

CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E
TROCAS GASOSAS EM GENÓTIPOS DE SOJA (*Glycine max* L.)
COM DIFERENTES CAPACIDADES DE NODULAÇÃO

EMILE CAROLINE SILVA LOPES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO-2017

CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E
TROCAS GASOSAS EM GENÓTIPOS DE SOJA (*Glycine max* L.)
COM DIFERENTES CAPACIDADES DE NODULAÇÃO

EMILE CAROLINE SILVA LOPES

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

Orientador: Prof^o. Eliemar Campostrini

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO-2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

032/2017

L864 Lopes, Emile Caroline Silva.

Condutividade hidráulica, eficiência fotoquímica e trocas gasosas em genótipos de soja (*Glycine max* L) com diferentes capacidades de nodulação / Emile Caroline Silva Lopes– Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

91 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Orientadora: Eliemar Campostrini.

Bibliografia: f. 68 – 75.

- . 1. Fotossíntese. 2. Soja. 3. Fixação Biológica de Nitrogênio. I.
- . Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 633.34

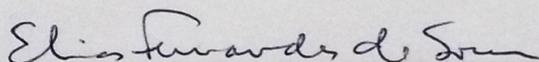
CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA, EFICIÊNCIA FOTOQUÍMICA E
TROCAS GASOSAS EM GENÓTIPOS DE SOJA (*Glycine max* L.)
COM DIFERENTES CAPACIDADES DE NODULAÇÃO.

EMILE CAROLINE SILVA LOPES

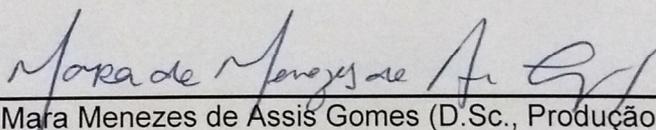
Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 14 de março de 2017

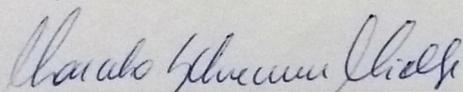
Comissão Examinadora:



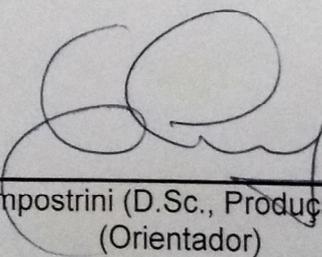
Prof. Elias Fernandes de Sousa (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



Prof.^a Mara Menezes de Assis Gomes (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF



Prof. Marcelo Schramm Mielke (D.Sc., Fisiologia Vegetal) – UESC



Prof. Eliemar Campostrini (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientador)

À minha querida mãe Luziane Silva Lopes;
Ao meu querido pai, André Salustiano Lopes Júnior;
Aos meus irmãos Lucas Silva Lopes e Bruno Fioravante Lopes;
À minha querida vizinha Maria de Lourdes Sousa Silva;
Ao meu amado vizinho Benjamim de Oliveira Silva;
Às minhas famílias Queimada Bonita e Lopes.

Dedico este trabalho.

*“Devemos mirar na Lua, pois se errarmos
ainda estaremos entre as estrelas.”*

Lair Ribeiro

*“Coragem, coragem naquilo que pensa e que faz,
coragem pois sei que você pode mais.”*

Raul Seixas.

AGRADECIMENTO

A Deus, pela vida, pelo amparo e me conduzir neste caminho;

A espiritualidade por me fazer seguir em frente, mesmo quando tive medo;

À minha mãe, Luziane pelo incentivo nessa caminhada, amor, apoio e por ser meu porto seguro sempre;

Ao meu pai André pelo amor e carinho;

Ao meu irmão Lucas, companheiro de toda a vida;

Ao meu irmão Bruno pelo amor;

Aos meus queridos avós Maria de Lourdes e Benjamim por serem meus maiores exemplos a serem seguidos pra sempre;

À minha afilhada Lua, por ser luz na minha vida;

A todos os tios, tias, primos e primas pelo carinho, cuidado e orações;

Aos queridos amigos da minha Bahia, que mesmo de longe emanaram positividade pra mim;

Às minhas colegas e amigas de república Nathânia, Michele, Cris e Amanda;

A todos os queridos amigos que fiz em Campos, em especial Katherine (parceira de experimento, de estudo, de choros e risos...irmã que a vida me deu!), Letícia, Zé Altino, Ivanice e Bárbara que além de colegas de trabalho, tornaram-se amigos do coração;

Ao meu orientador Eliemar Campostrini, pelos ensinamentos, compreensão, paciência, dedicação e por ser um exemplo de que é possível ser um excelente pesquisador sem perder a humildade;

À professora Mara Menezes, por tornar-se uma amiga e pelo auxílio quando precisei do seu apoio;

Ao Professor Tarcísio Thibeaut pelo auxílio e disponibilidade;

Aos meus queridos colegas de laboratório: Katherine, Zé Altino, Jefferson, Weverton, Wallace, Letícia, Luan, Jéssica, Deivisson, Raynan, Luciene e Bárbara pela colaboração para realização deste trabalho e momentos de descontração!

Ao laboratório de Melhoramento Genético Vegetal e ao Departamento de Fisiologia Vegetal;

A UENF e ao Programa de Produção Vegetal;

Ao Pesquisador Bob (EMBRAPA SEROPÉDICA) pela concessão do inoculante e sementes utilizadas neste experimento;

A Ana Paula pela disponibilidade e auxílio na montagem deste experimento;

Ao Pesquisador Peter Gresshoff (*Plant Molecular Genetics, Centre for Integrative Legume Research, The University of Queensland*) pela concessão das sementes geneticamente modificadas (Nod 4 e NOD 139);

A CAPES pela concessão da bolsa;

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e que torceram pelo meu sucesso. Gratidão!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivos Específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3.1 Origem e histórico da soja.....	6
3.2 Características Gerais.....	7
3.3 Aspectos econômicos da soja.....	8
3.4 O Sistema radicular e absorção de água pela planta.....	9
3.5 Nodulação na raiz da soja e fixação de nitrogênio.....	10
3.6 Características fisiológicas.....	12

3.6.1	Conductividade hidráulica da planta (k).....	13
3.6.2	Trocas gasosas foliares	14
4.	MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1	Material Vegetal	18
4.2	Condições de cultivo	19
4.3	Avaliações.....	20
4.4	Características de Crescimento avaliadas	20
4.4.1	Avaliação da altura (H) e diâmetro do tronco (DT)	20
4.4.2	Determinação do volume de raiz	20
4.4.3	Determinação do número de nódulos das raízes	21
4.4.4	Determinação da massa seca	21
4.4.5	Índice de qualidade de Dickson (IQD)	21
4.4.6	Quantificação de Nitrogênio nas folhas	21
4.5	Características associadas à fotossíntese.....	21
4.5.1	Intensidade de verde	22
4.5.2	Trocas gasosas foliares.....	22
4.5.3	Potencial hídrico foliar (Ψ_L)	23
4.5.4	Emissão da Fluorescência da clorofila	23
4.5.5	Termografia	24
4.5.6	Determinação da área foliar	25
4.5.7	Condutância e condutividade hidráulica de raízes (k_{root})	25
4.6	Análise estatística	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6.	RESUMO E CONCLUSÕES.....	58
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Temperatura (A), umidade relativa (UR) (B), radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (C) e déficit de pressão de vapor do ar (D) máximo, médio e mínimo diário dentro de casa de vegetação durante todo o período do experimento. Os pontos representam médias diárias (Junho a agosto de 2015, Campos dos Goytacazes-RJ)..... 28
- Figura 2: Déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar}) às 8:00 e 12:00 horas dentro de casa de vegetação durante todo o período do experimento.(Junho a agosto de 2015, Campos dos Goytacazes-RJ).....29
- Figura 3: Altura das plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes *B. japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 31
- Figura 4: Diâmetro das plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas

(INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes *B. japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 32

Figura 5: Índice de Qualidade de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes *B.japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 33

Figura 6: Média da Intensidade de verde das folhas (Índice SPAD) de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes *B. japonicum* e *B. elkanii*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 34

Figura 7: Relação de A e a Intensidade de verde das folhas (Índice SPAD) de plantas de soja (*G.max*) BRS 133; NOD 4; W 82; BRA 99; NOD 139 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*..... 36

Figura 8: Relação entre o teor de N em folhas e número de nódulos em plantas inoculadas (A). Colunas representando médias constituídas por seis repetições de quantidade de N nas folhas (B) em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS; em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade no teste t..... 36

Figura 9: Comparação na condutância estomática calculada entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G.max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. aponicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam diminuição ou aumento de gs.

..... 38

Figura 10: Comparação da taxa fotossintética calculada entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de A..... 41

Figura 11: Comparação das taxas transpiratórias calculadas entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de *E.i*..... 42

Figura 12: Relação entre A versus gs e A versus E em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B.elkani*. Foram avaliadas as das trocas gasosas às 8:00 e 12:00 horas.....43

Figura 13: Potencial hídrico de folhas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkani*. avaliadas às 12:00 horas aos 37 DAS. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.....44

Figura 14: Comparação das taxas de Fv/Fm calculada entre os horários de 8 e 12:00 horas em plantas de soja (*G.max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. As setas indicam a redução de Fv/Fm..... 46

Figura 15: Comparação do Índice fotossintético (PI) calculado entre os horários de 8 e 12 horas nos genótipos de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de PI.....46

Figura 16: Índice Térmico da Condutância Estomática (lg) (A). Índice de Estresse Hídrico (CWSI) (B). As Avaliações foram realizadas às 12:00 horas em folhas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkani* mensuradas aos 37 DAS. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade..... 47

Figura 17: Massa seca das folhas, do caule e da raiz (g planta⁻¹) compostas por 6 repetições de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82 BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B.elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significadamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 48

Figura 18: Área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade..... 49

Figura 19: Condutância hidráulica da raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B.elkanii*..... 52

Figura 20: Condutividade hidráulica normalizada por massa seca de raiz. de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B.elkanii*..... 53

Figura 21: Condutividade hidráulica normalizada por volume de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B.elkanii*..... 54

Figura 22: Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*,..... 55

Figura 23: Condutividade hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B.elkanii*.....56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média de número e peso de nódulos por plantas 37 DAS nos genótipos de plantas de soja (*G. max*) BRS 133; NOD 4; W 82; BRA 99; NOD 139 em condições inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.....30

Tabela 2. Equações lineares da condutância hidráulica da raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressa por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas..... 52

Tabela 3: Equações lineares da Condutividade hidráulica normalizada por massa seca de raiz. de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressa por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.....53

Tabela 4: Equações lineares da Condutividade hidráulica normalizada por volume de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99

e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressa por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas..... 54

Tabela 5: Equações lineares da Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (G. max) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressa por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.....55

Tabela 6: Equações lineares representativas dos tratamentos Inoculados e Controle (não inoculados) da Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (G. max) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressa por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas..... 56

RESUMO

LOPES, Emile Caroline Silva; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2017. **Condutividade hidráulica, eficiência fotoquímica e trocas gasosas em genótipos de soja (*Glycine max* L) com diferentes capacidades de nodulação.** Orientador: D. Sc. Eliemar Campostrini.

A soja (*Glycine max* L) é uma das plantas mais cultivadas no mundo, o uso desta espécie é bem diversificado, sendo o grão bastante utilizado para alimentação humana, assim como matéria-prima na fabricação de rações para alimentação de animais domésticos. Esta cultura requer uma quantidade considerável de nitrogênio para completar o ciclo de vida e a fixação biológica é uma forma econômica e ambientalmente eficiente para suprir essa necessidade. Comumente, Bactérias Fixadoras de Nitrogênio (BFN) do gênero *Bradyrhizobium* fazem simbiose com as plantas de soja, suprimindo a demanda de nitrogênio que a cultura necessita. Esta associação induz à formação de nódulos nas raízes. O objetivo desta pesquisa foi avaliar se o elevado número de nódulos pode comprometer a condutância e condutividade hidráulica ao ponto de afetar, sob elevada demanda hídrica atmosférica, a condutância estomática, a transpiração e a fotossíntese, limitando o incremento de biomassa e crescimento nas plantas. Além destas avaliações, foi avaliada a emissão da fluorescência da clorofila, a intensidade de cor verde (índice

SPAD), a temperatura foliar com o uso de termógrafo e análises de crescimento (altura, diâmetro, área foliar, massa seca). Com os dados obtidos, foi calculado o Índice de qualidade de Dickson (IQD). Cinco genótipos de soja foram utilizados, sendo o genótipo mutante NOD 04 (super-nodula \pm 250 nódulos por planta), o genótipo mutante NOD 139 (não nodulação, 0 nódulos por planta) e os genótipos BRS 133, W 82 e BRA 99 (aproximadamente 35 nódulos por planta). Os tratamentos constituíram-se de plantas inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* e plantas controle não inoculadas. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 37 dias, entre os meses de junho e agosto de 2015, e as condições climatológicas foram monitoradas durante todo o experimento e as plantas foram irrigadas duas vezes ao dia manualmente. Com os resultados obtidos, foram calculados eficiência do uso da água (EUA), eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) e o Índice de qualidade de Dickson (IQD). Com base nos resultados obtidos, a presença de nódulos na raiz dos genótipos estudados não necessariamente causa uma maior resistência hidráulica nestes órgãos (nem todos os genótipos foram afetados). Ainda, a hipótese de que se poderia ter maior taxa fotoinibitória ao meio dia, devido ao fechamento estomático causado pela maior resistência hidráulica da raiz devido à presença de nódulos, deve ser descartada. A redução no crescimento dos genótipos com maior número de nódulos nas raízes pareceu estar mais associada à elevada capacidade destas estruturas radiculares atuarem como forte dreno de fotoassimilados, logo, o genótipo modificado geneticamente para intensificar a nodulação nas raízes, não obteve incremento em biomassa nas plantas de soja em até 37 dias após o semeio. Para os genótipos BRS 133 e W 82, qualquer estratégia de manejo pode ser feita para aumentar o número de nódulos, objetivando elevar a concentração de N foliar, bem como o teor de clorofilase o possível ganho na assimilação fotossintética devido aos efeitos não estomáticos associados ao N pode ser reduzido caso estes genótipos sejam cultivados em ambientes com elevados valores de déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar}).

Palavras-chave: fotossíntese, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, fixação biológica de nitrogênio.

ABSTRACT

LOPES, Emile Caroline Silva; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2017. **Hydraulic conductivity, photochemical efficiency and gas exchange in soybean genotypes (*Glycine max* L) with different nodulation capacities**. Advisor: D. Sc. Eliemar Campostrini.

Soybean is one of the world's most widely cultivated plant with a diversified use, such as human and animal feeding. This agricultural culture requires high nitrogen contents in order to complete their cycle, so biological nitrogen fixation can be economically and ecologically efficient to supply such demand. Commonly, Nitrogen Fixing Bacteria of Bradyrhizobium genus makes symbiosis with soybean plants and supplying the nitrogen needed by the plants. Such symbiotic association induces nodule formation on the root-system. This research aimed to evaluate whether the number of the nodule may damage hydraulic conductance and conductivity, affecting stomatal conductance, transpiration and photosynthesis, and for consequence restricting plants' growth and biomass accumulation. Water use efficiency (WUE) and intrinsic water-use efficiency (iWUE) were calculated from gas exchange data. Moreover, chlorophyll fluorescence, green color intensity (SPAD readings), leaf temperature and growth (plant height, diameter, leaf area, dry matter, roots volume) were analyzed. The Dickson quality index was also calculated. Five

soybean genotypes were used: mutant genotype NOD 04 (super nodulation \pm nodules per plant), mutant genotype NOD 139 (no nodulation, 0 nodules per plant) as well as BRS 133, W 82 and BRA 99 genotypes (35 c.a. nodules per plant). The experiment was conducted using plants inoculated with peat inoculant containing *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii*. Plants were grown in a greenhouse for 37 days and climate conditions were monitored throughout the entire experiment and manually irrigated twice a day. Based on the results obtained, the presence of nodules in the root of the studied genotypes does not necessarily cause a greater hydraulic resistance in these organs (not all genotypes were affected). Also, the hypothesis that it could have a higher photoinhibitory rate at noon, due to the stomatal closure caused by the greater hydraulic resistance of the root due to the presence of nodules, should be discarded. The reduction in the growth of the genotypes with the highest number of nodules in the roots seemed to be more associated to the high capacity of these root structures to act as a strong photoassimilate drain, so the genetically modified genotype to intensify the nodulation in the roots did not obtain an increase in biomass in the plants Of soybeans within 37 days after sowing. For genotypes BRS 133 and W 82, any management strategy can be done to increase the number of nodules, aiming at raising leaf N concentration, as well as chlorophyll content, the possible gain in photosynthetic assimilation due to non-stomatal effects Associated with N can be reduced if these genotypes are grown in environments with high values of air vapor pressure deficit (DPVar).

Keywords: photosynthesis, biological nitrogen fixation, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*.

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das principais plantas oleaginosas cultivadas no mundo. A composição química do grão desta espécie possui alto teor proteico (cerca de 40%) e proporciona múltiplas aplicações na alimentação humana e animal (EMPRAPA, 2007, Cruz et al., 2016). Além disso, o grão desta planta é utilizado para a produção de óleo vegetal (teor em torno de 20%), o qual é um dos mais consumidos no mundo (EMPRAPA, 2007, Lin et al., 2013).

Tanto em ecossistemas naturais quanto em sistemas agrícolas, o nitrogênio é um macronutriente do qual as plantas requerem em maiores quantidades, e a falta deste nutriente no solo limita o crescimento e a produtividade das plantas. Este nutriente mineral participa diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas, bem como em outros compostos importantes associados ao metabolismo vegetal (Lambers et al., 2008). Desta forma, a planta deficiente em nitrogênio pode apresentar vários níveis de clorose e ter o crescimento reduzido (Epstein e Bloom, 2006).

Em plantas leguminosas, as bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) induzem a formação de nódulos nas raízes (Taiz e Zeiger, 2013). Em soja, a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium* é bastante comum, ocorrendo no interior dos nódulos, que são estruturas

especiais localizadas nas raízes da planta. Após o contato com a raiz, as bactérias passam a consumir parte dos produtos resultante da fotossíntese da planta e, em troca, fixam o nitrogênio que a planta irá precisar para a síntese de aminoácidos e proteínas (Milanesi, 2015).

As mudanças climáticas em curso, resultantes da crescente taxa de emissão de gases poluentes, associada ao elevado índice de desmatamento, podem provocar alterações na temperatura e nos padrões de precipitação (Collins et al., 2013). Tais fatores ambientais, associados à má gestão dos recursos hídricos contribuem para uma provável escassez de água severa dentro de algumas décadas em várias regiões no mundo, o que pode afetar de forma drástica a produção de alimentos (DaMatta et al., 2010).

A água é constituinte em cerca de 90% da massa fresca da planta, e atua em praticamente todos os processos fisiológicos e bioquímicos. Esta molécula participa como um solvente, por meio do qual, gases, minerais e outros solutos entram nas células e movem-se pela planta (Lambers et al., 2008).

A passagem da água pela planta ocorre devido ao *continuum* solo-planta-atmosfera. A transpiração é o processo que impulsiona o transporte de água até as folhas (Taiz e Zeiger, 2013). Logo, qualquer alteração no fluxo normal da água no sistema raiz-caule-folha irá influenciar na condutância estomática e na taxa fotossintética das folhas (Hubbard et. al. 1999).

A condutividade hidráulica do *continuum* solo-planta-atmosfera está correlacionada positivamente com a condutância estomática. Quando há baixa condutividade hidráulica do sistema raiz-caule-folha, podem ocorrer limitações na condutância estomática, menor assimilação fotossintética e conseqüentemente, menor crescimento (Sperry, 2000).

Em plantas de soja, a baixa condutividade hidráulica da raiz pode restringir a taxa transpiratória sob condições de elevada demanda evaporativa [elevado déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar})]. Conseqüentemente, isto pode permitir uma conservação de água no solo e pode assim, prolongar o crescimento da planta durante a estação seca, reduzindo o murchamento foliar (Sinclair et al, 2008). Contudo, uma ação contrária pode acontecer, em que o elevado DPV_{ar} pode causar o fechamento estomático e assim comprometer a assimilação fotossintética do carbono.

As características anatômicas do xilema interferem na condutividade hidráulica deste tecido (Tombesi et al., 2009). Além disso, a anatomia do xilema e as propriedades hidráulicas do xilema podem ocorrer em níveis interespecífico, intraespecífico e entre as partes da planta (Jackson et al., 2000).

Em horários de elevada demanda hídrica, o fechamento estomático pode comprometer a assimilação fotossintética do carbono. Sob esta condição, que coincide com elevada radiação fotossinteticamente ativa, o sistema fotoquímico pode ficar sobrecarregado energeticamente. Isto porque, o fechamento estomático reduz a disponibilidade de substrato (CO_2) para a rubisco, reduzindo a atividade do ciclo Calvin/Benson (Taiz e Zeiger, 2013). Nesta condição do fotossistema II (PSII) ficar sobrecarregado de energia (recebendo energia luminosa sem assimilação do carbono), o processo fotoinibitório pode acontecer em grande intensidade, e este fenômeno pode ser evidenciado pelas alterações nas variáveis da fluorescência da clorofila.

Uma vez que os nódulos localizados na raiz servem como unidades importantes de entrada de N em plantas de soja, um maior número destas estruturas pode otimizar o fornecimento deste nutriente mineral para esta espécie.

Com base em limitadas informações da literatura, pode-se relatar que a presença dos nódulos nas raízes de soja pode afetar a condutividade hidráulica da raiz. Segundo Walsh et al. (1995), a água necessária para manter o crescimento dos nódulos não é proveniente diretamente do sistema nódulo/solo. A endoderme do nódulo parece ser uma barreira para o movimento de água do solo via apoplasto para o nódulo (Bederska et al., 2012). Sprent et al. (1987) relataram ainda que os corantes solúveis em água (fucsina básica, safranina) quando aplicados à superfície exterior do nódulo penetraram apenas na camada superficial destes órgãos. Parsons e Day (1990) relataram que a parte interna do córtex serve como uma barreira à difusão dos gases e é caracterizada pela reduzida permeabilidade da água. Tais informações podem mostrar que os nódulos podem ser uma forte barreira à entrada de água a partir do solo até os vasos do xilema.

Um número elevado de nódulos pode comprometer a condutividade hidráulica das raízes e assim afetar negativamente a entrada de água na

planta. Neste contexto, faz-se necessário pesquisar se a maior quantidade de nódulos nas raízes de plantas de soja, proveniente de alterações genéticas na planta associadas a uma simbiose, pode funcionar como uma barreira para a passagem da água até a parte aérea, em horários de maior demanda transpiratória, ou como um forte dreno de fotoassimilados. Possivelmente, estas alterações associadas às relações hídricas podem interferir nos processos fisiológicos e limitar o crescimento inicial dessas plantas que possuem um maior número de nódulos.

Sendo assim, o presente trabalho tem a hipótese de que os genótipos de soja que apresentem um excessivo número de nódulos podem apresentar uma menor condutividade hidráulica da raiz. Nesta condição, a possível redução na entrada de água até o xilema (maior barreira física, e assim reduzida condutividade hidráulica) pode comprometer as trocas gasosas e tornar as plantas mais suscetíveis à fotoinibição, o que pode reduzir o crescimento inicial das plantas principalmente em condições de maior déficit de pressão de vapor do ar.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é verificar se o número de nódulos nas raízes de diferentes genótipos de plantas de soja (*Glycine max* L) influencia na condutividade hidráulica da raiz e, desta maneira, nas trocas gasosas foliares em horários de maior demanda evaporativa do ar, bem como na eficiência fotoquímica e no crescimento inicial de plantas de soja.

2.1 Objetivos Específicos

Em cada genótipo de soja, avaliar as relações entre o número de nódulos, a condutividade hidráulica da raiz e a condutância estomática;

Em plantas dos genótipos em estudo, determinar as relações entre a presença de nódulos nas raízes e a intensidade de coloração verde das folhas, a quantidade de nitrogênio foliar, as trocas gasosas, a eficiência fotoquímica em folhas individuais, e a temperatura do dossel nos horários de maior demanda evaporativa do ar. Analisar as relações entre o número de nódulos nas raízes e as variáveis de crescimento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Origem e histórico da soja

Atualmente, a soja (*Glycine Max* L) cultivada é muito diferente das espécies ancestrais, as quais eram plantas rasteiras que habitavam a costa leste da Ásia. A domesticação da soja é atribuída aos cientistas da antiga China, que buscaram melhorar as plantas originárias de cruzamentos naturais entre espécies selvagens, dando origem a uma planta que foi domesticada e melhorada. (EMBRAPA, 2004).

Em 1882, a soja chegou ao Brasil precisamente no estado da Bahia, onde foram realizados os primeiros estudos de avaliação de cultivares introduzidas nos país. Porém, esta planta não teve boa adaptação na região do recôncavo baiano deste estado (EMBRAPA, 2004). Uma nova tentativa com outras cultivares foi feita em 1891, em São Paulo e no Rio Grande do Sul, onde a espécie se desenvolveu melhor. Em 1908, novas cultivares de soja mais específicas para a alimentação humana foram levadas para São Paulo por imigrantes japoneses. A introdução da cultura ocorreu de forma gradativa no Brasil, na década de 20 em Minas Gerais, 1930 em Santa Catarina, e a partir de 1970 foi introduzida nos outros estados da região Centro-Norte-Nordeste (Miyasaka e Medina, 1981).

3.2 Características Gerais

A soja pertence a família *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamília *Faboideae* (*Papilionoideae*), gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* (Sedyama et al., 2009). Esta espécie é herbácea, de cultivo anual, autógama e possui porte ereto. A altura pode variar de 30 a 200 cm. O ciclo da cultura pode ser de 75 até 200 dias (Miyasaka e Medina, 1981).

A temperatura do ar ideal para o crescimento e o desenvolvimento da soja está entre 20 e 30°C. As temperaturas inferiores ou iguais a 10°C interferem em uma diminuição ou anulação do crescimento desta planta. Entretanto, as temperaturas acima de 40°C têm efeito adverso na taxa de crescimento, provocam distúrbios na floração e diminuem a capacidade de retenção de vagens. Tais problemas também se acentuam com a ocorrência de déficits hídricos (EMBRAPA, 2011).

A sensibilidade ao fotoperíodo é característica variável entre cultivares de soja que é considerada uma planta de dia curto e a faixa de adaptabilidade de cada cultivar varia à medida que o plantio é feito em direção ao norte ou ao sul. No entanto, cultivares que apresentam a característica “período juvenil longo” possuem adaptabilidade mais ampla, o que possibilita a utilização em faixas mais abrangentes de latitudes (locais) e de épocas de semeadura (Farias et al., 2007).

Nas fases de germinação-emergência e floração-enchimento de grãos, a disponibilidade de água se torna mais importante nas plantas de soja. Tanto o excesso quanto o déficit de água são prejudiciais à obtenção de uma uniformidade nas plantas. Para uma boa germinação, a semente necessita absorver, no mínimo, 50% do peso deste órgão em água. A exigência em água nesta cultura vai aumentando de acordo com crescimento/desenvolvimento da planta, atingindo o máximo durante a floração-enchimento de grãos (7 a 8 mm/dia), e decrescendo após esse período. A ocorrência de déficits hídricos expressivos nas fases de floração e o enchimento de grãos provocam alterações fisiológicas na planta, como o fechamento estomático e o enrolamento de folhas. Com o agravamento da limitação de água no solo,

ocorre redução prematura do número de folhas e de flores, e abortamento de vagens, resultando na redução do rendimento de grãos (EMBRAPA, 2006).

3.3 Aspectos econômicos da soja

A soja possui uma grande importância mundial, pois os grãos possuem elevado teor de proteínas e são amplamente comercializados em todo o mundo. Além disso, esta planta pode ser utilizada amplamente como adubo verde, forragem, silagem, feno e pastagem. O grão de soja pode fornecer óleo, tanto para alimentação humana como para a fabricação de biodiesel, desinfetantes, lubrificantes, sabões, etc. O farelo é utilizado na alimentação humana e animal e na indústria de muitos produtos processados ou semiprocessados (Sediyama, 2009).

A soja é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. Esta espécie é cultivada principalmente nas regiões Centro-oeste e Sul do Brasil, se firmando como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional e na balança comercial. O aumento da produtividade da soja está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo adequado e à eficiência dos produtores (MAPA, 2016).

A demanda por óleos vegetais deverá crescer, principalmente pelo aumento do consumo *per capita* dos países emergentes. A demanda por estes óleos será igualmente pressionada pela utilização como biocombustível, a nova alavanca de consumo do óleo vegetal brasileiro, em que a soja responde por quase 90% da produção nacional (EMBRAPA, 2007).

O Brasil é responsável por 30% da produção mundial de soja (equivalente a 94,5 mil toneladas de soja em 2015) e ocupa a segunda colocação entre os países produtores, atrás apenas dos Estados Unidos (USDA, 2015). O Brasil é o que possui o maior potencial de expansão da área cultivada, e tem o potencial de duplicar a atual produção e, em curto prazo, constituir-se no maior produtor e exportador mundial de soja e derivados (EMBRAPA, 2007).

Segundo o levantamento realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (2017), a produção de grãos estimada para a safra 2016/17

ultrapassa cerca de 100 milhões de toneladas. A área plantada prevista ficará entre 35 milhões de hectares.

3.4 O Sistema radicular e absorção de água pela planta

A água possui uma importante função para as plantas e constitui de 80 a 95% dos tecidos vegetais em crescimento. Para cada grama de matéria orgânica produzida pela planta, aproximadamente 500g de água são absorvidos pelas raízes, transportados através da planta e perdidos para atmosfera (Taiz e Zeiger, 2013).

O sistema radicular é o órgão responsável pela absorção de água e nutrientes e fixação do vegetal no solo. Além disso, é responsável pela síntese de fitormônios essenciais para a parte aérea, principalmente na região meristemática como é o caso das citocininas, das giberelinas e do ácido abscísico (ABA) (Pimentel, 2004).

As raízes mais finas são responsáveis principalmente pela absorção de água, pois estas se encontram em maior contato com o solo por unidade de volume de raiz. A região de maior incidência de pelos absorventes nas raízes representa a zona de maior rapidez e maior absorção de água. Os pelos são extensões microscópicas das células epidérmicas que ampliam a área superficial das raízes em contato com a água circundante das partículas de solo. As regiões mais envelhecidas das raízes podem apresentar camadas externas de tecidos com paredes celulares que contêm material hidrofóbico, dificultando a absorção de água (Kerbaui, 2004).

A água se move no solo predominantemente por fluxo de massa, governado por um gradiente de pressão. Além disso, a difusão de vapor de água contabiliza uma certa fração do movimento de água. À medida que as plantas absorvem água do solo, elas esgotam a água junto à superfície das raízes, reduzindo o potencial de pressão da água próxima à superfície radicular e estabelecendo um gradiente de pressão em relação às regiões vizinhas do solo que possuem valores maiores de potencial de pressão (Taiz e Zaiger, 2013).

A soja possui o sistema radicular predominantemente axial (pivotante), onde na raiz principal se desenvolvem as raízes secundárias, que se ramificam. Os fatores do ambiente como tipo de solo, adubação, espaçamento, umidade do ar e solo e cultivares influenciam no crescimento/desenvolvimento das raízes. Geralmente, a planta de soja faz simbiose com uma bactéria do gênero *Bradyrhizobium*, o que pode causar a nodulação nas raízes. Nestes nódulos, ocorrem processos fisiológicos, como o fornecimento de nitrogênio para a planta e a liberação de água e hidratos de carbono para a bactéria (Sediyama et al., 1985, Nogueira et al., 2009).

3.5 Nodulação na raiz de soja e fixação de nitrogênio

Nas plantas, o nitrogênio é responsável por várias reações, além de fazer parte da estrutura da clorofila, da molécula do DNA, de enzimas e proteínas (Fagan, 2007). É um elemento essencial que afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e translocação de fotoassimilados, bem como a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar primeiramente afetado na ausência deste nutriente (Ryle et al., 1979).

Na planta, e nas folhas mais velhas, a deficiência de nitrogênio apresenta o sintoma de clorose, e posteriormente esta clorose avança para as folhas novas, pois se trata de um elemento móvel no tecido vegetal. As plantas que crescem em solos deficientes em N apresentam hastes delgadas e geralmente lenhosas, devido ao acúmulo de carboidratos, os quais não podem ser usados na síntese de aminoácidos e outros compostos nitrogenados (Taiz e Zeiger, 2013, Epstein e Bloom, 2006). Na cultura de soja, a deficiência de N causa perda de coloração nas folhas, passando de verde-escuro até completamente amarelas (Nogueira et al., 2010). Essa deficiência de N ocorre quando a soja é cultivada sem a prévia inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) (EMBRAPA, 2006).

Por apresentar um grande potencial produtivo, a soja necessita em torno de 80 kg ha⁻¹ de N para cada 1 mg de grãos produzidos (Hungria et al., 2001), proporcionando altos custos de produção (EMBRAPA, 2001). De acordo com Mengel e Kirkby (2001), a simbiose entre a bactéria do gênero *Bradyrhizobium* e a soja é capaz de suprir as exigências de nitrogênio por meio

do processo de fixação biológica, dispensando a adubação nitrogenada e tornando o processo de produção mais barato e ecologicamente sustentável.

As bactérias pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* se associam simbioticamente às plantas de soja, formando estruturas especializadas nas raízes da soja, os nódulos, nos quais ocorrem os processos de fixação biológica. No nódulo, as bactérias catalisam a redução de N₂ em amoníaco utilizando o complexo enzimático nitrogenase, um processo habitualmente referido como "fixação simbiótica do nitrogênio" (FSN). A simbiose leguminosa-rizóbio é a associação simbiótica mais importante em termos de fixação biológica de nitrogênio, produzindo cerca de 200 milhões de toneladas de nitrogênio por ano (Graham e Vance 2003, Peoples et al., 2009).

Segundo Fagan et al., (2007), a simbiose entre as bactérias do gênero *rhizobium* e a planta de soja é iniciada pela liberação de exsudatos radiculares, possibilitando atração quimiotática das bactérias. A associação acontece nos primórdios dos pelos radiculares, culminando na formação de nódulos (Taiz e Zeiger, 2013). Além disso, a nodulação também é controlada pelo nível hormonal na planta, e nessa condição quanto melhor o balanço e os níveis entre auxina e giberelina, mais eficiente é a simbiose (Bulegonet al., 2016).

Dentro destes gêneros, existem várias estirpes que são comercializadas. Conforme relatado por Chueire et al. (2003), as estirpes mais utilizadas na cultura da soja no Brasil são a SEMIA 587 e SEMIA 5019 pertencentes à espécie *Bradyrhizobium elkanii* e SEMIA 5079 e SEMIA 5080 pertencentes à espécie *Bradyrhizobium japonicum*. De acordo com Smith e Hume(1987), a associação do *Bradyrhizobium japonicum* com a soja (*G. max*) pode resultar em uma fixação de nitrogênio de até 102,9 kg de N.ha⁻¹.

A presença de espécies de *Rhizobium* (rizóbio) compatíveis em contato com a correspondente planta hospedeira é geralmente suficiente para desencadear o desenvolvimento de nódulos, que estimulam a deformação dentro da raiz (Yao e Vincent 1969, Bhuvaneshwari et al., 1981, Bhuvaneshwari e Solheim 1985) e promovem as divisões celulares corticais (Calvert et al., 1984; Mathews et al., 1989). Nas primeiras fases do processo de infecção, o rizóbio invade o pelo radicular causando a deformação e promovendo a divisão celular cortical (Stacey et al., 2006). A maioria dos nódulos desenvolve-se perto das células do xilema radial, afastando-se do floema.

O nódulo da raiz de soja possui forma oblonga, comumente com lenticelas (Corby, 1981). Em determinados nódulos, o xilema é relatado como contínuo em torno da circunferência destes (Ikeda, 1955, Sprent, 1980). Walsh et al., (1989) relatam que a água não entra no nódulo através do xilema, além disso, o xilema no nódulo apresenta alguns elementos de vaso de diâmetro pequeno, não podendo atuar como um circuito funcional do sistema radicular. Assim, a água pode ser fornecida ao nódulo através do floema ou por movimento apoplástico do córtex radicular.

Com base em limitadas informações da literatura, pode-se relatar que a presença dos nódulos nas raízes de soja pode afetar a condutividade hidráulica da raiz. Segundo Walsh et al. (1995), a água necessária para manter o crescimento dos nódulos não é proveniente diretamente do sistema nódulo/solo. A endoderme do nódulo parece ser uma barreira para o movimento de água do solo via apoplasto para o nódulo (Bederska et al., 2012). Sprent et al., (1987) relataram ainda que os corantes solúveis em água (fucsina básica, safranina) quando aplicados à superfície exterior do nódulo penetraram apenas na camada superficial destes órgãos. Parsons e Day (1990) relataram que a parte interna do córtex serve como uma barreira à difusão dos gases e é caracterizada pela reduzida permeabilidade à água. Tais informações podem mostrar que os nódulos podem ser uma forte barreira à entrada de água do solo até os vasos do xilema.

Kaschuk et al. (2012) estudaram a eficiência de dois isolados de *Bradyrhizobium* inoculados e a adaptação fotossintética a esta inoculação em soja. Os autores observaram que as plantas noduladas tiveram um incremento na taxa fotossintética líquida de 14-31%, e esta elevação na taxa fotossintética foi associada a uma maior taxa de ativação da rubisco, o que causou maior velocidade de carboxilação ($V_{\text{cmáx}}$). Segundo os autores, o maior custo energético dos nódulos (6 a 14% dos fotoassimilados produzidos) não afeta a produtividade da soja.

3.6 Características fisiológicas

3.6.1 Condutividade hidráulica da planta (k)

Na planta, a água é uma molécula temporária. A maioria da água perdida pela planta evapora do mesófilo à medida que o CO₂ necessário para a fotossíntese é absorvido da atmosfera. Essa perda de água é chamada de transpiração (Taiz e Zaiger, 2013).

A condutividade hidráulica da planta (k) é definida como uma combinação dos componentes de condutividade em todo o sistema radicular (da superfície da raiz para o xilema) e do caule e folhas (Huang e Nobel, 1994). A facilidade com que a água chega aos estômatos é proporcional à condutividade hidráulica de todo o sistema. As espécies de rápido crescimento geralmente possuem uma alta condutividade hidráulica (Comas et al., 2002).

A condutividade hidráulica do *continuum* solo-planta-atmosfera está correlacionada positivamente com a condutância estomática. Quando há reduzida condutividade hidráulica, podem ocorrer limitações na condutância estomática, menor assimilação fotossintética e conseqüentemente, menor crescimento da planta (Sperry, 2000). Contudo, a baixa condutividade hidráulica da raiz em plantas de soja, pode restringir a taxa transpiratória sob condições de elevada demanda evaporativa do ar, no entanto, isto pode permitir uma conservação de água no solo e pode, portanto, prolongar o crescimento da planta durante a estação da seca, reduzindo o murchamento foliar (Sinclair et al., 2008).

De acordo com Tombesi et al. (2009), as características anatômicas do xilema interferem na condutividade hidráulica. Segundo Jackson et al. (2000), a anatomia do xilema e as propriedades hidráulicas no sistema raiz-caule-folhas podem ocorrer em nível interespecífico, intraespecífico e dentro dos tecidos da planta. Em plantas de eucalipto, Figueiredo et al., (2014) verificaram que o confinamento e a deformação de raízes influenciaram na condutividade hidráulica destes órgãos, o que pode mostrar que as alterações na morfologia/anatomia da raiz podem afetar o movimento de água nestas partes da planta.

Para avaliar a condutância hidráulica de raízes, a câmara de pressão foi utilizada por muitos pesquisadores (Radin e Eidenbock, 1984, Lo Gullo et al., 1998, Henzler et al., 1999, Rieger e Litvin, 1999, e Shimizu et al., 2005).

Nesta metodologia, o sistema radicular é posto em uma câmara de pressão, geralmente imerso em água ou pode também ser utilizado com o solo aderido no sistema radicular. Nesta câmara, é aplicada uma pressão positiva de nitrogênio gasoso, e a água presente nas raízes e na câmara passa através do sistema radicular. O volume da seiva exsudada é pesado, e assumindo uma densidade de 1 kg por L⁻¹. Neste caso, a condutividade hidráulica é dada pela inclinação da reta ajustada entre a pressão positiva aplicada na câmara e o volume da seiva exsudada no corte do caule. O valor desta inclinação pode ser dividido pela área de superfície de raiz, pelo comprimento ou pelo volume total de raízes, bem como a massa fresca ou seca destes órgãos (Frensch e Steudle 1999, North et al., 1992).

Em condições de elevado déficit de pressão de vapor (DPV), a adequada condutância hidráulica da planta é importante para a manutenção do estado hídrico das folhas. A resistência à passagem de água na raiz é maior do que a resistência da parte aérea da planta (Kramer, 1983, Boyer, 1985). Essa reduzida condutividade hidráulica da raiz, em condições de altos índices de DPV, pode afetar a condutância estomática e as trocas gasosas das folhas, com possíveis efeitos negativos sobre o crescimento e desenvolvimento.

3.6.2 Trocas gasosas foliares

De todos os recursos que a planta necessita para crescer e desenvolver, a água é o mais abundante e o mais limitante para a produtividade agrícola. Assim, a compreensão da absorção e perda de água pela planta é de grande importância para entender os processos fisiológicos e bioquímicos que interferem no crescimento e desenvolvimento das plantas (Taiz e Zeiger, 2013).

Para assimilar o CO₂, a planta necessita da energia solar para oxidar moléculas de água, liberando oxigênio e reduzir o dióxido de carbono a compostos necessários à estrutura e ao metabolismo vegetal (Taiz e Zeiger, 2013). De acordo com Gifford et al. (1984), o aumento da produtividade das culturas sob condições de cultivo em campo é diretamente relacionado com a quantidade absoluta de luz interceptada pelas folhas verdes.

A disponibilidade de água é vital para o tecido vegetal, e o estresse hídrico afeta o sistema fotossintético e a produtividade da planta. O fornecimento de água é necessário para sustentar a transpiração associada à absorção de carbono através dos estômatos (Sperry, 2000). Nas plantas, a baixa condutância hidráulica pode limitar o fluxo de água, e ocorrer perda de turgescência nas células-guarda, o que acarreta na diminuição da condutância estomática, reduzindo assim a assimilação de carbono.

À medida que a disponibilidade de água no solo diminui, a taxa de transpiração decresce, como resultado do fechamento dos estômatos. Esse é um dos importantes mecanismos de defesa que as plantas apresentam contra as perdas excessivas de água e eventual morte em razão do déficit hídrico severo (Larcher, 2004).

A transpiração é definida como a perda de vapor d'água pelas plantas para a atmosfera. A evaporação da água nas células do mesófilo controla o gradiente de potencial hídrico (Ψ_w) que é a causa principal do movimento da água no xilema. Em média, cerca de 95% de água absorvida pela planta é perdida pela transpiração e o restante é direcionado para o metabolismo e crescimento. Qualquer parte do organismo vegetal acima do solo transpira, no entanto, a maior proporção ocorre nas folhas. A transpiração excessiva sem reposição na mesma intensidade pelas raízes pode levar a um déficit hídrico acentuado na folha e causar redução da produtividade das culturas (Kerbaudy, 2004).

O movimento estomático é o principal mecanismo de controle das trocas gasosas nas plantas superiores terrestres. Os estômatos quando abertos permitem a assimilação de CO_2 e fechando-se, conservam água e reduzem o risco de desidratação (Tenhunen et al., 1987).

Sinclair et al. (2008) verificaram que a sensibilidade da transpiração em plantas de soja (genótipo PI416937) a um DPV_{ar} elevado, estava relacionada a uma baixa condutância hidráulica na folha.

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), as plantas estão submetidas a uma demanda competitiva em absorver CO_2 da atmosfera e limitar a perda de água. O gradiente de concentração para absorção de CO_2 é muito menor do que o gradiente de concentração que governa a perda de água. O fechamento e a abertura estomática são regulados pela disponibilidade hídrica do solo e do

ar, temperatura, qualidade e intensidade de luz e a concentração intracelular de CO_2 . Quando há redução da água disponível do solo, o potencial hídrico foliar torna-se mais negativo podendo causar o fechamento estomático (Kerbaudy, 2004).

Até certo nível, a diminuição da condutância estomática (g_s) pode impactar negativamente a fotossíntese (A), o que pode suprimir o potencial de rendimento da cultura da soja. Estudos envolvendo trocas gasosas em diferentes genótipos de soja demonstraram que, sob condição de altos índices de DPV_{ar} , ocorre uma diminuição das taxas de fotossíntese ligadas a uma redução na condutância estomática (g_s), no entanto, sem afetar a taxa de transpiração. Os genótipos com maiores capacidades fotossintéticas em níveis bioquímico e fotoquímico poderiam compensar o efeito de limitação estomática (Gilbert et al., 2011).

De acordo com Sinclair et al. (1984), o incremento em biomassa dos vegetais tem uma relação inversa ao aumento do DPV_{ar} calculado em uma média diária. A resposta da abertura estomática ao DPV_{ar} tem sido estabelecida há muito tempo (Turner et al., 1984; Grantz, 1990). Porém, em pesquisas mais recentes foi demonstrado que a restrição da transpiração máxima das plantas, poderia incrementar no acúmulo de biomassa (Fletcher et al., 2007; Kholova et al., 2010). Logo, a modificação genética em plantas para se tornar mais eficiente ao uso da água é favorável neste contexto.

A capacidade da planta em moderar a perda de água e ao mesmo tempo absorver CO_2 suficiente pode ser avaliada por um parâmetro denominado eficiência do uso da água (EUA) (Taiz e Zeiger 2013), sendo a eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) relacionada à quantidade de CO_2 assimilado por quantidade de água transpirada. Em geral, uma alta EUA de plantas submetidas a um déficit hídrico moderado é resultado do fechamento parcial dos estômatos com uma concomitante redução em menor escala em A (Flexas et al., 2004). A EUA bem como a EIUA são ferramentas eficientes em estudos para potencializar a produtividade e reduzir a quantidade de água utilizada para uma determinada área de cultivo.

A EUA e EIUA possibilitam avaliar se a produtividade de uma cultura está sendo eficiente em relação à quantidade de água absorvida. Aliada a outras características, tais variáveis são ferramentas eficientes em estudos

para potencializar a produtividade e reduzir a quantidade de água utilizada para uma determinada área.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

Cinco genótipos de *Glycine max* L. foram utilizados, sendo que os genótipos NOD 139 (modificado geneticamente para não produzir nódulos na raiz), e NOD 4 (modificado geneticamente para produzir elevado número de nódulos nas raízes, $\cong 250$ nódulos por plantas) foram cedidos pela Universidade de Queensland – Austrália. Os genótipos BRS 133 (quando inoculados: $\cong 35$ nódulos por planta), BRA 99 (quando inoculados: $\cong 37$ nódulos por planta) e o genótipo W 82 (quando inoculados: $\cong 35$ nódulos por planta) foram provenientes da EMBRAPA.

Os tratamentos foram constituídos de genótipos inoculados (INOC) e tratamento controle (CTL). No tratamento INOC as sementes foram inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *Bradyrhizobium Japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* cedidas pela Embrapa Agroecologia – Seropédica. No tratamento controle (CTL), as sementes não foram tratadas com inoculantes. Nos tratamentos inoculados, as sementes foram previamente esterilizadas em etanol 92%, por 3 min, seguido por 5 min em hipoclorito de sódio 5%, e posteriormente lavadas 10 vezes com água destilada estéril. Para tanto, no tratamento INOC, utilizaram-se 100 g de inoculante em 50 kg de semente de

soja. No tratamento controle, não foi realizado nenhum procedimento de inoculação.

4.2 Condições de cultivo

O experimento foi realizado na casa de vegetação do Setor de Fisiologia Vegetal - Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, localizado no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, município de Campos dos Goytacazes ($21^{\circ}44'47''$ S e $41^{\circ}18'24''$ W e 10 m de altitude). A casa de vegetação possuía uma cobertura plástica transparente e um sombrite preto com capacidade de 50% de sombreamento.

O semeio foi realizado no dia 26 de junho de 2015, e a última avaliação foi realizada no dia 03 de agosto de 2015 (37 dias de cultivo). Para tanto, utilizaram-se tubetes plásticos com capacidade para 280 cm³, onde foram colocadas duas sementes por tubete. Cinco dias após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas uma planta por tubete. No experimento, o substrato comercial utilizado foi Basaplant Hortaliça®.

A análise química no substrato foi realizada, a qual apresentou pH de 5,5 e os seguintes valores para cada nutriente mineral foram verificados: P (190 mg/dm³); K (774 mg/dm³), Ca (17,2 9cmol_c/dm³), Mg (3,9 cmol_c/dm³), Al (0,1 cmol/dm³) ; H+Al (8,1 cmol/dm³); Na (0,28 cmol/dm³); C (6,42 cmol_c/cm³) MO(110,7g/dm³); Soma da Bases: 23,4 cmol_c/cm³, Capacidade de trocas de cátions (CTC) a pH 7,0: 31,5 cmol_c/cm³; CTC efetiva: 23,5 cmol_c/cm³; Saturação por alumínio 0,4 % ,Saturação por base de 74,3%; Fe (78,0 mg/dm³), Cu (1,0 mg/dm³), Zn (9,0 mg/dm³), Mn (18,0 mg/dm³),S (222,9 mg/dm³) e B (2,89 mg/dm³).

Após a germinação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação por 37 dias, manualmente irrigadas duas vezes ao dia (manhã e tarde) para manter o substrato na capacidade de campo, de modo a evitar o excesso e a falta de água.

As condições climáticas foram monitoradas por uma miniestação climatológica modelo WachtDog (Spectrum Technologies, Illinois, USA), a qual foi posicionada a cerca de 2 m de distância das plantas. Os dados foram

coletados a cada 30 minutos e, a partir destes, foram calculadas as médias diárias para as variáveis temperatura, umidade relativa do ar e radiação fotossinteticamente ativa.

Com a obtenção dos dados de temperatura e umidade relativa do ar, foi calculado o déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar}) por meio da equação proposta por Jones (1992):

$$DPV_{ar} = 0,61137 * \exp((17,502 * T^{\circ}) / (240,97 + T^{\circ})) * (1 - (UR\% / 100)),$$

Em que:

- DPV: déficit de pressão de vapor;
- exp: exponencial;
- T°: temperatura em graus Celsius;
- UR: umidade relativa em %.

4.3 Avaliações

4.4 Características de Crescimento avaliadas

4.4.1 Avaliação da altura (H) e do diâmetro do tronco (DT)

Por meio de uma régua graduada, foram avaliados a altura das plantas, e o diâmetro do caule rente ao solo por meio do paquímetro digital Starret®. As avaliações foram realizadas no 37º dia após o semeio (DAS).

4.4.2 Determinação do volume de raiz

O volume de raiz foi determinado pela metodologia do volume de água deslocado. Para tanto, foi usada uma proveta graduada com um volume conhecido de água, e o volume de água deslocado após a imersão do sistema radicular na proveta foi considerado como o volume de raiz. Esta característica foi utilizada para o cálculo posterior da condutividade hidráulica da raiz.

4.4.3 *Determinação do número de nódulos das raízes*

Os nódulos foram retirados das raízes das plantas dos tratamentos inoculadas e contados manualmente 37 dias após o semeio.

4.4.4 *Determinação da massa seca*

As raízes, o caule, as folhas e os nódulos das plantas foram colocados separadamente em sacos de papel e secos em estufa de circulação forçada de ar a 70°C por 72 horas. Com o auxílio de uma balança analítica foram determinadas a massa seca das raízes (MSR), a massa seca do caule (MSC), a massa seca das folhas (MSF) e a massa seca dos nódulos (MSN).

4.4.5 *Índice de qualidade de Dickson (IQD)*

O IQD (Dickson et al., 1960) trata-se de uma equação matemática que possibilita avaliar a qualidade das plantas de acordo com os valores obtidos pela massa seca total (MST), da altura da parte aérea (HPA), do diâmetro do caule (DC), da massa seca da parte aérea (MSPA) (massa seca do caule + massa seca das folhas) e massa seca das raízes (MSR). Em que:

$$IQD = MST(g) / (HPA (cm)/DC(mm)) + (MSPA(g)/MSR(g))$$

4.4.6 *Quantificação de Nitrogênio nas folhas*

Após a secagem do material vegetal, as amostras de folhas de cada tratamento foram levadas ao laboratório de análise química e nutricional de plantas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ no Campus Campos dos Goytacazes-RJ, para quantificação do teor de nitrogênio presente nas folhas de cada tratamento.

4.5 Características associadas à fotossíntese

Aos 37 dias após o semeio (DAS) para a mensuração das características fotossintéticas e relações hídricas associadas à parte aérea,

padronizou-se a utilização da terceira folha completamente expandida contada a partir do ápice da planta.

4.5.1 *Intensidade de verde*

A intensidade de cor verde das folhas foi determinada a partir do 11^o dia após o semeio com o auxílio de um Medidor Portátil de Clorofila (MPC), modelo SPAD-502 “*Soil Plant Analyser Development*” (Minolta, Japão). As leituras foram realizadas semanalmente, entre 08:00 e 09:00 horas da manhã até o fim do experimento, com três leituras em cada folha para obtenção da média de cada repetição.

4.5.2 *Trocas gasosas foliares*

A taxa fotossintética líquida (A), a condutância estomática (g_s) e a transpiração (E) foram determinadas no dia 03 de agosto de 2015 (37 dias após o semeio) pelo analisador de gás a infravermelho (IRGA), modelo LI-6400 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Para cada cultivar em estudo, e a partir dos dados de trocas gasosas, foram determinadas a eficiência instantânea de uso da água (A/E) e a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s).

As avaliações foram realizadas duas vezes ao dia, entre 07:00 e 08:00 horas da manhã e entre 12:00 e 13:00 horas da tarde, em dias de pleno sol. Uma folha do terceiro par do terço superior (contado a partir do ápice) totalmente expandida foi utilizada para cada repetição. As avaliações das trocas gasosas foram realizadas sob luz saturante (PAR) $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e a uma concentração de CO_2 de $400 \mu\text{L L}^{-1}$. A temperatura média na câmara do IRGA no momento da avaliação foi de 27°C , a umidade relativa às 08:00 e 12:00 horas foi de 77,05 e 52,88%, respectivamente, enquanto o DPV_{ar} foi de 1,05 e 2,65 MPa, respectivamente para ambos os horários.

A EUA e a EIUA foram estimadas, por meio da equação linear ajustada no gráfico de dispersão entre os valores da taxa fotossintética líquida (A) e da transpiração (E) e da taxa fotossintética líquida (A) e da condutância

estomática (g_s), respectivamente. A inclinação da curva *A versus E* é a EUA e *A versus g_s* é a EIUA.

4.5.3 Potencial hídrico foliar (Ψ_L)

O Ψ_L foliar foi avaliado entre 12:00 e 13:00 horas, por meio da câmara de pressão tipo 'Scholander' modelo *SoilMoisture*, USA (Scholander et al., 1965). Foram utilizadas as mesmas folhas em que foram realizadas as medições de trocas gasosas foliares. O pecíolo foi vedado por meio de uma borracha, e esta parte da folha ficou exposta. A leitura da pressão exercida sobre o limbo foliar dentro da câmara foi registrada no momento em que se inicia a exsudação de seiva xilemática na região do corte do pecíolo. O valor obtido, neste momento de saída da seiva, foi medido em MPa, é analogamente oposto à pressão negativa do xilema de toda a folha (potencial hídrico foliar).

4.5.4 Emissão da Fluorescência da clorofila

O rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), e o Índice Fotossintético ("*Photosynthetic Index*") (PI) foram obtidos por meio do fluorímetro não-modulado, modelo *Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser*, Hansatech, King's Lynn, UK). Durante as medidas, foram utilizadas pinças para aclimação dos cloroplastos ao escuro, para que todos os centros de reação do fotossistema II (PSII) adquirissem a condição de "abertos", minimizando perda de calor (Strasser et al, 2000). Após essa aclimação por um período de 20 minutos, um único pulso forte de luz $1s^{-1}$ ($3500 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) foi aplicado com a ajuda de três diodos emissores de luz (650 nm). Foram realizadas duas mensurações, sendo a primeira entre 06:00 e 07:00 horas da manhã e a outra entre 12:00 e 13:00 horas da tarde. As avaliações da fluorescência da clorofila a foram feitas nas mesmas folhas e no mesmo local do limbo onde foram feitas as medidas das trocas gasosas foliares.

Os dados da fluorescência foram utilizados para a análise do teste JIP, o qual é baseado em um simples modelo de fluxo de energia relacionado ao PSII (Strasser et al., 2004). Por meio do teste JIP foi possível obter a relação F_v/F_m (TR/ABS) (rendimento quântico máximo do PSII) e o PI. O PI combina 3

passos da atividade fotoquímica dos centros de reações do PSII: a absorção da energia luminosa (RC/ABS); a captura da energia de excitação (F_v/F_0) (que representa a contribuição da energia luminosa para a fotoquímica primária) e o componente relacionado ao transporte de elétrons (ET/TR-ET). Este componente F_v/F_0 representa a “performance” devido à probabilidade de captura da energia luminosa (*i.e.* a capacidade de reduzir Q_a); e o componente (ET/TR-ET) representa a conversão da energia luminosa para o transporte de elétrons no PSII (ET/TR-ET) (*i.e.* a contribuição das reações bioquímicas) (Strasser et al., 1995; Strasser and Tsimilli-Michael, 2001; Strasser et al., 2000 e 2004).

O PI é calculado de acordo com a equação abaixo:

$$PI = 1 - (F_0/F_m) / (M_0 / V_J) \times (F_m - F_0) / F_0 \times (1 - V_J) / V_J$$

Em que:

- F_0 é a fluorescência a 50 μ s;
- F_J é a fluorescência no tempo J (2ms);
- F_m representa a fluorescência máxima;
- V_J é a variável da fluorescência relativa a 2 ms:

$$V_J = (F_J - F_0) / (F_m - F_0),$$

- M_0 representa a inclinação inicial da curva referente à cinética da fluorescência, que pode ser derivada da equação:

$$M_0 = 4 \times (F_{300\mu s}) / (F_m - F_0)$$

- F_{300} é a fluorescência a 300 μ s.

4.5.5 Termografia

As imagens termográficas foram obtidas de seis plantas por tratamento, entre 12:00 e 13:00 horas, com auxílio de um termógrafo modelo FLIR I50 (FLIR Systems AB, Sweden). A câmara termográfica foi mantida cerca de 1 m do dossel das plantas. As imagens foram analisadas pelo software FLIR QuickReport. Para tanto, foi escolhida uma planta na qual duas folhas de

referência foram usadas (planta referência). Uma folha foi pulverizada com água ($T_{\text{folha com água}}$) e sob outra folha foi aplicado vaselina na parte abaxial (T_{vaselina}), de modo a reduzir ao máximo a transpiração. Estas plantas tidas como referências foram postas ao lado das seis plantas representativas dos tratamentos. T_{dossel} foi a temperatura média das folhas das seis plantas.

A partir das variáveis $T_{\text{folha com água}}$, T_{vaselina} e T_{dossel} obtidas das imagens termométricas, dois índices sugeridos por Jones (1999) foram gerados:

$$\text{Índice de abertura estomática } I_G = \frac{(T_{\text{vaselina}} - T_{\text{dossel}})}{(T_{\text{dossel}} - T_{\text{folha com água}})}$$

$$\text{Índice de estresse} = \frac{(T_{\text{média}} - T_{\text{folha com água}})}{(T_{\text{folha com vaselina}} - T_{\text{folha com água}})}$$

4.5.6 Determinação da área foliar

Ao final do experimento, a área foliar foi medida com o auxílio do aparelho modelo LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE, USA).

4.5.7 Condutância e condutividade hidráulica de raízes (k_{root})

Para a avaliação destas características, o caule das plantas foi cortado dentro da água (evitar a entrada de ar nos vasos do xilema), a cerca de 5 cm da região do coleto. Posteriormente, as plantas foram removidas dos tubetes e o sistema radicular foi colocado (imerso) em um recipiente com água, o qual foi inserido em uma câmara de pressão do tipo Scholander. Para a obtenção da condutância e da condutividade hidráulica das raízes, foi aplicada uma pressão inicial de 0,05 MPa por 60 segundos, de modo a estabilizar o fluxo (J, kg) e remover possíveis bolhas de ar no xilema. Após a estabilização, foram aplicadas as pressões 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 MPa. Cada pressão foi aplicada por quatro minutos. O líquido exsudado foi colhido por meio de um papel absorvente, de peso conhecido, e após absorção do líquido em cada pressão no papel, este papel umedecido foi pesado em balança analítica. A condutância foi obtida pela vazão do líquido exsudado por unidade de tempo, e a condutividade foi obtida quando o valor da condutância foi normalizado pelo

volume, pela área e pela massa seca de raiz ou área foliar da planta (Becker, 1999).

4.6 Análise estatística

O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado - DIC composto por 10 tratamentos e seis repetições. Para os parâmetros quantitativos relacionados à condutividade hidráulica foi realizada a análise de variância e de regressão linear múltipla com o uso de matrizes e binários no Programa SAEG. Os demais dados obtidos foram analisados por meio do teste de Tukey em 5% de probabilidade com o auxílio do software ASSISTAT 7.6 beta (2011) (Silva, 1996; Silva e Azevedo 2002; Silva e Azevedo, 2006; Silva e Azevedo 2009).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, a temperatura máxima foi de aproximadamente 35 °C, e a mínima de 15 °C (Figura 1 A). Segundo Mondini et al. (2001), para o cultivo de soja, a faixa ideal de temperatura está entre 20 e 30°C. Caso as temperaturas não estejam de acordo com a recomendada para o crescimento/desenvolvimento, as plantas podem apresentar alguns distúrbios fisiológicos na floração, e na formação de nódulos nas raízes (Farias et al., 2007). No entanto, durante todo o experimento, a temperatura média ficou acima dos 20°C (Figura 1), e não foram observados distúrbios fisiológicos, de forma que o processo de nodulação não foi afetado por esta variável microclimática (Tabela 1).

A umidade relativa mínima registrada foi em média 20%, nos meses de agosto e a máxima de 100% durante o período noturno, registrada em todo o período do experimento (Figura 1B).

Os maiores valores encontrados para Radiação fotossinteticamente ativa (RFA) ficaram entre os horários de 12:00 -14:00 horas, e o valor máximo encontrado foi de 500 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ no mês de julho (Figura 1C).

O DPV_{ar} é uma variável que pode estar associado com o crescimento das plantas, já que altos valores causam o fechamento estomático, devido à diminuição de g_s (Reis e Campostrini, 2008). A redução de g_s ocorre como uma resposta fisiológica, já que a perda de água das folhas é controlada pelo

gradiente de pressão de vapor entre a folha e o ar, e depende, entre outros fatores do DPV_{ar} . Até certo valor, quanto mais elevada a UR, e menor a temperatura do ar, menor o valor de DPV_{ar} e maior o g_s .

Sob elevados valores de DPV_{ar} , as plantas tendem a transpirar mais, condição esta que pode reduzir a temperatura foliar, e a perda de água para o ambiente torna-se mais intensa, o que pode afetar o fechamento estomático, e reduzir os valores de A . Neste trabalho, os valores mais elevados de DPV_{ar} estiveram em torno de 4,5 KPa, e os valores mínimos inferiores a 0,5 KPa (Figura 1 D). Os valores de DPV_{ar} encontrados às 8:00 e 12:00 horas são mostrados na Figura 2. Os valores máximos do DPV_{ar} às 12h mostram que houve uma elevada demanda transpiratória sobre as folhas dos genótipos estudados. Este fato é de grande importância, uma vez que a proposta desta pesquisa é verificar as trocas gasosas dos genótipos com diferentes números de nódulos nas raízes sob elevada demanda transpiratória.

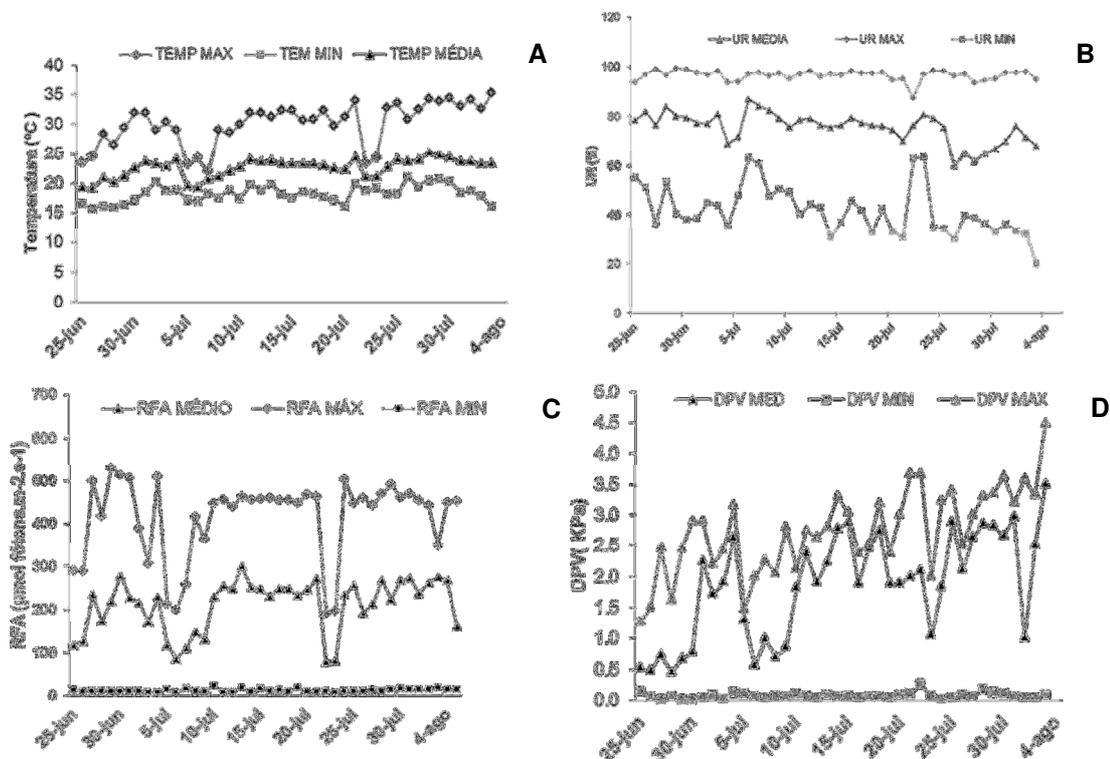


Figura 1: Temperatura (A), umidade relativa (UR) (B), radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (C) e déficit de pressão de vapor do ar (D) máximo, médio e mínimo diário dentro de casa de vegetação durante todo o período do experimento. Os pontos representam médias diárias (Junho a agosto de 2015, Campos dos Goytacazes- RJ).

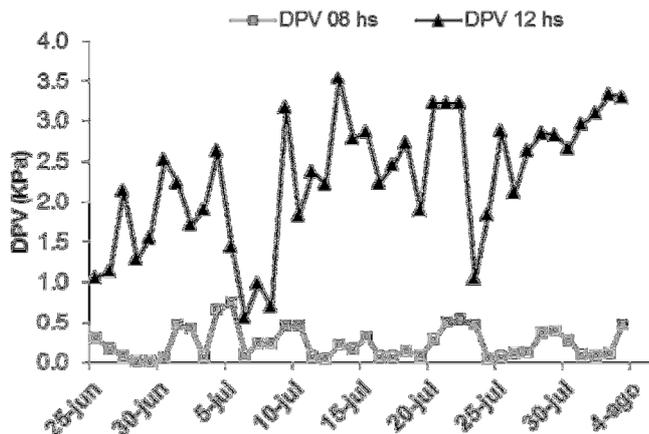


Figura 2: Déficit de pressão de vapor do ar (DPV_{ar}) às 8:00 e 12:00 horas dentro de casa de vegetação durante todo o período do experimento. (Junho a agosto de 2015, Campos dos Goytacazes- RJ).

Neste trabalho, foi possível observar que entre os cinco genótipos estudados, o NOD 4 (geneticamente modificado para ter um maior número de nódulos) apresentou uma média de aproximadamente 257 nódulos por plantas, quando inoculado com o inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Os demais genótipos, quando inoculados, apresentaram os valores de 35 nódulos (W 82), 43 nódulos (BRA 99) e 35 nódulos (BRA 133). O genótipo NOD 139 (modificado geneticamente para não nodular), mesmo quando inoculado, não apresentou nódulo na raiz após 37 dias (Tabela 1). As raízes de planta inoculadas apresentaram nódulos localizados na região do coleto. Enquanto ao peso dos nódulos, os tratamentos NOD4, BRS 133, W 82 e BRA 99 não apresentaram diferenças significativas entre si. Mesmo o NOD 4 tendo apresentado maior número de nódulos, as dimensões estruturais destes, foram inferiores aos nódulos formados nas raízes dos demais genótipos, o que justifica a semelhança estatística entre estas médias (exceto o NOD139).

Tabela 1: Média de número e peso de nódulos por plantas 37 DAS nos genótipos de plantas de soja (*G. max*) BRS 133; NOD 4; W 82; BRA 99; NOD 139 em condições inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

Genótipo	NOD 139	W 82	BRS 133	BRA 99	NOD 4
Número de Nódulos	0 b	37 b	35 b	44b	257 a
Massa seca dos nódulos (g)	0 b	0,07 ab	0,13 ab	0,07 ab	0,61 a

*médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ao teste de Tukey em 5% de probabilidade.

De acordo com Vargas et al., (1982), uma planta de soja com boa nodulação apresenta, em condições de campo, entre 15 a 30 nódulos. Portanto, a nodulação dos genótipos não modificados, exceto o NOD 139 e o NOD 4, apresentou uma nodulação adequada, o que mostrou uma eficiência do inoculante utilizado.

Em avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja, Souza et al., (2008) constataram que os dados das massas dos nódulos são adequados para avaliar o crescimento e o desempenho simbiótico da soja. Porém, no presente trabalho, o genótipo super nodulante (NOD 4) e os demais não apresentaram maiores incrementos em altura, quando comparados com os tratamentos sem inoculação aos 37 DAS. Uma observação a ser feita é que os genótipos BRA 99 e NOD 4 tiveram a maior e menor altura, respectivamente. O último genótipo, quando inoculado, teve uma altura reduzida em relação aos demais (Figura 3).

A grande quantidade de nódulos nas raízes da soja (NOD 4) pode ser um fator limitante para o crescimento em altura das plantas, já que o nódulo necessita de grande quantidade de fotoassimilados para manter o seu metabolismo. O excesso de nódulos pode funcionar como um dreno, fazendo

com que a planta direcione maior quantidade de carboidratos para manter os nódulos, investindo menos em crescimento da planta.

De acordo com Cassman (1980), para que haja fixação simbiótica de N pelas leguminosas, estas plantas requerem alterações na morfologia e fisiologia radiculares e os nódulos representam um dreno adicional para a fotossíntese, já que os nódulos competem com outros órgãos da planta por nutrientes minerais. Corroborando com os resultados encontrados, Takahashi et al., (2005) ao analisar um mutante de soja com a capacidade de nodular muito mais, não observaram incremento em crescimento quando comparado com o genótipo com nodulação considerada comum. Matsunami et al., (2004) estudando uma cultivar de soja super nodulante (Sakukei 4), caracterizada por apresentar maiores teores de N foliar e elevada taxa fotossintética, não apresentaram desempenho de crescimento superior quando comparado à sua cultivar parental normal com relação ao número de nódulos.

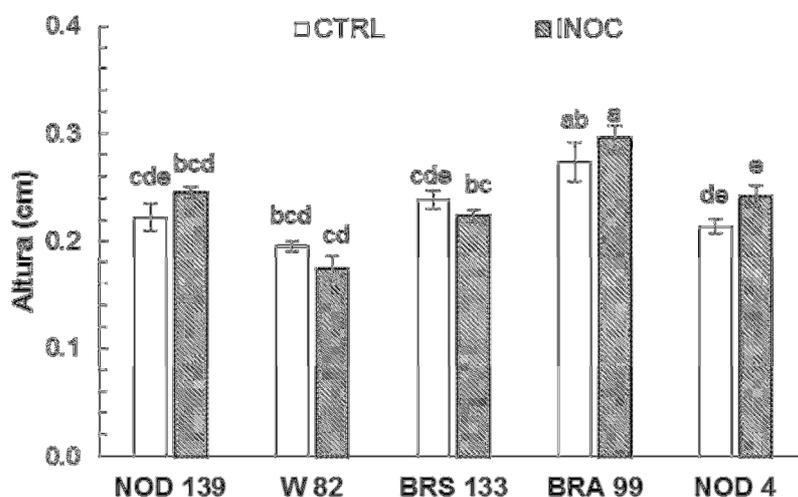


Figura 3: Altura das plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Ao avaliar o diâmetro do caule aos 37 DAS, observa-se que os tratamentos NOD 4 CTL e o W 82 CTL apresentaram maiores crescimentos em diâmetros, e nos demais tratamentos, a presença de nódulos não interferiu nesta variável (Figura 4).

Resultados semelhantes foram encontrados por Lírio et al. (2012), que estudaram o efeito da inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* sobre o crescimento de *Senna multijuga* e *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae). Neste estudo, a inoculação não favoreceu o crescimento em diâmetro nos tratamentos inoculados.

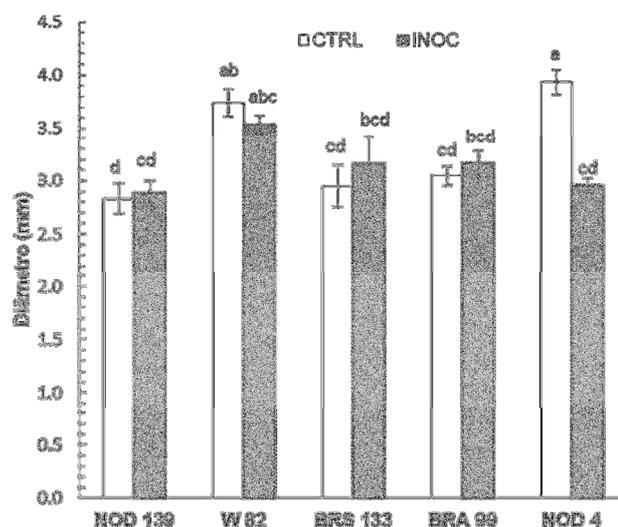


Figura 4: Diâmetro das plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A partir dos dados obtidos de massa seca, altura e diâmetro das plantas, foi calculado o Índice de qualidade de Dickson (IQD) (Figura 5). Não houve diferença significativa entre os tratamentos, e a inoculação com BFN não influenciou neste índice. O IQD é considerado uma medida integrada

promissora de caracteres morfológicos e é utilizado como um bom indicador de qualidade de plantas, pois calcula a distribuição de biomassa das partes da planta (Fonseca et al., 2002).

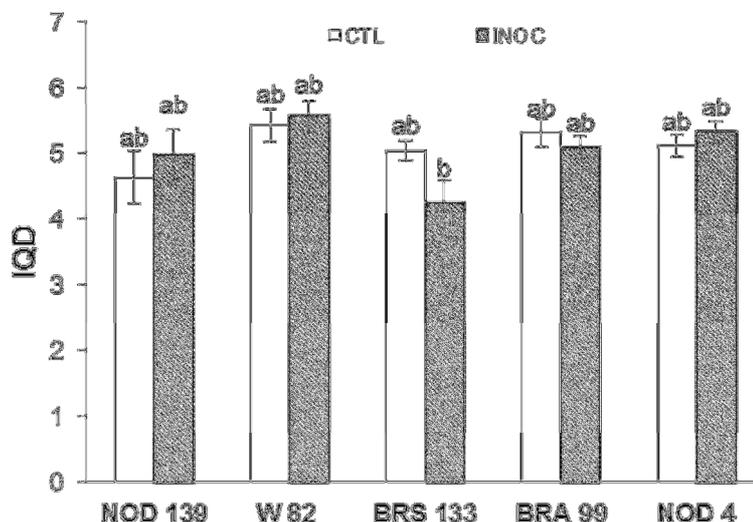


Figura 5: Índice de Qualidade de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Neste trabalho observou-se que em todos os genótipos, as plantas inoculadas apresentaram valores maiores para a intensidade de cor verde da folha (Leitura SPAD), exceto o NOD 139 (este genótipo foi modificado geneticamente para não produzir nódulos). Os tratamentos NOD 4 e W 82 inoculados destacaram-se como os maiores valores do índice SPAD (Figura 6). Esses resultados são explicados devido ao maior fornecimento de nitrogênio às plantas pelos microrganismos simbiotes presentes nos nódulos das plantas inoculadas. O nitrogênio é um dos principais componentes da molécula de clorofila (4 átomos por molécula). Quanto mais verde é a folha, maior quantidade de clorofila esta folha pode ter, e conseqüentemente, maior

potencial para se ter uma elevada capacidade fotossintética deste órgão (Fagan et al, 2007).

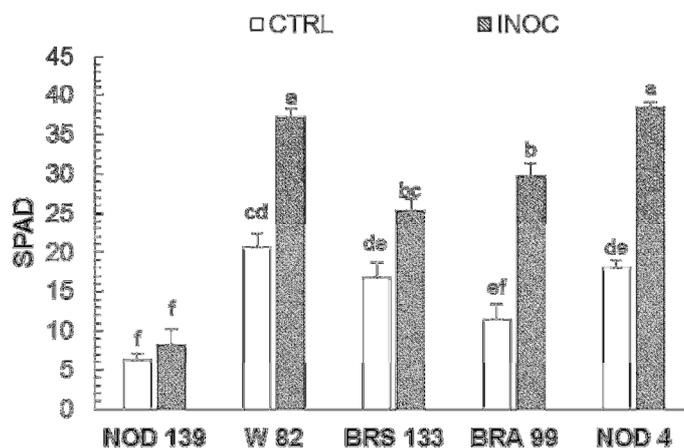


Figura 6: Média da Intensidade de verde das folhas (Índice SPAD) de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Até certo limite, a intensidade de cor verde é diretamente proporcional ao aumento da taxa fotossintética das plantas. O índice mostrado por este equipamento durante a medida tem uma correlação direta com o teor de clorofila e nitrogênio das folhas (Godoy et al., 2008, Torres Netto et al.,2005, Castro et al.,2014).

De acordo com Balasubramanian et al. (2000), como a coloração verde nas folhas está ligada à presença de nitrogênio, o SPAD pode ser uma ferramenta bastante útil no manejo nutricional das plantas, indicando a quantidade de N que deve ser aplicado.

Torres Netto et al. (2005) verificaram uma correlação entre valores de leitura de SPAD e a quantificação convencional de nitrogênio nas folhas de

café, observaram que existe uma correlação linear entre o aumento da leitura SPAD e a quantidade de nitrogênio (g m^{-2}). Os autores também observaram um aumento linear entre leitura SPAD e a relação das moléculas de clorofilas a e b, componentes dos cloroplastos, mostrando que este equipamento pode avaliar o aparato fotoquímico da planta de café.

Castro et al.,(2014) ao avaliarem os valores obtidos no medidor portátil de clorofila com as concentrações de clorofila total e a capacidade fotossintética em mamão (*Carica papaya* L.), observaram uma correlação linear e crescente entre a taxa fotossintética em dois genótipos de mamão (Golden e Solo) e as leituras de SPAD, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho para soja (Figura 7).

Com os dados obtidos, pode-se observar que houve uma relação positiva ($R^2=0,63$) entre a taxa fotossintética líquida avaliada às 08:00 horas e os valores do SPAD (Figura 7). Estes resultados estão de acordo com Nogueira et al., (2010), que obtiveram uma relação positiva entre o teor de clorofila foliar e a nodulação em soja. Estes autores verificaram que os maiores índices de clorofila se relacionaram positivamente com as taxas fotossintéticas das plantas. Neste trabalho, a maior presença de nódulos proporcionou maior teor de clorofilas nas folhas, o que contribui para a maior taxa fotossintética às 08:00 horas. Neste horário, os valores do DPV_{ar} foram inferiores a 0,5 kPa (Figura 2), o que pode mostrar reduzido efeito desta variável sobre a condutância estomática. Assim, a relação entre fotossíntese às 8:00 horas e o índice SPAD se tornou positiva.

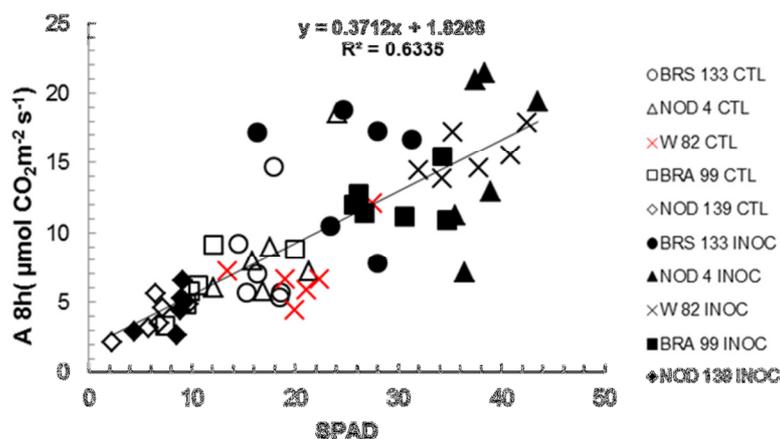


Figura 7: Relação de A e a Intensidade de verde das folhas (Índice SPAD) de plantas de soja (*G.max*) BRS 133; NOD 4; W 82; BRA 99; NOD 139 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

É possível observar que existe uma relação positiva entre os números de nódulos presentes nas raízes e a quantidade de N foliar (Figura 8 A). Nesta relação, o valor de N foliar aumenta até o valor de 100 nódulos, depois se estabiliza. Todas as plantas inoculadas apresentaram maiores valores de N (Figura 8 B), o que já era esperado, devido às ações das bactérias fixadoras de nitrogênio. Essa resposta explica o aumento das taxas fotossintéticas líquidas com o aumento do valor de SPAD (Figura 7).

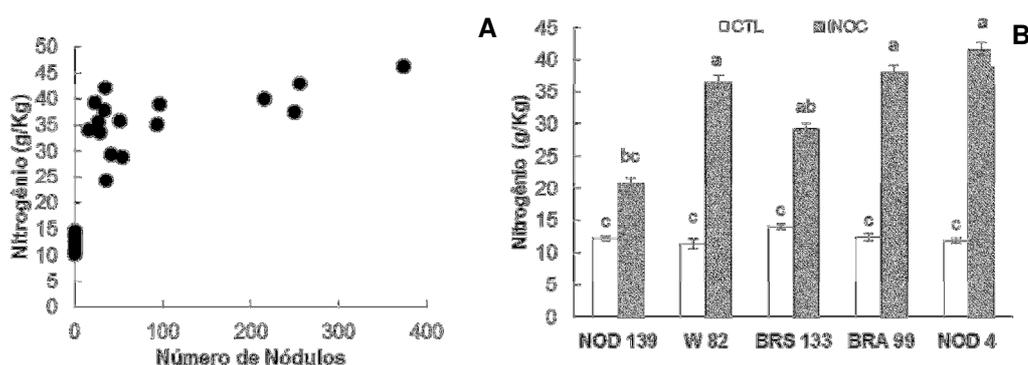


Figura 8: Relação entre o teor de N em folhas e número de nódulos em plantas inoculadas (A). Colunas representando médias constituídas por seis repetições de quantidade de N nas folhas (B) em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 37 DAS; em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade no teste t.

Observou-se que nos genótipos BRS 133, NOD 4, e W 82, tanto nas plantas inoculadas como nas plantas não inoculadas, os maiores valores de g_s foram às 08:00 horas ($g_{s8:00}$) (Figura 9). Contudo, esta resposta não foi verificada para o genótipo NOD 139, o qual apresentou uma resposta inversa, ou seja, houve um incremento na abertura estomática às 12:00 horas ($g_{s12:00}$) em relação às 08:00 horas. Para o genótipo BRA 99, apenas as plantas não inoculadas (controle) tiveram redução de 31% em $g_{s12:00}$, já as plantas inoculadas deste genótipo apresentaram um incremento no valor de g_s de 6%. Este resultado mostra que o fechamento estomático ao meio-dia é independente da presença de nódulos, e a diferença genotípica pode ser o principal fator de redução de g_s neste horário de maior demanda hídrica do ar (elevado DPV_{ar}). Isto é, alguns genótipos demonstraram maior sensibilidade à ação do DPV_{ar} sobre os estômatos. De fato, alguns autores têm mostrado a existência de diversos genótipos de plantas com grande variação intraespecífica relacionada à ação do DPV_{ar} sobre g_s (Fletcher et al., 2007; Kholova et al., 2010).

As reduções mais acentuadas de g_s nos genótipos BRS 133, NOD 4 e W 82 no horário de maior temperatura do ar (12:00 horas) podem ser benéficas na redução da perda de água em excesso para o ambiente, o que de acordo com Sinclair et al.,(2008), pode manter o solo mais úmido por um tempo maior e prolongar o crescimento da planta de soja durante a estação da seca, ou seja, reduzir o murchamento foliar.

A redução na condutância estomática promove um menor influxo de CO_2 para os cloroplastos, reduzindo as taxas fotossintéticas, o que pode contribuir para o menor acúmulo de biomassa (De lima, 2015).

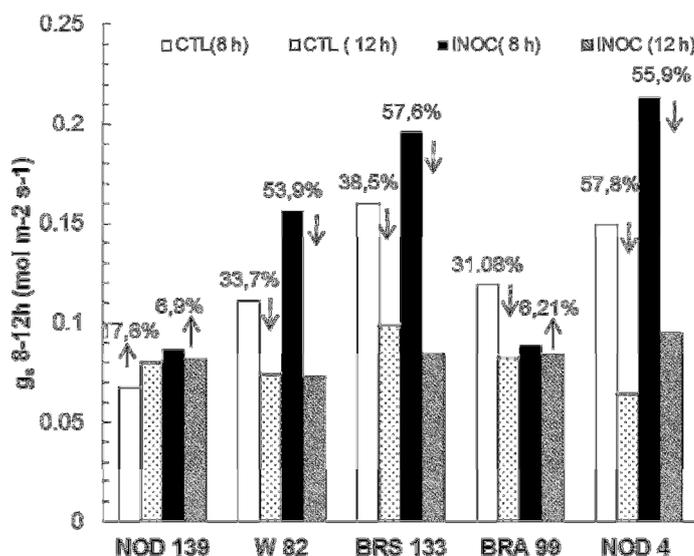


Figura 9: Comparação na condutância estomática calculada entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G.max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. aponicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam diminuição ou aumento de g_s.

Todos os genótipos inoculados apresentaram maiores valores de A às 8:00 horas ($A_{08:00}$), quando comparados aos tratamentos controle. Esse fato pode ser explicado devido ao gasto metabólico que a planta tem para suprir com esqueletos carbônicos as bactérias presentes nos nódulos (Fagan et al., 2007). Ainda, a presença dos nódulos contribui para maiores valores de SPAD e N, o que pode ter refletido em maior assimilação fotossintética do carbono (Figura 5), uma vez que não houve diferença significativa em g_s entre as plantas inoculadas e não inoculadas neste horário (Figura 8).

As altas taxas de $A_{08:00}$ não resultaram em ganho de biomassa nestas plantas (Figuras 3 e 4). Neste caso, uma quantidade de sacarose produzida no processo fotossintético pode ter sido drenada para a manutenção dos nódulos radiculares (Kaschuk et al. 2012). Desta forma, como foi preconizado neste presente trabalho, a grande quantidade de nódulos pode funcionar como órgãos drenos e, portanto, reduzir o crescimento e o desenvolvimento das plantas de soja no estágio inicial. De fato, durante o processo de fixação de

nitrogênio, há um alto gasto energético para a planta hospedeira de cerca de 16 ATPs para cada molécula de N_2 reduzida (Taiz e Zeiger, 2013). Contudo, Kaschuk et al (2012) relataram que embora os nódulos possam drenar cerca de 6 a 14% de fotoassimilados produzidos pela planta, este dreno praticamente não afeta a produtividade. Neste experimento, as avaliações foram encerradas antes das plantas atingirem o florescimento, e foi verificado que a presença dos nódulos elevou a taxa fotossintética líquida, mas não contribuiu para o incremento de massa seca total da planta, que será discutido posteriormente na Figura 17.

Às 12:00 horas, os valores de A foram menores em todos os genótipos quando comparados às 8:00 horas (Figura 10), exceto para o genótipo NOD 139 e o tratamento BRA 99 inoculado. A presença de nódulos nos demais genótipos como maior fonte de N não contribuiu para amenizar a queda das taxas de $g_{s12:00}$ (condição de elevado DPV_{ar}) (Figura 2). O efeito estomático negativo (redução de g_s) sobre $g_{s12:00}$ (Figura 9) foi bem maior do que o efeito não estomático positivo sobre A associado à maior concentração de clorofilas e N (Figura 6) nas plantas inoculadas. O genótipo W 82 teve maior queda fotossintética ao meio-dia (Figura 10). Esta resposta sugere que estratégias de manejo para otimizar a nodulação de soja nos genótipos BRS 133, NOD 4, W 82 e BRA 99, e conseqüentemente elevar o valor de N, clorofila e fotossíntese, somente são benéficas em condições de menor DPV_{ar} (8h). O genótipo NOD 139, modificado geneticamente para não nodular, mesmo com a presença das bactérias em torno da raiz, não produziu os drenos (nódulos), o que não resultou em incremento em A nas plantas inoculadas deste genótipo (Figura 10).

Para os genótipos BRS 133 e o W 82, quando comparado ao horário de 08:00 horas, a presença dos nódulos contribuiu para a maior redução de g_s e A às 12:00 horas (Figuras 9 e 10). As reduções acentuadas em g_s nestes dois genótipos ocasionaram em reduções em $A_{12:00}$ quando comparado a $A_{08:00}$. Este fato evidencia que, para estes dois genótipos, a presença de nódulos na raiz pode ser uma fonte de resistência ao movimento de água para a parte aérea, e assim comprometer g_s e diretamente afetar, de maneira negativa, a assimilação fotossintética do carbono (Figura 10). Nestes genótipos BRS 133 e W 82, mesmo a presença dos nódulos, otimizando a disponibilidade de N e

elevando a concentração de clorofila nas folhas, não foi suficiente para elevar os valores de $A_{12:00}$, quando comparados com os valores de $A_{8:00}$.

Os maiores efeitos em g_s do que em transpiração (E), às 12:00 ($E_{12:00}$) comparados aos valores obtidos às 08:00 horas ($E_{8:00}$), podem ser observados separadamente nas Figuras 9 e 11. Isto mostra que existe uma variabilidade genotípica relacionada à resistência ao movimento de água na raiz devido à presença de nódulos. De fato, a presença dos nódulos nestes genótipos BRS 133 e W 82, causou uma redução de 56% em assimilação de CO_2 às 12:00 horas em ambos os genótipos. Os demais decréscimos foram 42% (NOD 4) e 33% (BRA 99). O genótipo NOD 4 apresentou um decréscimo de 56% e 42% em g_s e A , respectivamente, às 12:00 comparado a 08:00 horas. Uma vez que este genótipo teve maior valor de N (Figura 8B), mostrado pelos maiores valores do índice SPAD (Figura 6), este fato pode explicar a menor redução em A . Os maiores valores destas variáveis A e índice SPAD compensaram as reduções em g_s ao meio-dia, causados pelos elevados valores de DPV_{ar} .

As taxas fotossintéticas encontradas neste trabalho foram inferiores às taxas encontradas por Bulegon (2016), que encontraram taxa $22 \mu\text{mol } CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em plantas de soja inoculadas com *B. japonicum* aos 29 dias e por Kaschuk et al., (2009), em que a inoculação com *Bradyrhizobium* resultou em taxa fotossintética entre 28 a $35 \mu\text{mol } \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A diferença de idade e a diferença genotípica, bem como as condições de cultivo podem explicar os resultados discrepantes entre os genótipos estudados neste presente trabalho e os genótipos dos autores supracitados.

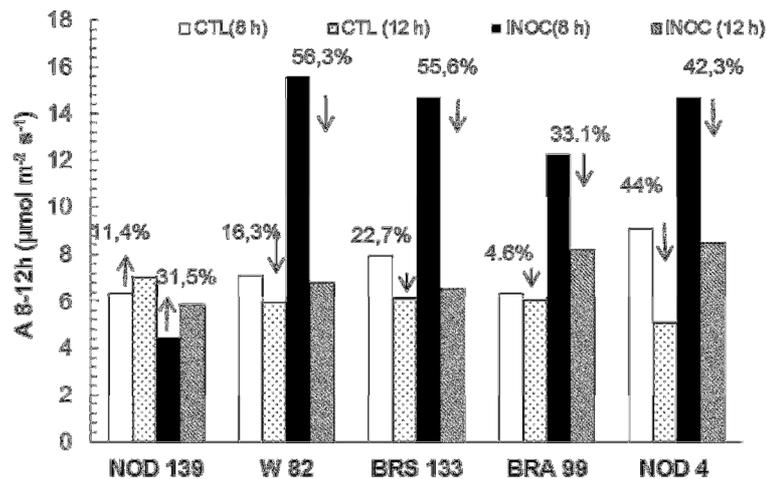


Figura 10: Comparação da taxa fotossintética calculada entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de *A*.

Ao meio-dia, quando comparadas com as 08:00 horas, e em todos os tratamentos, houve um aumento na taxa de transpiração (E) (Figura 11). Embora os valores de g_s tenham diminuído às 12:00 horas ($E_{12:00}$) o DPV_{ar} foi maior neste horário (Figura 3). Segundo Long e Hallgren, 1993, a transpiração é diretamente relacionada com g_s e com o $DPV_{folha-ar}$; $E = g_s \times (DPV_{folha-ar})$. Os valores de $DPV_{folha-ar}$ às 12:00 horas aumentaram em maior escala do que a diminuição de g_s , o que causou maiores valores de E , mesmo com valores mais baixos de g_s . A variável DPV_{ar} aumentou mais que a redução no valor de g_s , mantendo E elevado. Os maiores valores de $DPV_{folha-ar}$ ao meio-dia foram causados pelos maiores valores de DPV_{ar} . De fato, $E_{12:00}$ foi muito elevado quando comparado a $E_{8:00}$. De uma maneira geral, as plantas com nódulos (BRS 133, NOD 4, W 82 e BRA 99) transpiraram em maior intensidade do que as plantas sem a presença de nódulos.

De acordo com Vadez et al. (2014), genótipos de diversas espécies modificados geneticamente, possuem os atributos para restringir a transpiração no momento de maior DPV do ar, possibilitando um aumento de biomassa. Obviamente, a restrição da transpiração em condições de DPV elevadas também aumentaria a temperatura da folha e, portanto, a planta seria

parcialmente compensada pela redução da perda de água para o ambiente. Segundo Fletcher et al., (2007), durante os últimos cinco anos, já foram identificadas muitas variedades genéticas com capacidade de restringir a transpiração em condições de alto DPV_{ar} .

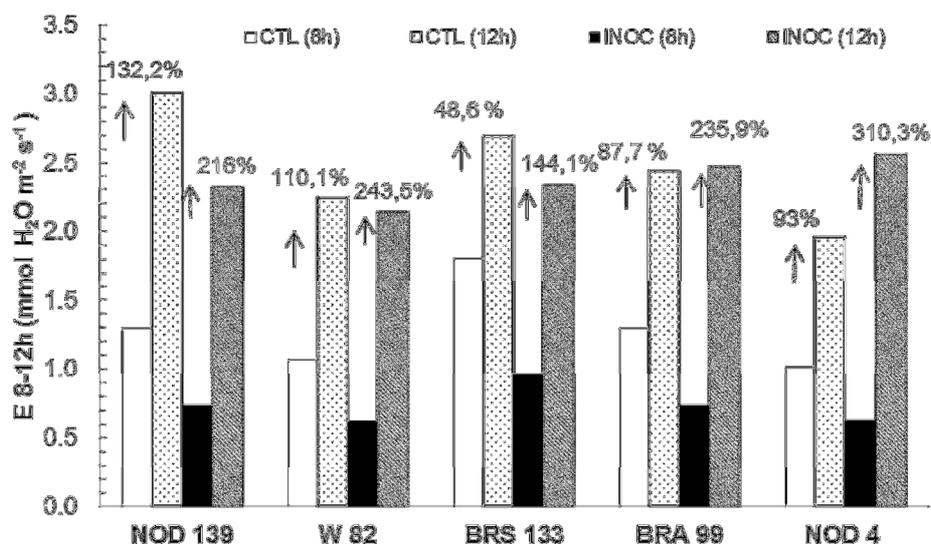


Figura 11: Comparação das taxas transpiratórias calculadas entre os horários de 8 e 12 horas em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkani*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de E .

A presença dos nódulos nos genótipos BRS 133 e W 82 afeta negativamente g_s (Figura 9), e esta variável compromete em maior extensão as taxas fotossintéticas nestes dois genótipos (Figura 10) do que a transpiração (Figura 11). De fato, ao avaliar a eficiência do uso da água (EUA) e a Eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) nos genótipos de soja, quando se tem uma diminuição nos valores de g_s e E (Figura 12 A e B), a redução de A é maior em função de g_s (Figura 12 A) do que em função de E . Ou seja, quando se tem o fechamento estomático A reduz em maior intensidade do que E , e esta redução variou entre os genótipos estudados. De acordo com El-Sharkawy et al. (1985),

a redução em g_s pode reduzir a perda de água das folhas e ocasionar a elevação na eficiência do uso da água.

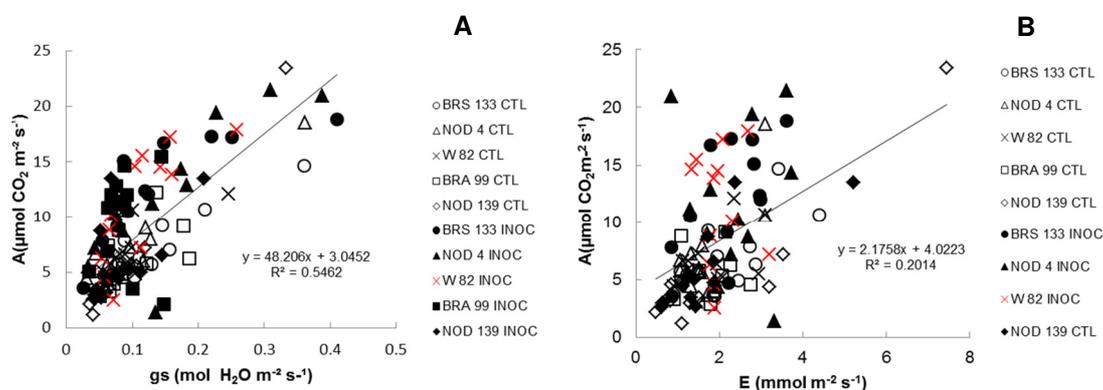


Figura 12: Relação entre A versus g_s e A versus E em plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B.elkani* Foram avaliadas as trocas gasosas às 8:00 e 12:00 horas.

Os estômatos nas folhas dos genótipos BRS 133, NOD 4 e W 82 foram mais sensíveis à ação do DPV_{ar} no horário de maior temperatura do ar (maiores reduções dos valores de $g_{s12:00}$ comparado aos valores obtidos de $g_{s08:00}$) (Figura 9), e esta sensibilidade refletiu em maior intensidade nos valores de ψ_L do genótipo NOD 4 (Figura 13). O genótipo NOD 4 INOC, que possui maior número de nódulos teve um valor mais negativo de ψ_L (-1,2 MPa) (Figura 13). Para este genótipo, o maior número de nódulos afetou o ψ_L . Entretanto, para os genótipos BRS 133 e W 82, embora tenham apresentado sensibilidade de g_s à ação do DPV_{ar} , esta modificação em g_s não causou alteração nos valores de ψ_L nas plantas inoculadas. Este resultado mostra uma diferença genotípica em resposta do ψ_L à ação do DPV_{ar} ao meio-dia.

As diferenças genotípicas estão associadas aos efeitos do DPV_{ar} sobre g_s . No caso dos genótipos BRS 133 e W 82, o maior fechamento estomático ao meio-dia evitou que a folha apresentasse valores muito negativos de ψ_L . No caso do genótipo NOD 4, foi observada uma maior tensão de água nos vasos do xilema das folhas. De fato, existe uma variabilidade inter e intraespecífica relacionada às respostas entre g_s e ψ_L (Limpus, 2009). No caso do genótipo

NOD 4, um maior número de nódulos é um fator que pode interferir na ação de g_s sobre o ψ_L . Torna-se importante relatar que este genótipo, mesmo sem a presença de nódulos, apresentou uma redução significativa dos valores de $g_{s12:00}$ (Figura 8), e o ψ_L neste horário foi semelhante aos demais genótipos (Figura 13).

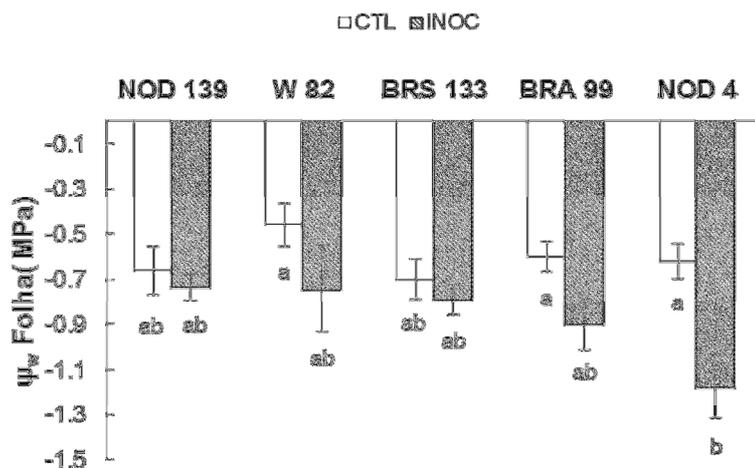


Figura 13: Potencial hídrico de folhas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 em condições não inoculadas e inoculadas com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkani*. avaliadas às 12:00 horas aos 37 DAS. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

De uma maneira geral, a porcentagem de fotoinibição (relação entre os valores de F_v/F_m) (rendimento quântico máximo do PSII às 12:00 horas quando comparada aos valores de F_v/F_m às 08:00 horas) variou entre 2,6 a 13% (Figura 14). Embora a literatura não apresente um valor crítico para esta diminuição, acredita-se que 13% possa ser caracterizado como uma fotoinibição dinâmica (Campostini, 2001).

Com exceção do genótipo W 82, a presença de nódulos nas raízes diminuiu o efeito fotoinibitório, principalmente nos genótipos NOD 4 e BRA 99, embora estes genótipos tenham reduzido, em maior intensidade, os valores de g_s ao meio-dia.

As maiores reduções em g_s ao meio-dia podem causar uma maior taxa de fotoinibição, pois, sob esta condição, pode ocorrer menor disponibilidade de CO_2 para os sítios de carboxilação da Rubisco. Com menor disponibilidade de CO_2 concomitantemente com maior radiação fotossintética ativa (RFA) às 12:00 horas, espera-se uma maior excitação das moléculas de clorofila, principalmente nos genótipos inoculados. Esta maior excitação das moléculas de clorofila, sem o consumo de NADPH pelo ciclo de Calvin (velocidade reduzida pela redução no consumo de CO_2 limitado por $g_{s12:00}$) poderia refletir em um maior dano ao PSII, o qual seria evidenciado nos valores de F_v/F_m . Contudo, este fato não foi observado. Mesmo com a redução acentuada nos valores de A ao meio-dia (Figura 10), tal fenômeno supracitado não aconteceu.

O PI é uma variável mais completa do que F_v/F_m , pois esta variável é formada por 3 componentes [captura (RC/ABS), capacidade de redução de Qa (F_v/F_0) e transporte de elétrons a partir de Qa reduzida (ET/TR-ET)] (Strasser et al., (2000; 2004). Os valores de PI indicaram que a presença de nódulos não potencializou o efeito fotoinibitório nos genótipos estudados (Figura 15).

Embora as folhas das plantas não inoculadas tenham ficado mais amarelas (reduzidos valores do índice SPAD, exceto o genótipo NOD 139, o qual apresentou menor índice SPAD nos dois tratamentos INOC e CTRL- Figura 4), a redução na concentração de clorofilas não causou redução nos valores da relação F_v/F_m (dados não mostrados). Contudo, esta redução na concentração de clorofila foliar associada a reduzidos índices SPAD nos tratamentos controle, causou uma significativa redução em PI (Figura 15). Neste caso, exceto para o genótipo NOD 139, a variável PI se mostrou mais sensível aos efeitos da redução na concentração de clorofilas sobre a fase fotoquímica da fotossíntese. Neste caso, como mostrado por Strasser et al (2000, 2004), esta variável PI pode ser mais completa, e desta forma ser mais indicadora da eficiência da fase fotoquímica da fotossíntese nos genótipos estudados.

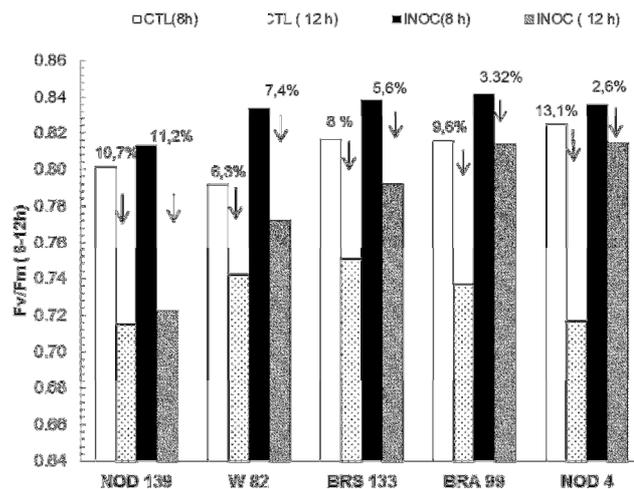


Figura 14: Comparação das taxas de F_v/F_m calculadas entre os horários de 8 e 12:00 horas em plantas de soja (*G.max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. As setas indicam a redução de F_v/F_m .

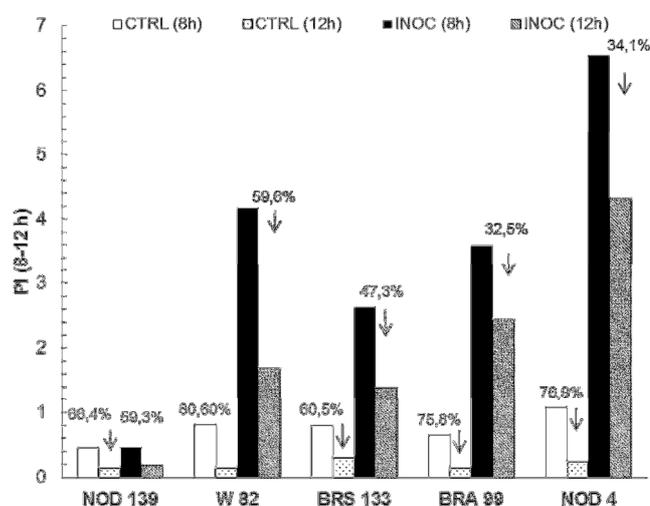


Figura 15: Comparação do Índice fotossintético (PI) calculado entre os horários de 8 e 12 horas nos genótipos de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTRL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. As setas indicam redução ou aumento de PI.

Uma vez que a transpiração foi pouco afetada pelas alterações na condutância estomática, pois a saída da molécula de água do mesófilo se manteve elevada mesmo havendo fechamento estomático, em função do elevado valor do DPV_{ar} , não foi verificada diferenças estatísticas entre as variáveis índice térmico de condutância estomática (Ig) e índice de estresse hídrico (CWSI) (Figura 16 A e B). Estes índices têm como base a temperatura da folha, e esta temperatura é dependente da transpiração. Quanto maior a transpiração menor a temperatura foliar. Como o valor da transpiração foliar foi igual para todos os genótipos, esta uniformidade da perda de água pelas folhas refletiu em nenhuma alteração nos índices calculados.

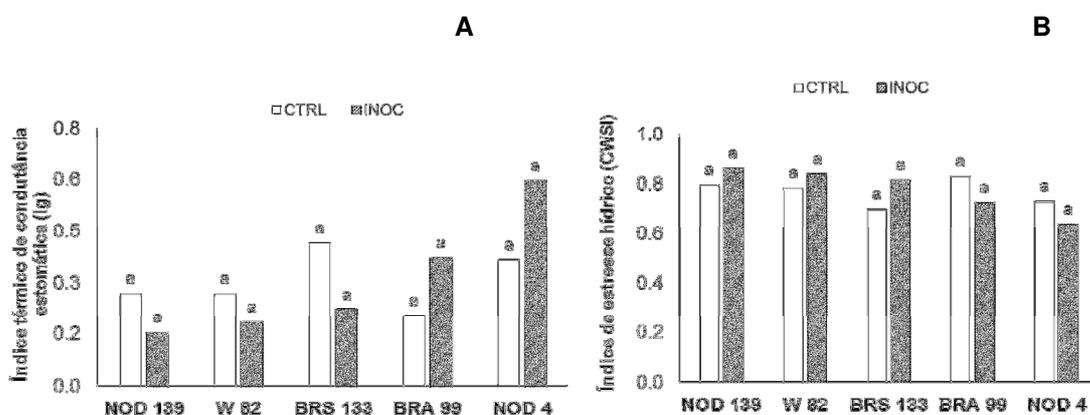


Figura 16: Índice Térmico da Condutância Estomática (Ig) (A). Índice de Estresse Hídrico (CWSI) (B). As avaliações foram realizadas às 12:00 horas em folhas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkani* mensuradas aos 37 DAS. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade.

A figura 17 ilustra a distribuição da massa seca em folhas, caules e raiz dos genótipos estudados. O genótipo geneticamente modificado para super nodulação (NOD 4), em função do maior número de nódulos (257 nódulos), teve uma diminuição nos valores da massa seca de folhas, caule e raiz, assim como uma menor altura de plantas e diâmetro do caule (Figuras 3 e 4).

Estes resultados podem mostrar que o investimento da planta de soja em grande número de nódulos pode não ser benéfico para a produção de massa seca, o que pode especular que a elevação no número de nódulo pode não ter um efeito significativo na produtividade final. Todavia, para o genótipo BRS 133 inoculado, que apresentou um decréscimo de 56% em A, a presença do nódulo contribuiu para uma significativa produção de biomassa seca. Em NOD 139, a presença do simbionte, mesmo sem a formação do nódulo, propiciou uma maior produção de massa seca total (Figura 17). O acréscimo de $A_{12:00}$ pode explicar esse possível ganho em biomassa seca neste genótipo (Figura 10).

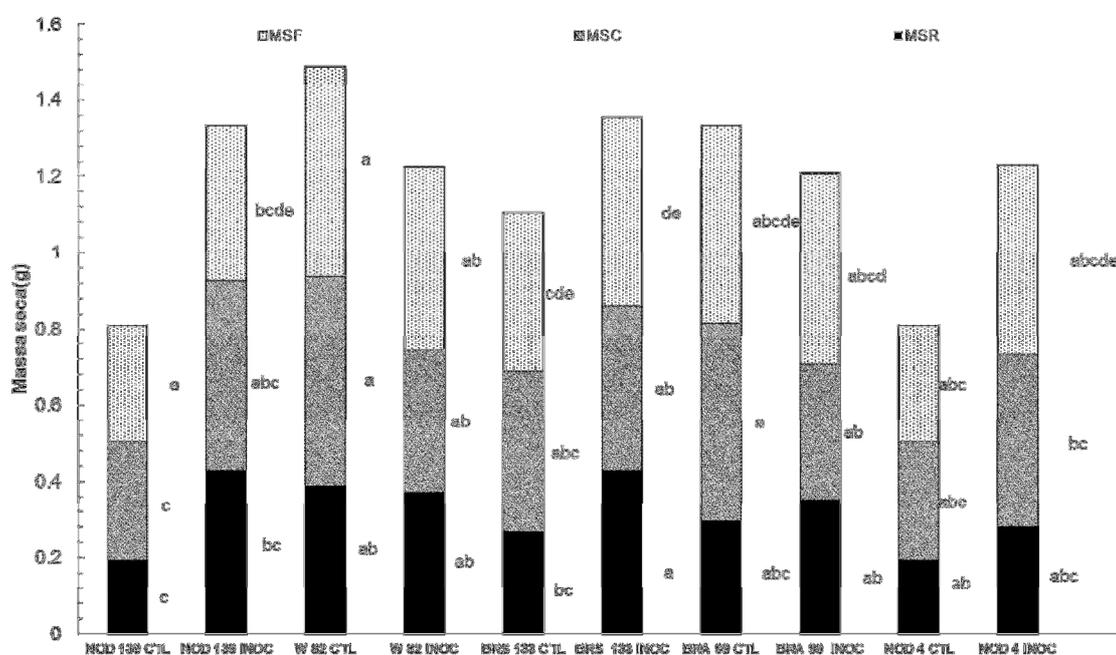


Figura 17: Massa seca das folhas, do caule e da raiz (g planta^{-1}) composta por 6 repetições de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82 BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B.japonicum* e *B.elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significadamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

O tratamento BRA 133 INOC e o BRA 99 INOC apresentaram os maiores valores para área foliar quando comparados com o respectivo controle (Figura 22). Os demais tratamentos não diferiram significativamente entre si

(INOC e CTL). Este resultado sugere que, para estes genótipos, a presença do nódulo favoreceu o aumento na área foliar. Porém, quando se tem uma grande quantidade de nódulos (NOD4 INOC), ocorreu o efeito contrário, ou seja, um menor valor da área foliar no tratamento inoculado.

Corroborando com este trabalho, Matsunami et al., (2004), ao estudar as características de crescimento em dois genótipos de soja, observaram que as plantas com maior capacidade nodular apresentaram, quando comparadas com as plantas com menor capacidade nodular, os menores valores de área foliar e altura. Os autores sugerem que o crescimento inferior do genótipo super nodulante é provavelmente devido à grande utilização de fotoassimilados para formação dos nódulos, e à baixa capacidade de expansão foliar, o que pode limitar a produção de matéria seca da planta inteira.

Brandelero et al.,(2009), avaliando a interação da nodulação e dos componentes morfofisiológicos em plantas de soja inoculadas com bactéria do gênero *Bradyrhizobium*, não obtiveram diferença de massa da matéria seca das folhas entre os tratamentos. Araújo e Hungria (1999), estudando a nodulação e o rendimento de soja coinfestada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*, não observaram diferença em massa seca da parte aérea entre os tratamentos. Essas informações mostram a variabilidade nas informações relacionadas à ação dos nódulos atuando como drenos na partição de fotoassimilados na planta de soja.

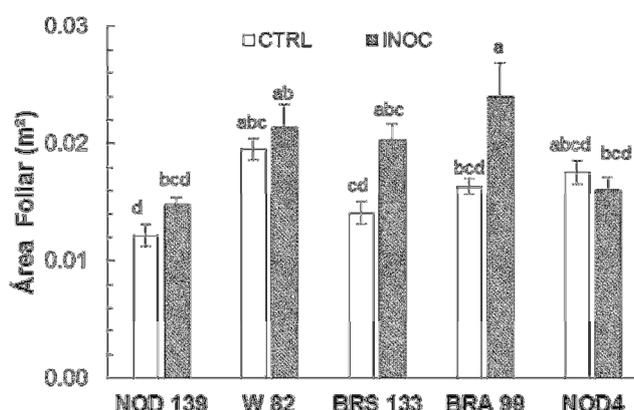


Figura 18: Área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*. Cada coluna corresponde à média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Bulegon et al., (2016), analisando plantas de soja inoculadas com bactérias diazotróficas, no período vegetativo, observaram que aos 29 dias, as plantas inoculadas não apresentaram incremento em área foliar. Brandelero et al. (2009), testando nove cultivares de soja inoculadas via semente com bactéria do gênero *Bradyrhizobium*, no período de florescimento, observaram incremento em área foliar de alguns genótipos, no qual os autores explicam ser uma característica genética específica do genótipo que se destacou dos demais.

A presença de nódulos nos genótipos BRS 133, W 82 e BRA 99, promoveu uma queda mais acentuada de $A_{12:00}$. (Figura 10). Esta diminuição em A para os genótipos BRS 133 e W 82, foi devido ao maior fechamento estomático neste horário (Figura 9), enquanto que para o genótipo BRA 99, outros fatores atuaram, excluindo os efeitos estomáticos e fotoquímicos (Figura 14).

Esta resposta pode estar associada a uma maior condutância hidráulica e condutividade hidráulica do genótipo BRA 99 (Figuras 19,20 e 21 e Tabelas 2,3 e 4). Sendo assim, outros fatores intrínsecos relacionados ao genótipo podem ter atuado na redução de $A_{12:00}$. Ainda, neste genótipo, bem como no genótipo BRS 133, a diminuição na taxa fotossintética líquida não foi associada à redução na área foliar (Figura 18).

No genótipo que super nodula (NOD 4), a porcentagem de redução de A às 12:00 em relação às 08:00 horas, foi semelhante entre os tratamentos INOC e CTRL (Figura 10)

À medida que se aumenta a pressão em torno do sistema radicular, ocorre um aumento na quantidade de água que sai do caule (Figueiredo et al., 2014). Neste trabalho foi observado aumentos crescentes e lineares no extravasamento da seiva xilemática na medida em que se aumentava a pressão aplicada sob as raízes em todos os genótipos. A condutância hidráulica da raiz foi significativa entre os tratamentos, e o genótipo BRA 99 (INOC e CTRL) apresentou os maiores valores para esta variável, seguido pelo NOD 139 INOC e W 82 INOC (Figura 19, Tabela 2).

A condutividade hidráulica da raiz é um componente da condutividade hidráulica das plantas, e o valor dado para esta variável, pode indicar a capacidade da água chegar até o caule e ramos. Neste trabalho, a condutância

hidráulica (Figura 19, Tabela 2) foi normalizada por volume de raiz, massa seca de raiz e área foliar (Becker et al., 1999). Para todas estas variáveis, os genótipos BRS 133 e W 82 seguidos pelos genótipos NOD 4, NOD 139 e BRA 99 sucessivamente, apresentaram os maiores valores quando normalizada por volume e massa seca de raiz, (Figura 20 e 21, Tabela 3 e 4).

As reduções de $A_{12:00}$, em associação com g_s , não foram relacionadas à resistência hidráulica causada pela presença de nódulos como relatado na hipótese deste trabalho. Inclusive, o genótipo NOD 4 quando inoculado (257 nódulos planta⁻¹) não apresentou maiores resistências ao movimento de água (Figuras 19,20,21 e 22 Tabelas 2, 3, 4 e 5).

A condutividade hidráulica normalizada pela área foliar (Figura 22, Tabela 5) apresentou maiores valores para o BRA 99 INOC, porém, este resultado não pode ser associado a uma maior área foliar para o tratamento supracitado, já que estatisticamente não houve diferença entre BRS133 e W 82 (ambos inoculados) (Figura 18). A normalização de condutividade hidráulica por área foliar, de acordo com Becker et al.,(1999) é discutível por diversos pesquisadores, pois, de acordo com os autores, existe uma incoerência quando se considera a capacidade do sistema radicular em manter o status hídrico das folhas, sem, entretanto, considerar a condutância absoluta dos demais tecidos que compõem a parte aérea das plantas.

Em uma análise geral sobre a influência dos nódulos na condutividade hidráulica da raiz normalizados por área foliar (Figura 23, Tabela 6), observa-se que os resultados apresentaram valores de condutividade hidráulica semelhantes, descartando a hipótese de que os nódulos causariam a resistência hidráulica na raiz.

Ehlert et al. (2009) em um estudo em que a condutividade hidráulica das raízes foi diminuída com tratamento com inibidores da aquaporina, estes autores observaram que não houve resposta de redução da condutância estomática sob um baixo DPV. Contudo, os estômatos fecharam sob um elevado DPV. Neste trabalho, foi observado que não houve restrição na condutividade hidráulica das raízes, porém, quase todos os tratamentos (exceto BRA 99 INOC e NOD 139 INOC e CTRL) se mostraram sensíveis ao fechamento estomático às 12 horas, horário de maior DPV, mas, essa resposta de redução de g_s não foi relacionada à restrição de água pelas raízes

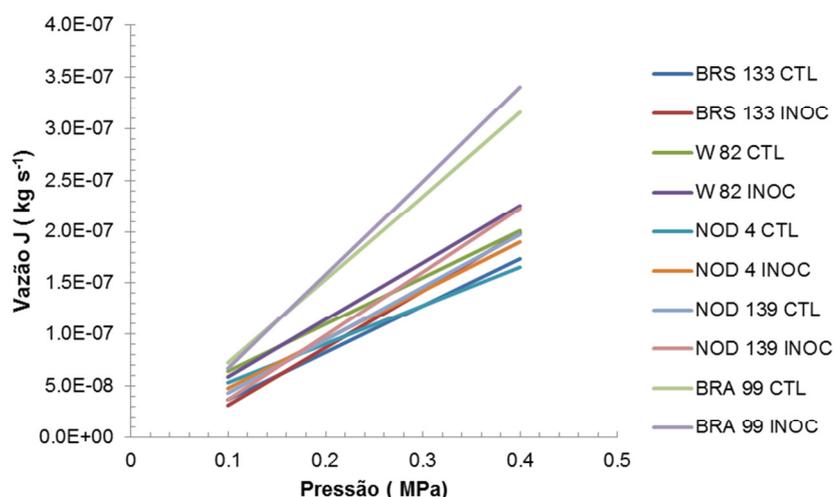


Figura 19: Condutância hidráulica da raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

Tabela 2. Equações lineares da condutância hidráulica da raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressas por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.

Tratamento	Vazão (Kg.s ⁻¹)	R ² = 0.6222*
BRA 99 INOC	Y= 9,13544E-07X - 2,47E-08	
BRA 99 CTL	Y= 8,10147E-07X - 8,46E-09	
NOD 139 INOC	Y= 4,76351E-07X + 1,61E-08	
W82 INOC	Y= 5,59064E-07X + 2,41E-09	
BRS 133 INOC	Y= 5,59064E-07X - 2,47E-08	
NOD 139 INOC	Y= 5,15022E-07x - 2,47E-08	
W 82 CTL	Y= 4,55667E-07X + 1,87E-08	
NOD 4 INOC	Y= 4,76351E-07X - 2,29E-10	
BRS 133 CTL	Y= 4,55667E-07X - 8,46E-09	
NOD 4 CTL	Y= 3,72954E-07X + 1,61E-08	

*Como as equações são distintas e oriundas de um resultado estatístico (teste f), o R² assume um valor único e menos relevante

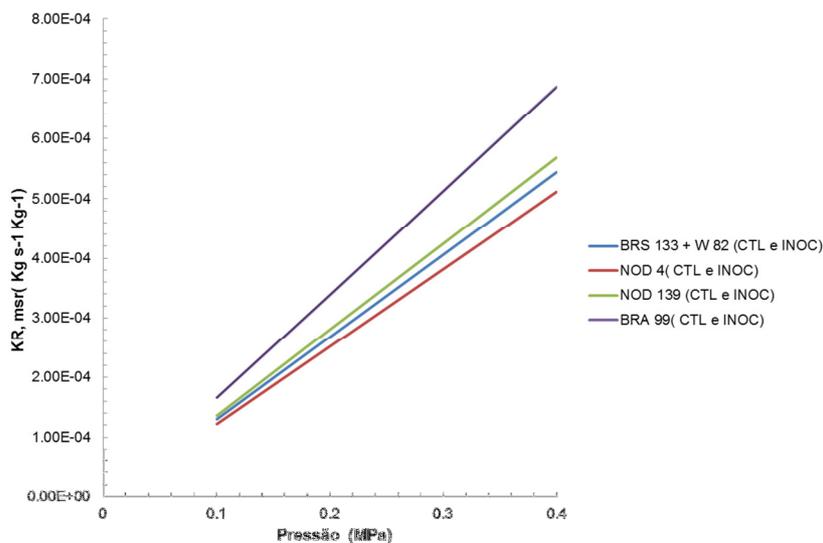


FIGURA 20: Condutividade hidráulica normalizada por massa seca de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

Tabela 3: Equações lineares da Condutividade hidráulica normalizada por massa seca de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressas por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.

Tratamento	Kr, msr (kg. s ⁻¹ Kg ⁻¹)	R ² = 0.6273*
BRS133 + W82 (CTL e INOC)	Y= 1,38E-03X - 7,63E-06	
NOD4 (CTL e INOC)	Y= 1,30E-03X - 7,63E-06	
NOD139 (CTL e INOC)	Y= 1,44E-03X - 7,63E-06	
BRA99 (CTL e INOC)	Y= 1,73E-03X - 7,63E-06	

*Como as equações são distintas e oriundas de um resultado estatístico (teste f), o R² assume um valor único e menos relevante.

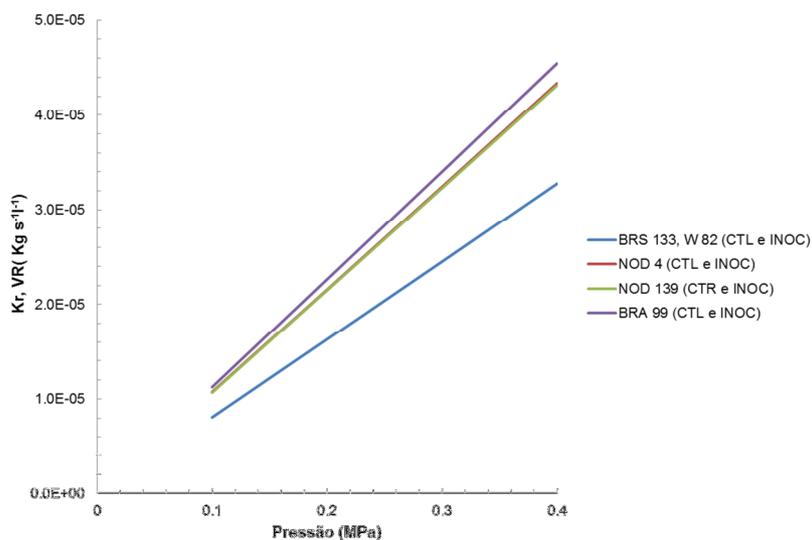


Figura 21: Condutividade hidráulica normalizada por volume de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*.

Tabela 4: Equações lineares da Condutividade hidráulica normalizada por volume de raiz de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressas por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.

Tratamento	K_r, V_r ($\text{Kg}\cdot\text{s}^{-1}\text{l}^{-1}$)	$R^2 = 0.6229^*$
BRS133 + W82 (CTL e INOC)	$Y = 8,23\text{E-}05X - 1,13479\text{E-}07$	
NOD4 (CTL e INOC)	$Y = 1,09\text{E-}04X - 1,13479\text{E-}07$	
BRA99 (CTL e INOC)	$Y = 1,14\text{E-}04X - 1,13479\text{E-}07$	
NOD139 (CTL e INOC)	$Y = 1,08\text{E-}04X - 1,13479\text{E-}07$	

*Como as equações são distintas e oriundas de um resultado estatístico (teste f), o R^2 assume um valor único e menos relevante.

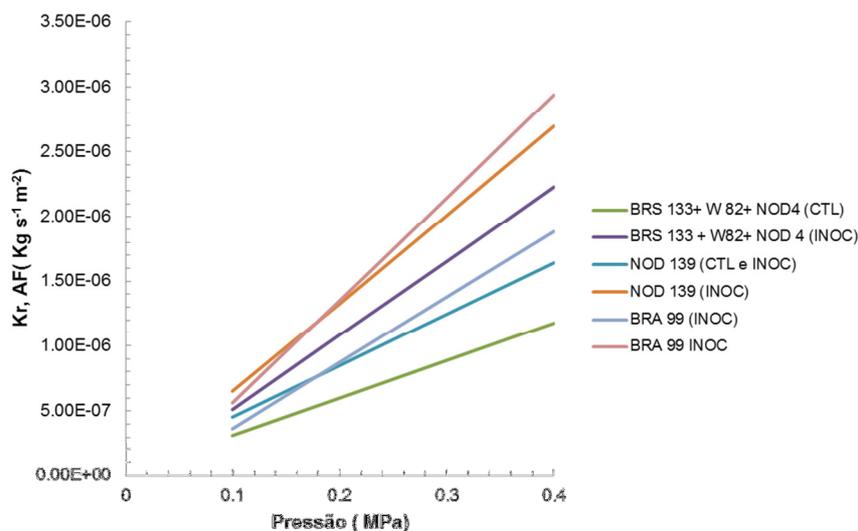


Figura 22: Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*,

Tabela 5: Equações lineares da Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressas por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas

Tratamento	Kr, AF (Kg.s ⁻¹ m ⁻²)	R ² = 0,7556*
BRA 99 INOC	Y= 7,91015E-06X - 2,2752E-07	
NOD 139 INOC	Y= 6,81335E-06X - 3,1907E-08	
BRS133+W82+NOD 4 (INOC)	Y= 5,72056E-06X - 6,1126E-08	
BRA 99 CTL	Y= 5,04987E-06X - 1,3717E-07	
NOD 139 CTL	Y= 3,95307E-06X+ 5,84382E-08	
BRS133+W82+NOD 4 (CTL)	Y= 2.86028E-06X + 2.92191E-08	

*Como as equações são distintas e oriundas de um resultado estatístico (teste f), o R² assume um valor único e menos relevante.

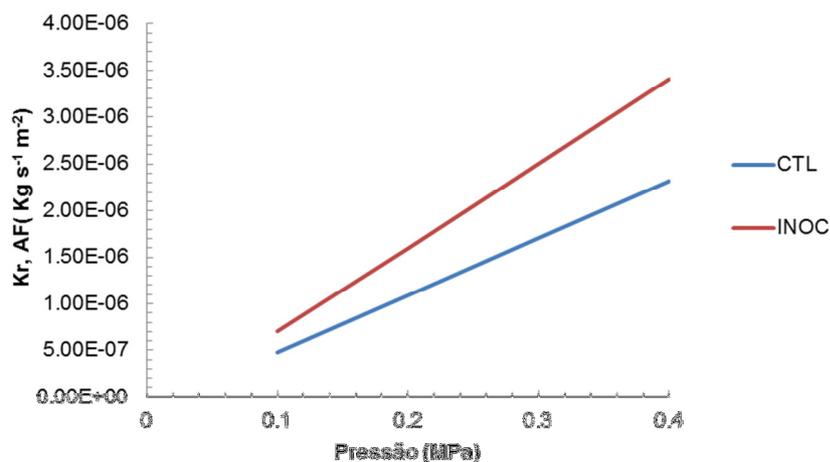


Figura 23: Condutividade hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*,

Tabela 6: Equações lineares representativas dos tratamentos Inoculados e Controle (não inoculados) da Condutividade Hidráulica normalizada por área foliar de plantas de soja (*G. max*) NOD 139; W 82; BRS 133; BRA 99 e NOD 4 aos 37 DAS em condições não inoculadas (CTL) e inoculadas (INOC) com inoculante turfoso a base de estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, expressas por equações lineares oriundas de regressões lineares simples e múltiplas.

Tratamento	Kr, AF (Kg.s ⁻¹ m ⁻²)	R ² = 0,7556*
Inoculação	Y= 2.86E-06X - 9.03E- 08	
Controle	Y= 2.86E-06X + 2.92E-08	

*Como as equações são distintas e oriundas de um resultado estatístico (teste f), o R² assume um valor único e menos relevante.

A característica anatômica do xilema e da raiz pode interferir na condutância/condutividade hidráulica das plantas (Tyree e Zimmermann, 2002; Solari et al., 2006). O diâmetro e o comprimento dos vasos condutores do xilema influenciam a resistência do fluxo de água neste sistema (McElrone et al., 2004). Logo, as características específicas da anatomia dos vasos

xilemáticos e das raízes de cada genótipo estudado, podem explicar os diferentes resultados obtidos, já que o número de nódulos não funcionou como barreira na passagem de água pela planta.

Aos 37 DAS, as raízes das plantas inoculadas apresentaram nódulos na região do coleto. Sabe-se que a zona responsável pela absorção de água pelas raízes é a zona pilosa ou de absorção, que possui os pelos radiculares absorventes (Taiz e Zeigar, 2013). Este resultado também pode responder a não interferência dos nódulos na condutância e condutividade hidráulica das raízes dos genótipos de soja estudados.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Durante 37 dias, foram mantidas em casa de vegetação cinco diferentes genótipos de soja, entre eles um com capacidade de produzir muitos nódulos (NOD 4), (260 nódulos por planta quando feita a inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio), e outro genótipo ineficiente à nodulação, mesmo quando foi feita a inoculação via semente (NOD 139). Os demais genótipos (BRS 133, BRA 99 e W 82), apresentaram em média 35 nódulos por planta. As variáveis climatológicas (temperatura do ar, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor do ar) foram monitoradas durante todo o experimento. Aos 37 dias após o plantio, foram analisados a intensidade de cor verde, as trocas gasosas (taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática), fluorescência da clorofila às 8:00 e 12:00 horas. Foram realizadas também, as avaliações de temperatura foliar e potencial hídrico da folha e o crescimento das plantas (altura, diâmetro e área foliar, número de nódulos, volume de raiz e a massa seca da planta), condutância e condutividade hidráulica da raiz e a quantificação de nitrogênio nas folhas. Com os resultados obtidos, foram calculados eficiência do uso da água (EUA), eficiência intrínseca do Uso da água (EIUA) e o Índice de qualidade de Dickson (IQD). Como base nos resultados obtidos, de uma maneira geral entre os genótipos estudados, a presença de nódulos na raiz dos genótipos estudados não necessariamente causa uma maior resistência hidráulica nestes órgãos. A região das raízes onde os nódulos se localizaram foi no coleto, e esta área não tem grande

influência na absorção de água do solo. Ainda, a hipótese de que se poderia ter maior taxa fotoinibitória ao meio-dia, devido ao fechamento estomático causado pela maior resistência hidráulica da raiz devido à presença de nódulos, deve ser descartada. A redução no crescimento dos genótipos com maior número de nódulos nas raízes pareceu estar mais associada à elevada capacidade destas estruturas radiculares atuarem como forte dreno de fotoassimilados, logo, o genótipo modificado geneticamente para intensificar a nodulação nas raízes, não obteve incremento em biomassa nas plantas de soja em até 37 dias após o semeio. Para os genótipos BRS 133 e W 82, qualquer estratégia de manejo que possa ser feita para aumentar o número de nódulos, objetivando elevar a concentração de N foliar, bem como o teor de clorofilas, o possível ganho na assimilação fotossintética devido aos efeitos não estomáticos pode ser reduzida caso estes genótipos sejam cultivados em ambientes com elevados valores de DPV_{ar} .

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, F. F. e Hungria, M. (1999) Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 34(9): 1633-1643
- Atkin, O.K.; Scheurwater, I.; Pons, T.L (2007). Respiration as a percentage of daily photosynthesis in whole plants is homeostatic at moderate, but not high, growth temperatures. *New Phytologist* 174: 367-380.
- Balasubramanian, V.; Morales, A.C.; Thiyagarajan, T.M.; Nagarajan, R.; Babu, M.; Abdulrachman, S.; Hai, L.H..(2000). Adoption of the chlorophyll meter (SPAD) technology for real-time N management in rice: a review. *Int. Rice Res. Newslett.* 25, 4–8
- Becker, P.; Tsuda, M.(1999). Hydraulic conductances of angiosperms versus conifers: similar transport sufficiency at the whole-plant level. *Tree Physiology*, 19: 445-452
- Bederska, M.; Borucki, W.; Znoje, E. (2013.) Movement of fluorescent dyes Lucifer Yellow (LYCH) and carboxyfluorescein (CF) in *Medicago truncatula* Gaertn. roots and root nodules. *Symbiosis*. January

- Brandelero, E. M.; Peixoto, C. P.; Ralisch, R. (2009). Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 30, n. 3, p. 581-588.
- Buckley, T. N. (2005) The control of stomata by water balance. *New Phytologist*, 168: 275-292.
- Bulegon, L. G., Guimarães, V.F., Alegewarth, V. A., Santos, M. G., Heling, A. L., Ferreira, S. D., Wengrat, A. P. G. S., Battistus, A. G. (2016) Crescimento e trocas gasosas no período vegetativo da soja inoculada com bactérias diazotróficas. *Nativa, Sinop*, 4(5): 277-286.
- Bhuvanewari, T.V.; Bhagwat, A.A.; Bauer, W.D (1981). Transient susceptibility of root cells in four common legumes to nodulation by rhizobia. *Plant Physiol.* 68, 1144- 1149.
- Campostrini E. (2001). Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas. Univ. Estadual do Norte Fluminense. Apostila.
- Cassman, K.G., Whitney, A.S., Stockinger, K.R. (1980) Root Growth and Dry Matter Distribution of Soybean as Affected by Phosphorus Stress, Nodulation, and Nitrogen Source. Reprinted from *Crop Science*. 20: 239-244.
- Chueire, L.M.O. Bangel, E.V. Mostasso, F.L. Campo, R.J. Pedrosa, F.O. Hungria, M. (2003). Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no seqüenciamento do gene 16S rRNA. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27(5): 883-840.
- Collins, M.; Knutti, R.; Arblaster, J.; Dufresne, J.L.; Fichet, T.; Friedlingstein, P.; Gao, X.; Gutowski, W. J.; Johns, T.; Krinner, G.; Shongwe, M.; Tebaldi, C.; Weaver, A. J.; Wehner, M. (2013) Long-term Climate Change: Projections, Commitments and Irreversibility. *In: Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P. M. (Eds.). Climate Change 2013: The Physical Science*

Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Available at: <http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5.Chapter12FINAL.pdf>. Last accessed 18 January 2017.

Comas, L.H.; Bouma, T. J.; Eissenstat, D.M. (2002). Linking root traits to potential growth rate in six temperate tree species. *Oecologia*, p. 132,

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento (2017). Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos – Safra 16/2017. Brasília:

Corby. I.I.D.L. (1981) The shape of leguminous nodules and the color of leguminous roots. *Plant and Soil*, 305-314

Cruz, S. C. S.; Sena-Junior, D. G.; Santos, D. M. A.; Lunezzo, L. O.; Machado, C. G. (2016) Cultivo de soja sob diferentes densidades de semeadura e arranjos espaciais. *Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-Ms*, v. 3, n. 1, p. 1–6, jan./mar.

Da Matta, F. M., Grandis, A., Arenque, B. C., Buckeridge, M. S. (2010) Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. *Food Research International*, 43:1814-1823.

De castro, F. A.; Campostrini, E. Netto, A. T.; De menezes, DE A. G., M.; Ferraz, T.M. Glenn, D. M. (2014). Portable chlorophyll meter (PCM-502) values are related to total chlorophyll concentration and photosynthetic capacity in papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26, 201-210.

De lima, R. S. N.; De Assis Figueiredo, F. A. M. M.; Martins, Amanda Oliveira ; De deus, B. C. D. S; Ferraz, T. M ; Gomes, M. de M de A ; De Sousa, E. F.; Glenn, D. M.; Campostrini, E (2015). Partial rootzone drying (PRD) and regulated deficit irrigation (RDI) effects on stomatal conductance, growth, photosynthetic capacity, and water-use efficiency of papaya. *Scientia Horticulturae*, v. 183, p. 13-22.

Ehlert, C.; Maurel, C.; Tardieu, F. & Simonneau, T. (2009). Aquaporin-mediated reduction in maize root hydraulic conductivity impacts cell turgor and leaf

elongation even without changing transpiration. *Plant Physiology*, 150(2), 1093-1104.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2004. Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil 2004 disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2017

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2001. Fixação biológica no nitrogênio na cultura da soja Embrapa - Soja, 2001.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2004. Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil 2004 disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2016

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2011. Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina, Embrapa – Soja. p 262.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2007. O complexo agroindustrial da soja brasileira. Londrina-PR. Disponível em; <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/470318/o-complexo-agroindustrial-da-soja-brasileira>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2016

Epstein, E.; Bloom, A.J. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina: Editora Planta, 2006.

Farias, J.R.B., Nepomuceno, A.L., Neumaier, N.(2007). Ecofisiologia da soja. Londrina: EMBRAPA SOJA,. *Embrapa Soja: Circular Técnica*, 48.

Fagan, E.B. Medeiros.; S.L.P. Manfron, P.A.; Casaroll, D.; Simon, J.; Neto, D.D. Lier, Q.D.J. Van; Santos, O. S. (2007). Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - revisão. *Revista FZVA*, 14(1): 89-106.

Figueiredo, F.A.M.M.A.; Carneiro, J.G.A.; Penchel, R.M. Campostrini, E. Thiebaut, J.T.L.; Barroso, D.G (2014). Condutividade hidráulica de raiz e

capacidade fotossintética de mudas clonais 490 de eucalipto com indução de deformações radiculares. *Ciência Florestal*. 24,1-10

Flexas, J.; Bota, J.; Cifre, J., Escalona, J. M., Galmés, J., Gulías, J., Lefi, E. K., Martinez-Canellas, S. F., Moreno, M. T., Ribas-Carbó, M., Riera, D., Sampol, B., Medrano, H., (2004). Understanding down regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals Applied Biology*, 144, p. 273–283.

Flexas, J.; Bota, J.; Galmés, J.; Medrano, H., Ribas-Carbo, M. (2006) Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127: 343-352.

Fletcher A.L.; Sinclair T.R.; Allen L.H.; (2007). Transpiration responses to vapor pressure deficit in well watered 'slow-wilting' and commercial soybean. *Environmental and Experimental Botany* 61, 145–151.

Fonseca, É. D. P.; Valéri, S. V.; Miglioranza, É.; Fonseca, N. A. N & Couto, L. (2002). Target seedlings of *Trema micrantha* (L.) Blume grown under different periods of shading. *Revista árvore*, 26(4), 515-523.

Frensch, J., Steudle, E. (1998) Axial and radial Hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays* L.) *Plant Physiology*. 91, p. 719-726.

Gerahty, N. et al. (1992). Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. *Plant Science* .58, 1-7.

Gifford, R.; Thorne, J.H.; Hitz, W.D.; Giaquinta, R. T. (1984). Crop productivity and photoassimilate partitioning. *Science*, v. 225, n. 4664, p. 801-808.

Gilbert, M.E.; Holbrook, N.M.; Zwieniecki, M.A.; Sinclair, T.R. (2011). Field confirmation of 501 genetic variation in soybean transpiration response to

vapor pressure deficit and 502 photosynthetic compensation. *Field Crops Research*, 124 , 85-92.

Godoy, L. J. G.; Santos, T. S.; Villas Bôas, R. L.; Leite Júnior, J. B. (2008) Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o ciclo do cafeeiro fertirrigado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1): 217-226.

Graham, P.H.; Vance; C.P. (2003) Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131, p. 872–877.

Grantz D.A. (1990). Plant response to atmospheric humidity. *Plant Cell and Environment* 13, 667–679.

Hendry, G. A. F., Price, A. H. (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G. A. F., Grime, J. P. (eds), *Methods in Comparative Plant Ecology*, pp. 148-152.

Henzler, T.; Waterhouse, R. N.; Smyth, A. J.; Carvajal, M., Cooke, D. T.; Schaffner, A. R.; Steudle, E.; Clarkson, D.T.(1999). Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicas*. *Planta*, 210, p. 50-60.

Hubbart ,R. M.; Bond, B. J.; Ryan, M.G. (1999). Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology*, 19, p.165-172.

Hungria, M.; Campos, R. J.; Mendes, I. C. (2001). Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: *Embrapa Soja*.

Ikeda, I.I. (1955). Histological studies on the root nodules of soybean. *Kagoshima University Faculty of Agriculture Bulletin*. 4, 54-64. (In Japanese)

Isohydric and anisohydric characterization of vegetable crops. the classification of vegetables by their physiological responses to water stress. 2009.

Jackson, R. B.; Sperry, J.S.; Dawson, G. T.E. (2000). Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends in Plant Science*, 5, 482-488.

Jesus, S. V., Marengo, R. A. (2008). The SPAD-502 as an alternative to the determination of the chlorophyll content in fruit trees species. *Acta Amazonica* 38 (4): 815-818 (Portuguese).

Jones, H.G. (1999). Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance in irrigation scheduling. *Agricultural and Forest Meteorology*, 95, 139-149.

Kaschuk, G.; Yin, X.; Hungria, M.; Leffelaar, P.A.; Guiller, K.E. & Kuyper, T.W. (2012). Photosynthetic adaptation of soybean due to varying effectiveness of N₂ fixation by two distinct *Bradyrhizobium japonicum* strains. *Environmental and Experimental Botany*, 76, 1-6

Kaschuk, G., Kuyper, T. W., Leffelaar, P. A., Hungria, M., Giller, K. E. (2009) Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biology & Biochemistry*, 41: 1233-1244.

Kerbauy, G.B. *Fisiologia Vegetal*. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 2004.

Kholova J, Hash CT, Kakkera A, Kocova M, Vadez V. (2010). Constitutive water-conserving mechanisms are correlated with the terminal drought tolerance of pearl millet *Pennisetum glaucum* (L.). *Journal of Experimental Botany* 61, 369–377.

Lambers, H.; Chapin III, F. S.; Pons, J. L. (2008) *Plant Physiological Ecology*. 2nd Ed. New York: Springer-Verlag, 604 p.

Limpus, S. 2009. Queensland Government. The state of Queensland, Department of Primary Industries and Fisheries.

- Lin L.; Allemekinders H.; Dansby A.; Campbell L.; Durance-Tod S.; Berger, A.; Jones, P.J. (2013). Evidence of health benefits of canola oil. *Nutr Rev* 71(6):370–385
- Lírio E.J.; Arnholz, E.; Hencker, C.; Roldi, M.M. C.; Soares, R.B.; Sarnaglia Jr, V.B.; Bonadeu, F.; Hebling, S (2012). Efeito da inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* (Bradyrhizobiaceae) sobre o desenvolvimento de *Senna multijuga* e *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae). *Natureza on line* 10 (4): 195--199.
- Long, S.P.; Hällgren, J.E. (1993). Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Hall, D.O.; Scurlock, J.M.O.; Bolhàr-Nordenkamp, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P. (Ed.). *Photosynthesis and production in a changing environment-A field and laboratory manual*. London, Glasgow, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman e Hall, p.129-167.
- Lo Gullo, M.A.; Nardii, A.; Salleo, S.; Tyree, M.T (1998). Change in root hydraulic conductance (*K_R*) of *Oleaoleaster* seedlings following drought stress and irrigation, *New Phytologist*, 140,p. 25-31.
- Matsunami, T.; Kaihatsu, A.; Maekawa, T.; Takahashi, M.; Kokubun, M. (2004) Characterization of vegetative growth of a supernodulating soybean genotype, Sakukei 4. *Plant Production Science*, 7, 165-171.
- Mcelrone, A. J. et al. *Variation in xylem structure and function in stems and roots of trees to 20 m depth*. *New Phytologist*, Sheffield, n. 163, p. 507–517, 2004.
- Mengel, K.; Kirkby, E. A. (2001) *Principles of plant nutrition*. 5ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 849
- Milanesi, J. H. (2015) Adubação da cultura da soja baseada nos teores mínimos de fósforo e potássio no solo autor. Dissertação (Mestrado em Agricultura de Precisão)- Santa Maria-RGS, Universidade Federal de Santa Maria.

- Miyasaka, S.; Medina, J. C. (1981). A soja no Brasil. 1 ed. São Paulo: ITAL, p.1 174. Pimentel, Carlos. A relação da planta com a água. Seropedica, RJ: Edur. 2004. p. 70.
- Minolta.(1989) Chlorophyll meter SPAD-502. *Instruction manual*. Minolta Co.,Osaka, Japan. 22p
- Mondini, M.L.; Vieira, C.P.; Cambraia, L.A. Época de semeadura: um importante fator que afeta a produtividade da cultura da soja. Dourados: *Embrapa Agropecuária Oeste*, 2001.16p.
- Müller, L. Fisiologia. In: Myiasaka, S. & Medina, J. L. *A Soja no Brasil*. Campinas, p. 109 - 29. 1981
- Nogueira, A.P.O.; Dedyama,T.; Barros,H.B.; Teixeira,R.C. Morfologia, crescimento e desenvolvimento. In: Sedyama, T.(Ed). *Tecnologia de produção e usos da soja*. Londrina: *Mecenas*, 2009, p.7-16.
- Nogueira, P. D. M.; Júnior, D. G. S.; Ragagnin, V. A. (2010) Clorofila foliar e nodulação em soja adubada com nitrogênio em cobertura. *Global Science and Technology*, 3(2): 117-124.
- North G.B.; Nobel P.S.; (1992) Drought-induced changes in hydraulic conductivity and structure in roots of *Ferocactus acanthodes* and *Opuntia ficus-indica*, *New Phytologist*. 120, p. 9–19.
- Parsons R, Day DA (1990) Mechanism of soybean nodule adaptation to different oxygen pressures. *Plant Cell Environ* 13:501–512
- Peoples M. B, Brockwell, J.; Herridge, D.F.; Rochester, I. J.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R. M.; Dakora, F. D.; Bhattarai, S.; Maskey, S. L.; Sampet, C.; Rerkasem, B.; Khan, D.F., Hauggaard-Nielsen, H.; Jensen, E.S. (2009). The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis* 48, 1–17.
- Petter, F. A. Silva, J. A. Zuffo, A.M. Andrade, F.R. Pacheco, L. P. Almeida, F. A. (2016) de Does high seeding density increase soybean productivity? Photosynthetically active radiation responses. *Bragantia*, 75 (2): 173-183.

- Pimentel, Carlos. *A relação da planta com a água*. Seropédica, RJ: Edur. 2004. p. 70
- Radin, J. W.; Eidenbock, M. P. (1984). Hydraulic Conductance as a Factor Limiting Leaf Expansion of Phosphorus Deficient Cotton Plants. *Plant Physiology*. 75: 372-377.
- Reis, F.O.; Campostrini, E. (2008). Trocas gasosas e eficiência fotoquímica potencial em mamoeiro do grupo 'formosa' cultivado em condição de campo. *Bragantia*, 67(4): 815-822.
- Rieger, M.; Litvin, P. (1999) Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *Journal of Experimental Botany*, 50, p.201-209
- Ryle, G.J. A. et al. (1979) The respiratory costs of nitrogen fixation in soybean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. *Journal of Experimental Botany*, 30, 145-153
- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Bradstreet, E.D. & Hemmingen. (1965). E.A. SAP pressure in vascular plants. *Science*, 148: 339 – 346,
- Sediyama, T.; Pereira, M.G.; Sediyama, C. S.; Gomes, J. L. L. (1985). Cultura da soja-Partel. Viçosa: *Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa*. p. 96.
- Sediyama, T.; Teixeira, R. C.; Barros, H. B. (2009). Origem, evolução e importância econômica. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). *Tecnologias de produção e usos da soja*. Londrina: *Mecenas*, cap. 1, p. 1-5.
- Shimizu, M.; Ishida, A.; Hogetsu, T. (2005). Root hydraulic conductivity and whole-plant water balance in tropical saplings following a shade-to-sun transfer *Oecologia*, 143, p. 189-197.
- Silva, F.A.S. (1996) The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: International Conference On Computers In Agriculture, 6, Cancun. Anais. Cancun: American Society of Agricultural Engineers, p.294-298.

- Silva, F.A.S. e Azevedo, C.A.V. (2009) Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: World Congress On Computers In Agriculture, 7, Reno-NV-USA: *American Society of Agricultural and Biological Engineers*.
- Silva, F.A.S. e Azevedo, C.A.V. (2002) Versão do programa computacional Assisat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, 4 (1), 71-78.
- Sinclair, T.R.; Zwieniecki M,A.; Holbrook, N.M. (2008). Low leaf hydraulic conductance 536 associated with drought tolerance in soybean. *Physiologia Plantarum*, 132. p. 446-451.
- Smith, D.L.;Hume, D.J. (1987) Comparison of assay methods for N₂ fixation utilizing white bean and soybean. *Journal Plant Science*, 67, 11-19.
- Solari. L. I.; Pernice,F.; Dejong, T. M. (2006) The relationship of hydraulic conductance to root system characteristics of peach (*Prunus persica*) rootstocks. *Physiologia Plantarum*, Helsinki, n. 128, p. 324–333.
- Souza, R.A.de; Hungria, M.; Franchini, J.C. Ligia Maria de Oliveira Chueire.; Barcellos, F. G.; Campo, R, J. (2008). Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.*, Brasília, v.43, n.1, p.71-82
- Sperry ,J. S.(2000). *Hydraulic constraints on plant gas exchange*. Agricultural and Forest Metology, Amsterdam, 104,p. 13-23.
- Sprent, J.I.; Giannakis. C. & Wallace. W. (1987). Transport of nitrate and calcium into legume root nodules. *Journal of Experimental Botany*, 192, 1121 1128.
- Sprent,J.L (1980). Root nodule anatotomy. type of export product and evolutionary origin in some *Leguminosae*. *Plant Cell and Environment*, 3, 35-43.

- Strasser, R.J.; Tsimilli-Michael, M. (2001). Stress in plants, from daily rhythm to global changes, detected and quantified by the JIP-test. *Chim. Nouvelle (SRC)*, 75, 3321–3326.
- Taiz, L.; Zeiger, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artemed, 2013.
- Takahashi, M.; Nakayama, N.; Arihara, J (2005). Plant Nitrogen Levels and Photosynthesis in the Supernodulating Soybean (*Glycine max* L. Merr.) Cultivar Sakukei 4. *Plant Prod. Sci.* 8(4): 412 -418
- Tenhunen, J. D., Pearcy, R. W., Larance, O. L. (1987). Diurnal variation in leaf
- Tyree, m. t.; Zimmermann, m.h. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*, Berlin: Springer Verlag, 2002.
- Tombesi S, Johnson R.S.; Day K.R.; De Jong, T.M.(2009). Relationships between xylem vessel 541 characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size controlling capacity of 542 peach rootstocks. *Annals of Botany*, 105,p. 327-331
- Turner N.C.;Palta J.A.; Shrestha R.; Ludwig C.; Siddique K.H.M.; Turner D.W. (2007). Carbon isotope discrimination is not correlated with transpiration efficiency in three cool-season grain legumes (Pulses). *Journal of Integrative Plant Biology* 49, 1478- 1483.
- USDA. World agricultural supply and demand estimates. Washington D. C.: United States Departmente of Agriculture, 2015.
- Vadez, V.; Kholova, J.; Medina, S.; Kakkera, A.; Anderberg, H. (2014). Transpiration efficiency: new insights into an old story. *Journal of Experimental Botany*, 65 (21), 6141–6153.
- Vargas, M. A. T.; Mendes, I. C.; Suhet, A. R. Peres, J. R. R. Fixação biológica de nitrogênio. In: ARANTES, N. E.; SOUSA, P. I. M. (Ed.). *Cultura da soja nos cerrados*. 2ª ed. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba: Potafos, 1993. p. 159-182.

Walsh, K. B.; (1995). Physiology of the legume nodule and its response to stress. *Soil BiolBiochem*, 27. p.637–655.

Yao, P.J.; Vincent, J. M. (1969). Host specificity in the root “curling factor” of *Rhizobium spp.* *Aust. J. Biol. Sci*, 22.p. 413–423.