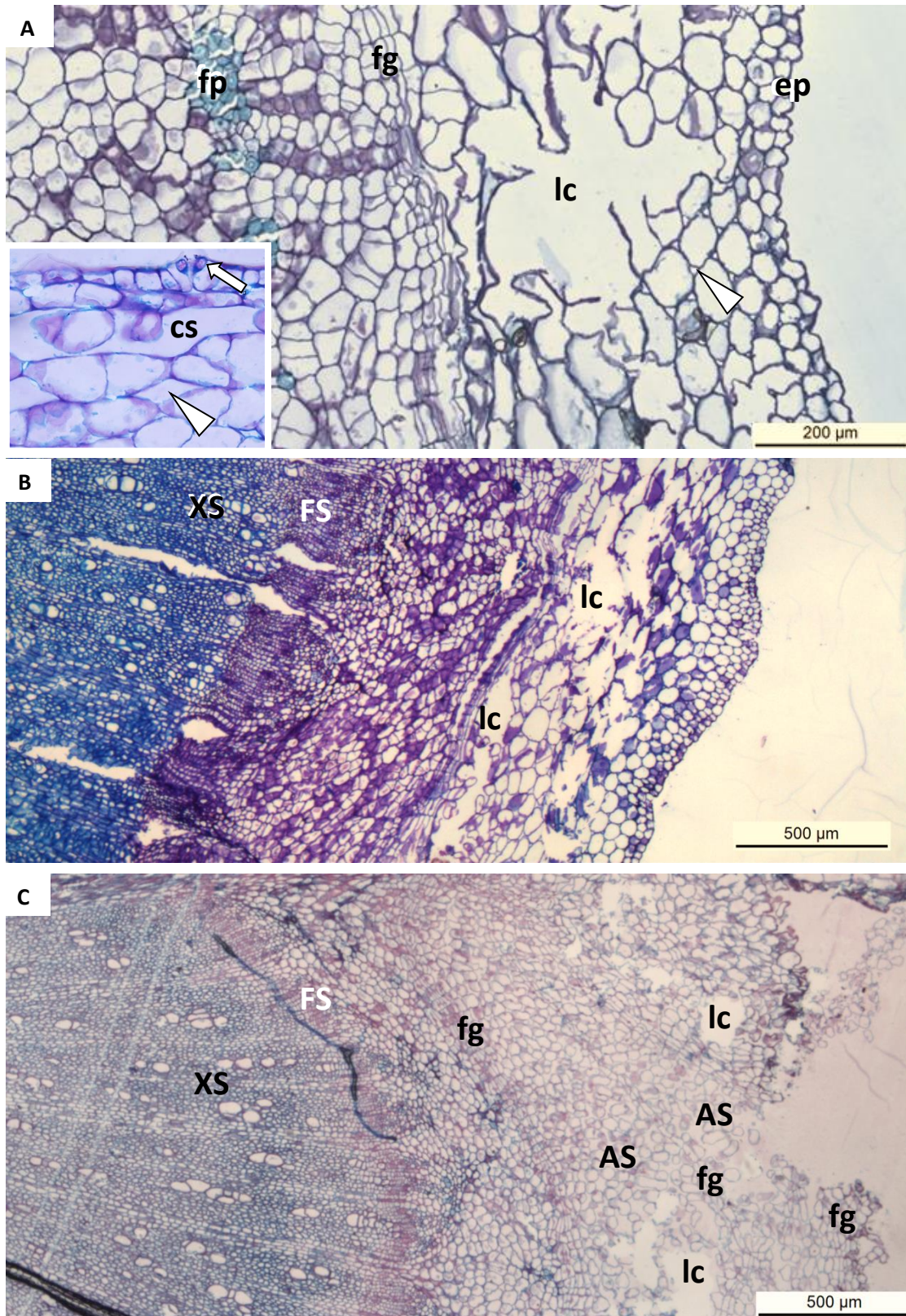


Figura 3 - Microscopia de luz de seções histológicas transversais ao hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos zero, dois e seis dias de inundação. A. Zero dias de inundação. Região cortical apresenta amplas lacunas (= lc). Imagem em detalhe apresenta estômato (seta) e câmara subestomática (cs). B. dois dias de inundação. C. seis dias de inundação. Aerênquima secundário (= AS) desenvolvido. Lacunas esquizo-lisígenas = lc; epiderme = ep; espaços intercelulares = cabeças de setas; xilema secundário = XS; floema secundário = FS; felogênio = fg.

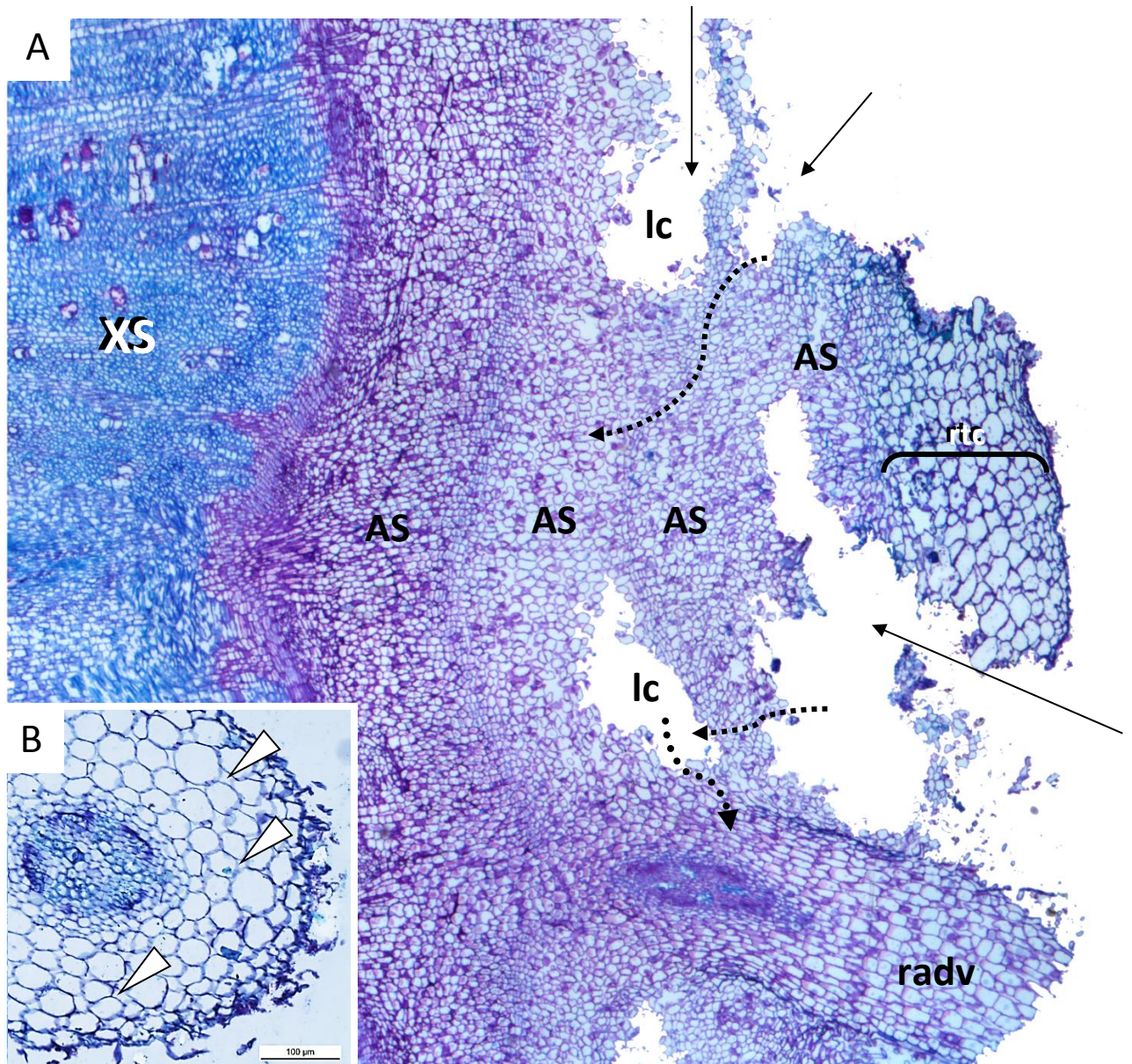


Figura 4 - Microscopia de luz de seções histológicas do hipocótilo de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos seis dias de inundação. A. Seção longitudinal. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos do hipocótilo até a raiz adventícia (= adv). B. Seção transversal da raiz adventícia mostrada em 4A. Cabeças de setas indicam espaços intercelulares. Aerênquima secundário (= AS); lacunas esquizolisígenas = lc; região cortical = rct; endoderme = seta branca; xilema secundário = XS.

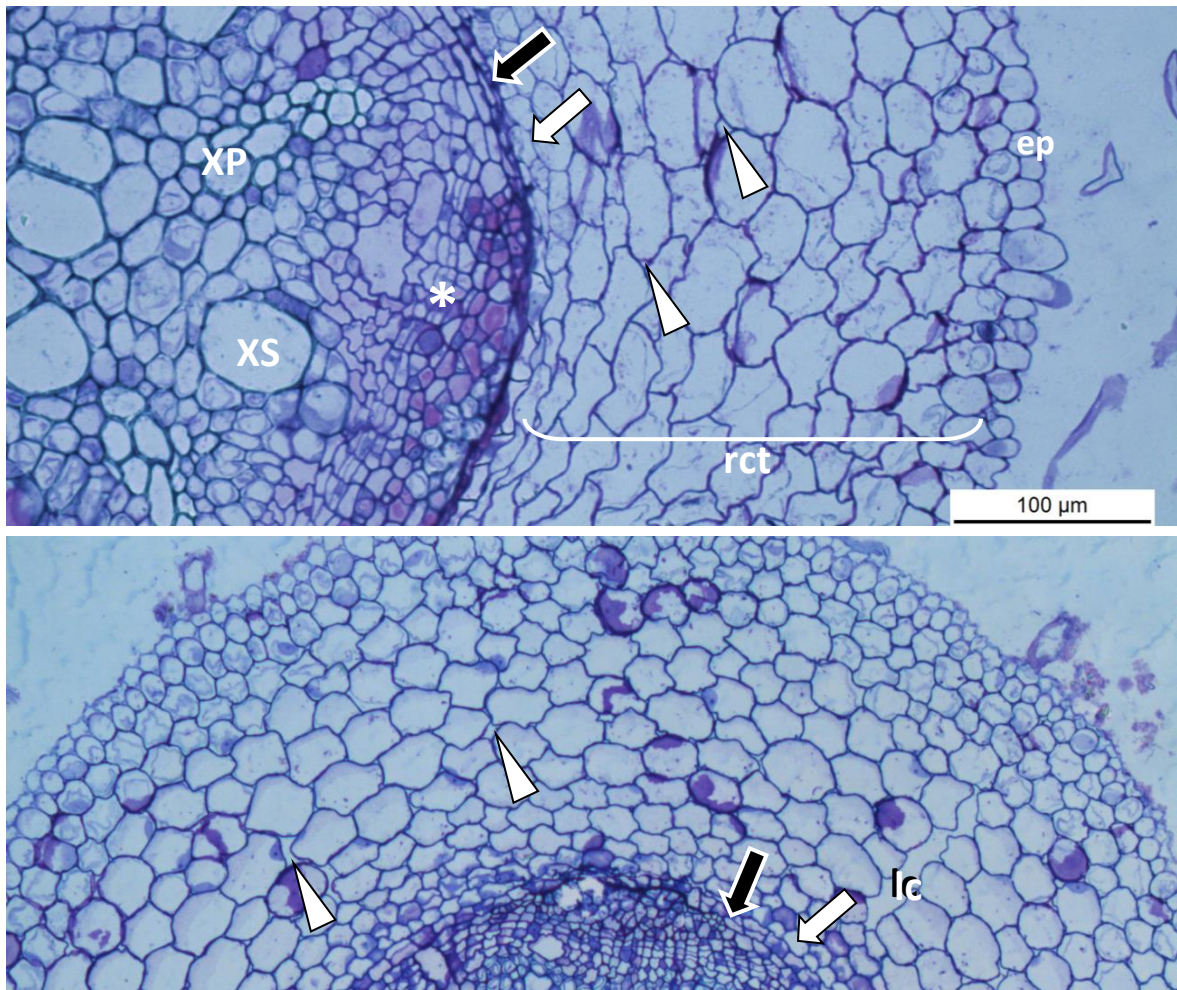


Figura 5 - Microscopia de luz de seções histológicas transversais à raiz principal de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC-V1 aos zero, dois e seis dias de inundação. A. Zero dias de inundação. B. dois dias de inundação. Lacuna esquizógena = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema primário = XP; xilema secundário = XS; asterisco = câmbio vascular; raiz lateral = rl.



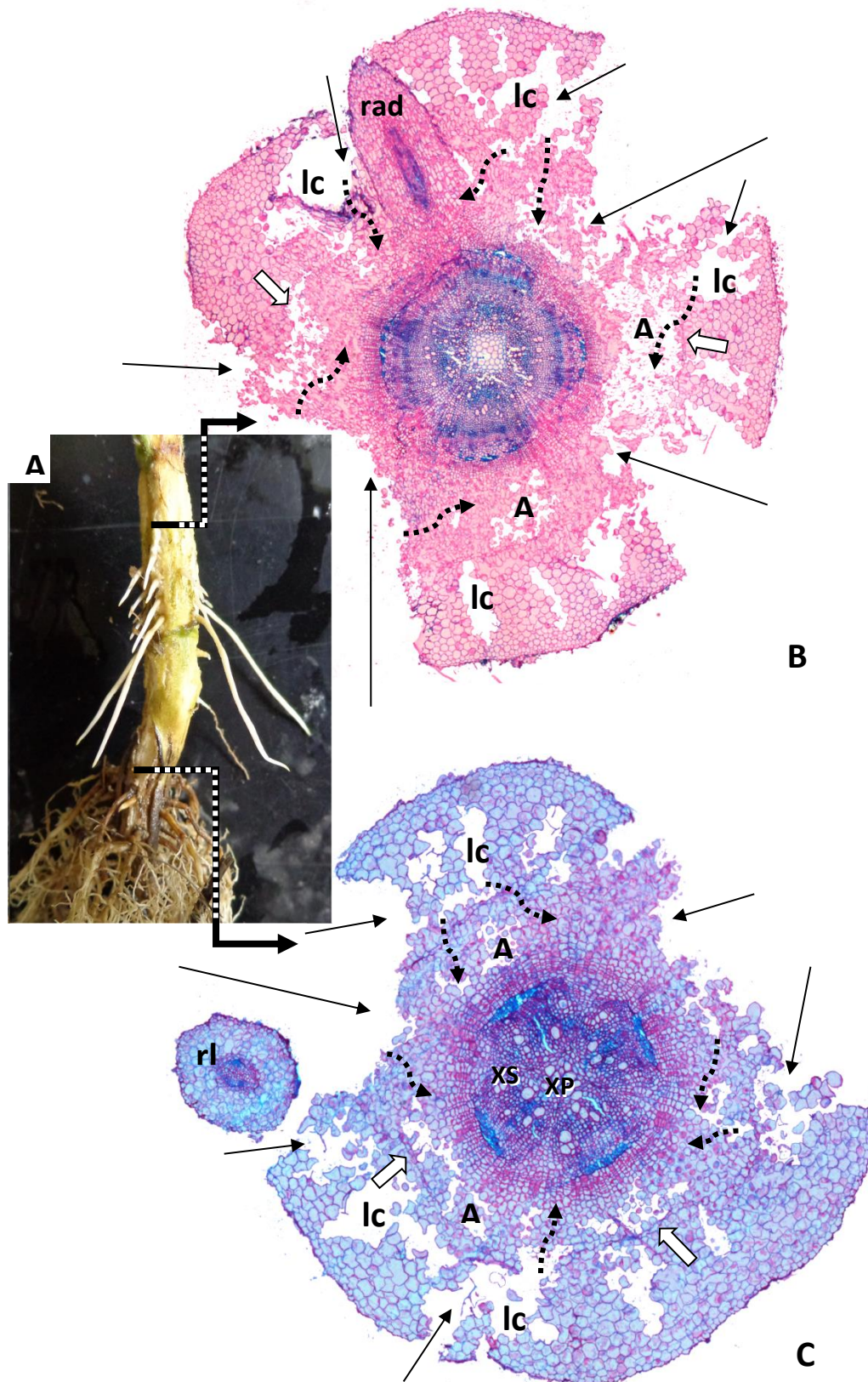


Figura 6 - Análise morfológica de hipocótilo e raiz de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico VC aos 6 dias de inundação. A. Fotomicrografia. Seta superior indica o hipocótilo (incluindo porção de raiz adventícia (= radv)); seta inferior indica raiz principal. B e C. Epiderme e tecidos corticais rompidos. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos da raiz. Aerênquima secundário (= AS); lacuna esquizógena = lc; epiderme = ep; região cortical = rct; espaços intercelulares = cabeças de setas; endoderme = seta branca; periciclo = seta preta; xilema primário = XP xilema secundário = XS; floema = F; asterisco = câmbio vascular; raiz lateral = rl.

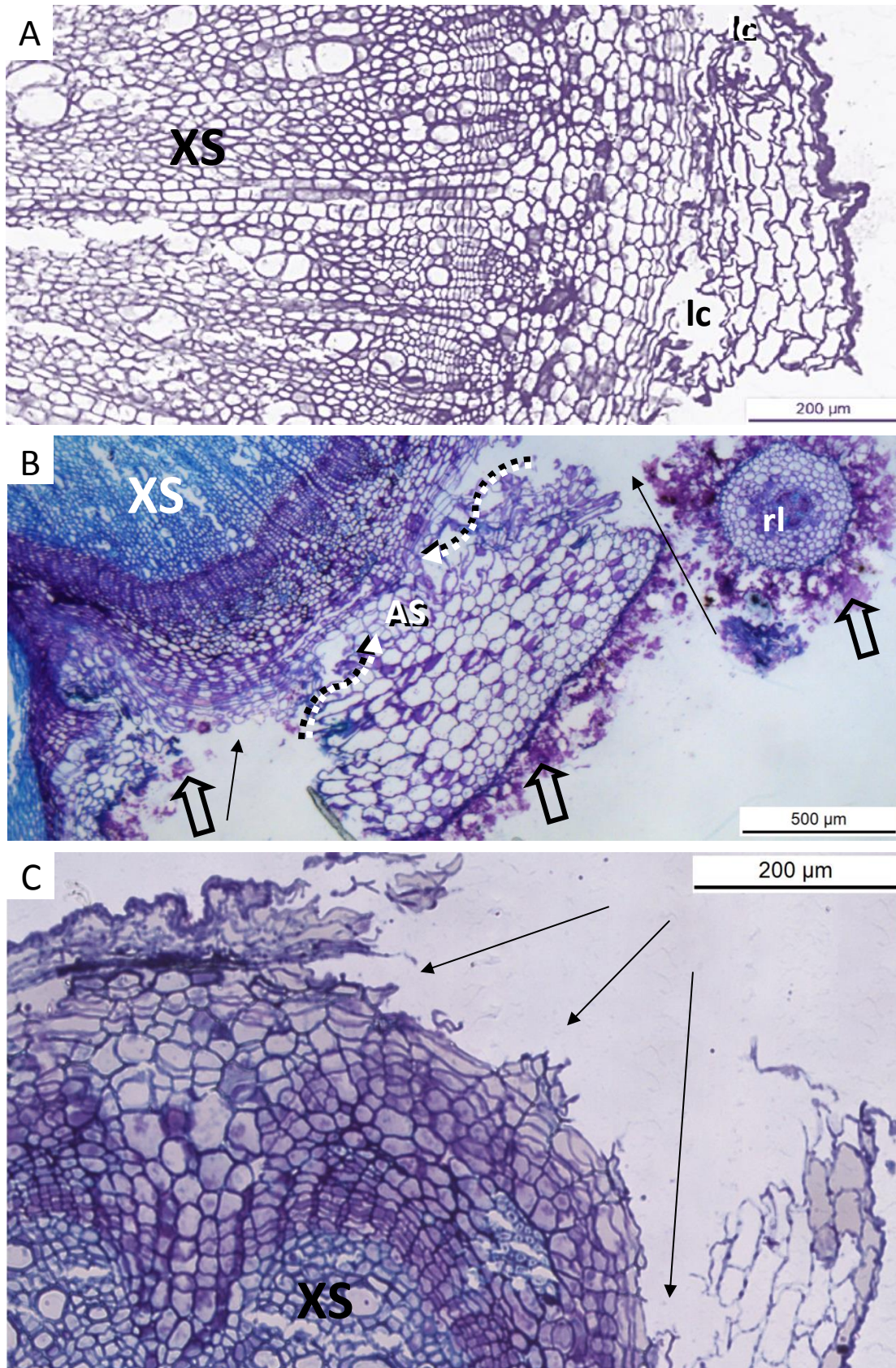


Figura 7 - Microscopia de luz de seções histológicas transversais à raiz principal de *Glycine max* cv. TEC IRGA 6070 RR coletados em estágio fisiológico V6 aos zero, 2 e 6 dias de inundação. A. Zero dias de inundação. Lacunas esquizo-lisígenas (LC). B. 2 dias de inundação. C. 6 dias de inundação. Epiderme e tecidos corticais rompidos. Setas inteiras indicam acessos de fluidos (líquido ou gasoso) nos limites dos tecidos. Setas tracejadas indicam rotas de acesso dos fluidos por entre os tecidos da raiz. Aerênquima secundário = AS ; lacuna esquizógena = lc; xilema secundário = XS; floema = F; raiz lateral = rl; elementos da rizosfera = setas vazadas.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As aplicações de nitrogênio em cobertura nos estádios V6, R2 e R4 não colaboraram para incremento em estatura, comprimento de raízes, avaliações de nódulos, ureídos ou produtividade. As diferenças significativas e positivas para fatores de desenvolvimento da planta e produtividade utilizando semeadura com haste sulcadora, permite a compreensão de que mesmo quando a planta não está sob estresse, o rompimento da camada compactada nos solos de várzea é benéfico para a soja, culminando em produção. Pois, o ano agrícola 2013/14 foi um ano sem estresses hídricos, havendo distribuição regular de chuvas e em quantidades que não desencadearam saturação do solo prolongada.

A partir disso, observa-se a necessidade da realização desse experimento em mais safras, para que diante de diferentes condições climáticas, possa ser observado o comportamento da planta diante de estresses.

Em relação ao desenvolvimento de modificações anatômicas nas plantas de soja em solo de várzea, para a TECIRGA 6070 RR, cultivar tolerante ao estresse por excesso hídrico, observou-se o desenvolvimento de aerênquimas que possibilitaram translocação do ar atmosférico da parte aérea da planta para a parte submerso somente no estádio VC aos dois dias, permitindo que a planta mesmo sob saturação pudesse realizar as funções fotossintéticas e de fixação simbiótica. Para a avaliação aos 6 dias de inundação em estádio VC e a partir de 2 dias de inundação no estádio V6, as plantas desenvolveram aerênquimas, porém, o rompimento da epiderme e parênquima foram muito profundos à ponto da passage de ar ser interrompida, devido à presença de água no nível do rompimento.

No entanto, a planta de soja desenvolveu concomitantemente raízes adventícias, e estas mantiveram as funções fotossintéticas da planta durante o período de estresse por hipoxia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-WAHAB, A. M.; ABD-ALLA, M. H. Effect of different rates of N-fertilizer on nodulation, nodule activities and growth of twofield grown cvs. of soybean. *Fertilizers and Environment*. **Springer Netherlands**, v. 43, p. 37-41, 1996.

ANDRES, A. et al. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* sp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25(1), p. 221-226, 2007.

AULAKH, M. S. et al. Pattern and amount of aerenchyma relate to variable methane transport capacity of different rice cultivars. **Plant Biology**, v. 2, p. 182-194, 2000.

BACANMWO, M; PURCELL, L. C. Soybean root morphological and anatomical traits associated with acclimation to flooding. **Crop Science**, v. 39, p. 143-149, 1999.

BICKI, T. J.; SIEMENS, J. C. Crop responses to wheel traffic soil compaction. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph v. 34(3), p.909-913, 1991.

BORU, G. Responses of soybean to oxygen deficiency and elevated root-zone carbon dioxide concentration. **Annals Botany** v. 91, p. 447-453. 2003.

BRANDELERO, E. M.; PEIXOTO, C. P.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30(3), p. 581-588, 2009.

BROUGHTON, W.J. et al. Signals exchanged between legumes and *Rhizobium*: agricultural uses and perspectives. **Plant and soil**, v. 252(1) p. 129-137. 2003.

BRYCHKOVA, G. et al. A critical role for ureides in dark and senescence-induced purine remobilization is unmasked in the *Atxdh1* Arabidopsis mutant, **Plant Journal**. v. 54 p. 496-509. 2008.

CANNY, M. J. Apoplastic water and solute movement: new rules for an old space. **Annual review of plant biology**, v. 46(1), p. 215-236, 1995.

COSTA, J. A. Cultura da soja. Porto Alegre: Evangraf, 233 p. 1996.

COSTA, J. A.; MARCHEZAN, E. Características dos estádios de desenvolvimento da soja. Campinas: Fund. Cargill, 30p. 1982.

DÍAZ-LEAL, J. L. et al. Development effects on ureide levels are mediated by tissue-specific regulation of allantoinase in *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 63(11), p. 4095–4106, 2012.

DREW, M. C. et al. Larger adenylate charge and ATP/ADP ratios in aerenchyma roots of *Zea Mays* in anaerobic media as a consequence of improved internal oxygen transport. **Planta**, v. 165, p. 51-58. 1985

EMBRAPA. SANTOS L.A.; REIS V.M. A formação do nódulo em leguminosas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. Documentos Embrapa Agrobiologia, ISSN 1517-8498;251. 14p. 2008.

EVANS, L. T. Crop evolution, adaptation and yield. Cambridge: University Press. 1996.

EVERT, R. F. Anatomia das Plantas de ESAU, meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. São Paulo, Brasil: Ed Edgard Blücher Ltda. 2013.

FANTE, C. A. et al. Respostas fisiológicas em cultivares de soja submetidas ao alagamento em diferentes estádios. **Bragantia**, v. 69(2) p. 253-261, 2010.

FISHER, R. F. et al. Specific binding of proteins from *Rhizobium meliloti* cell-free-extracts containing NodD to DNA- sequences upstream of inducible nodulation genes. **Genes & development**, New York, v. 2(3), p. 282-293. 1988.

FLECK, N. G. et al. Competitividade relativa entre cultivares de arroz irrigado e biótipo de arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v. 26(1), p. 101-111, 2008.

FUJIHARA S.; YAMAGUCHI M. Probable site of allantoin formation in nodulating soybean plants. **Phytochemistry**, v. 17, p. 1239-1243. 1978.

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. A. biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathológica**, v. 20(1), p. 68-74, 1994.

FRANCO, A. A.; NEVES, M. C. P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S., M. & NEVES, M. C. P., coords. *Microbiologia do solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 141-155. 1992.

GERRITS, P. O.; SMID, L. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, p. 81-85, 1983.

GIBBERD M. R. et al. Waterlogging tolerance among a diverse range of *Trifolium* accessions is related to root porosity, lateral root formation, and aerotrophic rooting. **Annals of Botany**, v. 88, p. 579-589, 2001.

GOGGIN D. E. et al. Dual intracellular localization and targeting of aminoimidazole ribonucleotide synthetase in cowpea. **Plant Physiology**, v. 131, p. 1033-1041, 2003.

HARDARSON, G. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. **Plant and Soil**. v. 152. p. 1-17, 1993.

HARDARSON, G. & ZAPATA, F. Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars. **Plant and soil**, v. 82, p. 397-405, 1984.

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. et al. Fixação biológica do nitrogênio com a cultura da soja. In: **Workshop nitrogênio na sustentabilidade de sistemas intensivos de produção agropecuária**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, p. 51-75. 2000.

HUNGRIA, M. et al. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa soja. 48p. 2001.

IRGA – Instituto Rio Grandense do Arroz. **Soja na várzea safra 2013/14**. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br/conteudo/4215/safra>>. Acesso em: 21 de Maio, 2014.

JACKSON, M. B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 36, p. 145-174, 1985.

JUSTINO, G. C.; SODEK, L. Recovery of nitrogen fixation after short-term flooding of the nodulated root system of soybean. **Journal of Plant Physiology**, v. 170(3) p. 235-241, 2013.

LANZA, L. M. N. et al. Adubação nitrogenada beneficia soja alagada. **Bragantia**, v. 72(1), p. 2-9, 2013.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic, 889 p. 1995.

MARCHESAN, E. Desafios e perspectivas de rotação com soja em áreas de arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., Santa Maria, **Anais...Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado**, p. 1628-1637. 2013.

MARCHEZAN, E. et al. Produção animal em várzea sistematizada cultivada com forrageiras de estação fria submetidas a diferentes níveis de adubação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 303-308. 2002.

MCCLURE, P. R. et al. Evaluation of the relative ureide content of xylem sap as an indicator of N<sub>2</sub> fixation in soybeans. **Plant Physiology**, v. 66 p. 720-725. 1980.

MENEZES, V. G. et al . Arroz-vermelho (*Oryza sativa*) resistente aos herbicidas imidazolinonas. **Planta daninha**, Viçosa, v. 27(n. spe), 2009.

MIRANSARI, M. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. **Plant Biology**, v. 12(4), 563-569, 2010.

NOVO, M. C. S. S. Nitrogênio e potássio na fixação simbiótica de N<sub>2</sub> por soja cultivada no inverno. **Scientia Agricola**, v. 56(1) p. 143-155, 1999.

OHYAMA T., KUMAZAWA K. Incorporation of <sup>15</sup>N into various nitrogenous compounds in intact soybean nodules after exposure to <sup>15</sup>N<sub>2</sub> gas. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 24, p. 525–533, 1978.

PATTERSON, T. G. et al. Simple estimate of ureides in soybean tissue. **Analytical Biochemistry**, v. 119, p. 90-95, 1982.

PAULETTO, E. A. et al. **Caracterização e manejo de solos de várzea cultivados com arroz irrigado**. PESKE, S. T., NEDEL, J. L., BARROS, A. C. S. A. (Ed.). Universidade Federal de Pelotas – RS, 659p. 1998.

PINTO, L. F. S. et al. Solos de várzea no Sul do Brasil cultivados com arroz irrigado. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 75-95, 2004.

PIRES, J. L. F. et al Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 41-50, 2002.

REINBOTHE, H.; MOTHES, K. Urea, ureides, and guanidines in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 13 p. 129-150, 1962.

SANTOS, F. M. et. al. Controle químico de arroz vermelho na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, v. 25(2) p. 405-412, 2007.

SCHUBERT, K. R., RYLE, G. J. A. The energy requirements for nitrogen fixation in nodulated legumes. In: SUMMERFIELD, R. J.; BUNTING, H. (Eds.), *Advances in Legume Science*. **Royal Botanic Gardens**, p. 85-96, 1980.

SCHUBERT, K. R. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis, transport, and metabolism, **Annual Review of Plant Physiology**, v. 37, p. 539-574, 1986.

SCHOLLES, D.; VARGAS, L. K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 973-979, 2004.

SHIMAMURA S. et al. Formation and function of secondary aerenchyma in hypocotyl, roots and nodules of soybean (*Glycine max*) under flooded conditions. **Plant and Soil**, v. 251, p. 351-359, 2003.

SHIMAMURA, S. et. al. Cortical aerenchyma formation in hypocotyl and adventitious roots of *Luffa cylindrica* subjected to soil flooding. **Annals of botany**, v. 100(7), p. 1431-1439, 2007.

SHIMAMURA S. et al. Stem hypertrophic lenticels and secondary aerenchyma enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. **Annals of Botany**, v. 106, p. 277-284, 2010.

SILVA, A. F. et al. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, v. 27(3) p. 404-412, 2011.

SMIT, B. A.; NEUMANN, D. S.; STACHOWIAK, M. L. Root hypoxia reduces leaf growth: role of factors in the transpiration stream. **Plant Physiology**, v. 92, p. 1021-1028, 1990.



SOMAVILLA, N. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Ontogeny and characterization of aerenchymatous tissues of Melastomataceae in the flooded and well-drained soils of a Neotropical savanna. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207(3), p. 212-222, 2012.

SOSBAI. SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Porto Alegre, SOSBAI. 176p., 2012.

STACEY, G. Signal exchange en the Bradyrhizobium- Soybean Symbiosis. **Soil Biology Biochemistry** v. 27(4,5), p. 473-483, 1995.

STASOLLA C. et al. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants, **J. Plant Physiology**, v. 160, p. 1271-1295, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed. 954p, 2013.

TAYLOR, H. M.; BRAR, G. S. Effect of soil compaction on root development. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 19(2), p. 111-119, 1991.

TEMPLE, S. J. et al. Glutamate synthase and nitrogen assimilation. **Trends in Plant Science** v. 3, p. 51-56, 1998.

THOMAS, A. L.; COSTA, J. A. Estresse hídrico em soja: impacto no potencial de rendimento de grãos. In: Soja: Manejo para Alta Produtividade de Grãos Porto Alegre: Evangraf, p. 157, 2010.

THOMAS, A. L. et. al. Aerenchyma Formation and Recovery from Hypoxia of the Flooded Root System of Nodulated Soybean. **Annals of Botany**, v. 96, p. 1191-1198, 2005.

TODD, C. D.; POLACCO J. C. AtAAH encodes a protein with allantoate amidohydrolase activity from Arabidopsis thaliana, **Planta** v. 223, p. 1108-1113, 2006.

TODD, C. D. et al. Update on ureide degradation in legumes, **Journal of Experimental Botany**, v. 57 p. 5-12, 2006.

TUBIC, S. B. et al. Importance of microbiological fertilizer used in soybean production: Agronomical and biological aspects. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5(27), p. 4909-4916, 2011.

VARGAS, M. A. T. et al. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, p. 1127-1132, 1982.

VERNETTI, J. R. et al. Plantio direto de soja e milho em solo de várzea e em seqüência a diferentes coberturas mortas. In: DA SILVA, C. A. S.; GASTAL, M. F. C. (Eds.). REUNIÃO TÉCNICA, DIVERSIFICAÇÃO DO USO DE VÁRZEAS DE CLIMA TEMPERADO, 2002, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 153-157, 2002.

VERNETTI JÚNIOR, F. J. et al. Sustentabilidade de sistemas de rotação e sucessão de culturas em solos de várzea no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 39(6) p. 1708-1714, 2009.

VILLA, S. C. C. et al. Controle de arroz-vermelho em dois genótipos de arroz (*Oryza sativa*) tolerantes a herbicidas do grupo das imidazolinonas. **Planta Daninha**, v. 24, p. 549-555, 2006.

VOESENEK, L. A. C. J. et. al. How plants cope with complete submergence. **New phytologist**, v. 170(2), p. 213-226, 2006.

VOISIN, A. S. et al. Seasonal patterns of <sup>13</sup>C partitioning between shoots and nodulated roots of N<sub>2</sub>- or nitrate-fed *Pisum sativum* L. **Annual Botany**, London v. 91, p. 539–546. 2003.

WERNER, A. K.; WITTE, C.P, The biochemistry of nitrogen mobilization: purine ring catabolism. **Trends Plant Science**, v. 16, p. 381-387. 2011.

WERNER, A. K. et al. Identification, biochemical characterization, and subcellular localization of allantoate amidohydrolases from *Arabidopsis* and soybean. **Plant Physiology**. v. 146, p. 418-430. 2008.

WERNER, A. K. et al. Ureide catabolism in *Arabidopsis thaliana* and *Escherichia coli*, **Nature Chemical Biology**, v. 6, p. 19-21. 2010.

WHITE, J. et al. Nutrient sharing between symbionts. **Plant Physiology**, v. 144, p. 604-614, 2007.

ZENZEN, I. L. et al. Nodulação em soja inoculada com diferentes estirpes de *bradyrhizobium* sob alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5(2), p. 606-608, 2007

ZOTARELLI, L. et al. Role of legumes in the N economy of cereal production in crop rotations under conventional and no-tillage. In: 17th WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 2002, Bangkok. **Anais**. Tailândia, 2002.