**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Caracterização do crescimento e acúmulo de nitrogênio em uma cultura de soja de elevada produtividade

Leandro Moraes Zambon

Dissertação apresentada para obter o título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2020**

Leandro Moraes Zambon
Engenheiro Agrônomo

Caracterização do crescimento e acúmulo de nitrogênio em uma cultura de soja de elevada produtividade

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **KLAUS REICHARDT**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Zambon, Leandro Moraes

Caracterização do crescimento e acúmulo de nitrogênio em uma cultura de soja de elevada produtividade / Leandro Moraes Zambon. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

70 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Glycine max* (L.) Merr. 2. Nitrogênio 3. Acúmulo 4. Balanço de nitrogênio I. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A Deus pelo simples fato de estar vivo desfrutando toda a beleza da vida e do mundo;

A meu pai Sergio, minha mãe Rosana e meu irmão Matheus pela harmonia e suporte familiar;

A meu orientador Klaus Reichardt e meu coorientador Durval Dourado Neto pela atenção, amizade, suporte e ensinamentos;

A todos os colegas do laboratório Multiusuários entre pós-graduandos, professores e funcionários pela amizade e companheirismo;

Aos meus colegas Felipe Fadel Sartori e Thaise Dieminger Engroff pela ajuda com as análises laboratoriais;

Aos meus companheiros de experimento Everton Barbosa e Jackellyne Bruna por tornar nosso trabalho mais alegre e leve;

A meu grande amigo da Engenharia Florestal João Pacheco pelo companheirismo, encontros para um café e receptividade;

A todos os funcionários da área experimental da Produção Vegetal pela grande ajuda prestada;

A secretária do Programa de Pós-Graduação de Fitotecnia, Luciane Toledo, pelo ótimo trabalho exercido diante de qualquer solicitação;

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de estudo.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
LISTA DE SÍMBOLOS	11
1. INTRODUÇÃO	13
1.1. OBJETIVO GERAL	15
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Cultura da soja: uso da matéria prima, composição do grão, área plantada e produção	17
2.2 Estádios fenológicos referentes à cultura de soja.....	19
2.3 Nitrogênio: Ocorrência, funções biológicas e assimilação.....	19
2.4 Nitrogênio em soja – Extração, exportação e balanço de nitrogênio	21
2.5 Partição de nitrogênio em soja	23
2.6 Fixação biológica de nitrogênio	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Caracterização da área	27
3.2 Delineamento experimental e atributos do solo	27
3.3 Semeadura da soja e tratos culturais	29
3.4 Avaliações de crescimento.....	29
3.5 Extração, análise de nitrato (NO ₃ ⁻) e ureídeos e nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA)	30
3.6 Nitrogênio total	31
3.7 N oriundo da FBN, balanço parcial de N, lacuna de N e índice de colheita de N.....	32
3.8 Colheita, Produtividade final e índice de colheita.....	32
3.9 Dados climáticos e balanço hídrico.....	32
3.10 Análise estatística e modelagem dos dados.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Acúmulo e partição de matéria seca.....	39
4.2 Índice de área foliar (IAF)	46
4.3 Ureídeos, nitrato e nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA)	47
4.4 Nitrogênio: Concentração nos órgãos ao longo do ciclo e acúmulo total e relativo dos órgãos	50
4.5 Balanço parcial, lacuna e índice de colheita de N.....	57
5. CONCLUSÕES	61
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS	65

RESUMO

Caracterização do crescimento e acúmulo de nitrogênio em uma cultura de soja de elevada produtividade

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma das maiores fontes vegetais de proteína e óleo. Devido à alta concentração nas sementes, o nitrogênio (N) é o elemento mais extraído e exportado pela cultura, sendo um componente chave na busca de altos rendimentos e qualidade de sementes. Em lavouras de elevada produtividade, pouco se sabe sobre o acúmulo de N nos diferentes órgãos da planta bem como a contribuição relativa da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em relação ao acúmulo total de N na planta. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o crescimento e o acúmulo de N em uma cultura de soja de elevado rendimento. A pesquisa foi realizada em área experimental no município de Piracicaba, sendo o solo classificado como Latossolo Vermelho distrófico argiloso. A área experimental constituiu-se de um talhão homogêneo com 60 parcelas idênticas, deslocadas apenas para amostragem em diferentes estádios de crescimento. A cultivar de soja utilizada foi a RK7518 IPRO e foi semeada no dia 10/10/2017 com espaçamento nas entrelinhas de 0.45m e taxa de semeadura de 300.000 plantas ha⁻¹. Durante o ciclo da cultura, nove coletas foram realizadas. Em cada uma delas, 6 parcelas foram amostradas (6 repetições), sendo 3 plantas coletadas de cada uma. Os estádios fenológicos amostrados foram V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆ e R₈. O índice de área foliar foi determinado para as plantas coletadas nos estádios V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆. Determinou-se a massa de matéria seca média (MMS) de todos os órgãos separadamente bem como o teor de N dos órgãos para as plantas de todos os estádios amostrados. Através do produto desses atributos, estimou-se o acúmulo total de N por hectare relativo aos órgãos e ao total. Os dados de acúmulo total de MMS e N foram submetidos a um modelo matemático para determinar as máximas taxas de acúmulo de MMS e N total. O teor de nitrato (NO₃⁻) e de ureídeos na haste da soja foram determinados, e a eficiência da FBN foi estimada pelo método da abundância relativa de ureídeos. Esses dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 95% de significância. Através da estimativa do N oriundo da FBN, calculou-se o balanço parcial e a lacuna de N. No dia 02/03/2018, a área útil de todas as parcelas foi colhida e a produtividade foi determinada. O teor de N nas sementes foi analisado. Calculou-se o índice de colheita (IC) e o índice de colheita para nitrogênio (ICN) com e sem a contribuição das raízes. As raízes apresentaram crescimento até R_{5.2} com posterior redução em massa. A máxima massa de haste e vagem por planta foi encontrada em R₈. Para as folhas, máxima massa foi determinada em R_{5.2} bem como máximo IAF, com posterior redução em R₆ e ausência de massa em R₈. A produtividade foi de 6470 kg ha⁻¹. O máximo acúmulo de MS ocorreu em R₈ com 17.884 kg ha⁻¹ ou 16.808 kg ha⁻¹ quando considerada somente a parte aérea. A máxima taxa de acúmulo de MS ocorreu aos 76 DAE e foi de 340 kg ha d⁻¹. O IC sem e com raízes foi de 33.48% e 31.47%, respectivamente. O máximo acúmulo de N para os órgãos vegetativos ocorreu em R_{5.2}, sendo o máximo acúmulo de N na planta em R₈ da ordem de 599.8 kg N ha⁻¹. A remobilização de N foi de 66.8% e 87.2% para as raízes e hastes, respectivamente. A máxima taxa de acúmulo de N ocorreu aos 84 DAE e foi de 9.9 kg N ha d⁻¹. O ICN foi de 62.4% e 61.84%, sem e com raízes, respectivamente. O teor de NO₃⁻ na haste foi máximo em V₄ e mínimo em R₆. Para ureídeo, máximo teor foi encontrado em R_{5.2}. A eficiência da FBN foi máxima em R_{5.2} com 65.2% com redução para 59.3% em R₆. O balanço parcial de N foi negativo mesmo quando o N contido nas raízes foi contabilizado. Os valores foram de -42.75 e - 33.35 kg N ha⁻¹, sem e com raízes, respectivamente. A lacuna de N foi de 231.7 kg N ha⁻¹.

Palavras-chave: *Glycine max* [L.] Merr., Nitrogênio, Acúmulo, Balanço de nitrogênio

ABSTRACT

Characterization of growth and nitrogen accumulation in a high yield soybean crop

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) is one of the largest vegetable sources of protein and oil. Due to the high concentration in the seeds, nitrogen (N) is the most extracted and exported element in the crop, being a key component in the search for high yields and seed quality. In high yield crops, little is known about N accumulation in different plant organs as well as the relative contribution of biological nitrogen fixation (BNF) to total N accumulation in the plant. In this sense, the objective of this work was to characterize the growth and accumulation of N in a high yield soybean crop. The research was carried out in an experimental area in Piracicaba, SP, Brazil, and the soil was classified as clayey dystrophic Red Latosol. The experimental area consisted of a homogeneous plot with 60 identical plots, displaced over the field only for plant sampling at different growth stages. The soybean cultivar used was RK7518 IPRO and was sown on 10/10/2017 with row spacing of 0.45m and sowing rate of 300,000 plants ha⁻¹. During the crop cycle, nine samplings were performed. Each sampling consisted of 6 plots (replications), 3 plants collected being from each one. The phenological stages at sampling were V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} and R₆ and R₈. The leaf area index was determined for plants collected at stages V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} and R₆. The average dry matter mass (MMS) of all organs was determined separately as well as the N content of each organ, for plants of all sampled stages. By multiplying these attributes, we estimated the total accumulation of N per hectare relative to organs and total. Total MMS and N accumulation data were subjected to a mathematical model to determine the maximum MMS and N total accumulation rates. Nitrate (NO₃⁻) and ureid contents of soybean stem were determined, and the efficiency of BNF was estimated by the relative abundance method of ureids. These data were submitted to analysis of variance and Tukey test at 95% significance. By estimating the N from the BNF, we calculated the partial balance and the N gap. On 03/02/2018, the useful area of all plots was harvested and the yield was determined. N content in seeds was analyzed. Harvest index (HI) and nitrogen harvest index (NHI) were calculated with and without root contribution. The roots showed growth up to R_{5.2} with subsequent mass reduction. The maximum stem and pod mass per plant were found in R₈. For leaves, maximum mass was determined in R_{5.2} as well as maximum LAI, with subsequent reduction in R₆ and absence of mass in R₈. Productivity was 6470 kg ha⁻¹. The maximum accumulation of DM occurred in R₈ with 17.884 kg ha⁻¹ or 16,808 kg ha⁻¹ when considering only the aerial part. The maximum DM accumulation rate occurred at 76 DAE and was 340 kg ha d⁻¹. HI without and with roots was 33.48% and 31.47%, respectively. The maximum N accumulation for the vegetative organs occurred in R_{5.2}, with the maximum N accumulation in the plant in R₈ of the order of 599.8 kg N ha⁻¹. N remobilization was 66.8% and 87.2% for roots and stems, respectively. The maximum N accumulation rate occurred at 84 DAE and was 9.9 kg N ha d⁻¹. The NHI was 62.4% and 61.84%, without and with roots, respectively. The NO₃⁻ content in the stem was maximum in V₄ and minimum in R₆. For ureid, maximum content was found in R_{5.2}. BNF efficiency was maximum at R_{5.2} with 65.2% with a reduction to 59.3% at R₆. The partial balance of N was negative even when the N contained in the roots was accounted for. The values were -42.75 and -33.35 kg N ha⁻¹, without and with roots, respectively. Nitrogen gap was 231.7 kg N ha⁻¹.

Keywords: *Glycine max* [L.] Merr, Nitrogen, Accumulation, Nitrogen balance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Arranjo das 60 parcelas na área experimental e (B) Esquema mostrando uma única parcela com suas dimensões na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.....	27
Figura 2. (A) Área experimental do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP após o preparo do solo e antes da semeadura da soja e (B) semeadura da cultura da soja realizada no dia 10/10/2017 na área experimental do Departamento de Fitotecnia.	28
Figura 3. Radiação fotossinteticamente ativa, temperatura máxima, temperatura mínima e temperatura média na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	33
Figura 4. Precipitação e lâminas de irrigação distribuídas na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	33
Figura 5. Balanço Hídrico: Precipitação + lâmina de irrigação acumuladas (mm), evapotranspiração potencial (mm) e evapotranspiração real (mm) representadas nos decêndios na Safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	34
Figura 6. Balanço Hídrico mostrando o excedente (mm) e deficiência de água (mm) representada nos decêndios na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	34
Figura 7. Graus dia acumulado em relação aos dias após a emergência da cultura da soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	35
Figura 8. Acúmulo de massa de matéria seca total ou de N total [linha contínua], taxa de acúmulo de massa de matéria seca ou de N [linha tracejada] e máxima taxa de acúmulo de massa de matéria seca ou de nitrogênio em função do tempo na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	37
Figura 9. Massa de matéria seca por planta de soja dos órgãos e total nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	40
Figura 10. Acúmulo de massa de matéria seca [linha contínua] e taxa de acúmulo de massa de matéria seca [linha tracejada] em plantas de soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	42
Figura 11. Proporção relativa de matéria seca nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2 R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	45
Figura 12. Índice de área foliar (IAF) ao longo dos dias após a emergência das plantas nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2 e R6 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	46
Figura 13. Nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA) ao longo do ciclo da soja representando os estádios fenológicos V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	48
Figura 14. Acúmulo de nitrogênio (extração) [linha contínua] e taxa de extração de nitrogênio [linha tracejada] em plantas de soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	55
Figura 15. Proporção relativa do acúmulo de nitrogênio nos órgãos da planta nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estádios vegetativos para a cultura da soja.....	19
Tabela 2. Atributos químicos do local do experimento na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.....	28
Tabela 3. Data das coletas, dia após a emergência das plantas e estágio fenológico correspondente na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.....	30
Tabela 4. Massa de matéria seca por planta de soja e acúmulo por área dos órgãos e total nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	41
Tabela 5. Parâmetros (P) empíricos a (kg ha^{-1}), b (d) e c, erro padrão (E), intervalo de confiança (95%), referentes ao modelo logístico (Equação 1) para o cálculo da massa de matéria seca total e taxa de acúmulo da massa de matéria seca total.	42
Tabela 6. Teor de nitrato (NO_3^-) e ureídeo expressos em mmol g^{-1} de haste seca nos estádios fenológicos V4, V8, R1, R2, R4, R5.2 e R6 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.....	48
Tabela 7. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}) dos órgãos nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.	51
Tabela 8. Acumulado total de nitrogênio (kg ha^{-1}) dos órgãos nos estádios fenológicos VE, V4, V8, R1, R2, R4, R5.2, R6 e R8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.....	52
Tabela 9. Parâmetros (P) empíricos a, b (d) e c, erro padrão (E), intervalo de confiança (95%), referentes ao modelo logístico para o cálculo da extração de nitrogênio e taxa de extração de nitrogênio.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP	Agência Nacional do Petróleo
ATP	trifosfato de adenosina
CESB	Comitê Estratégico soja Brasil
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
Cwa	clima tropical de altitude
DAE	dias após a emergência
DNA	ácido desoxirribonucléico
FBN	fixação biológica de nitrogênio
Fd	ferredoxina
GOGAT	glutamato sintase
GS	glutamina sintase
IAF	índice de área foliar
IC	índice de colheita
ICN	índice de colheita de nitrogênio
NADH	nicotinamida adenina dinucleotide
NiR	nitrito redutase
NR	nitrato redutase
NT	nitrogênio total
pH	potencial hidrogeniônico
RNA	ácido ribonucleico
RPM	rotação por minuto
RuBisCO	ribulose-1-5-bifosfato carboxylase/oxidase
SB	soma de bases
USDA	United States Department of Agriculture

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	graus celsius
μL	microlitro
Al	alumínio
B	bóro
Ca	cálcio
CaCl ₂	cloreto de cálcio
Ca(C ₂ H ₃ O ₂) ₂	acetato de cálcio
cm	centímetro
cmol _c dm ⁻³	centimol de carga por decímetro cúbico
CO ₂	dióxido de carbono
Cu	cobre
DTPA	ácido dietilenotriaminopentaacético
Fe	ferro
g	grama
g L ⁻¹	grama por litro
g kg ⁻¹	grama por quilograma
g m ⁻² d ⁻¹	grama por metro quadrado por dia
H+Al	acidez potencial
H ₂ O	água
HCl	ácido clorídrico
K	potássio
K ₂ O	óxido de potássio
KCl	cloreto de potássio
kg	quilograma
kg ha ⁻¹	quilograma por hectare
kg N ha ⁻¹	quilograma de nitrogênio por hectare
KNO ₃	nitrato de potássio
m	metro
M	mol
mM	milimol

mM g ⁻¹	milimolar por grama
m%	Saturação por alumínio
m ²	metro quadrado
m ³	metro cúbico
mg dm ⁻³	miligrama por decímetro cúbico
mL	mililitro
mL kg ⁻¹	mililitro por quilograma
mm	milímetro
mol L ⁻¹	mol por litro
Mg	magnésio
Mn	manganês
MJ/m ²	megajoule por metro quadrado
MS	matéria seca
N ₂	nitrogênio atmosférico
N	nitrogênio
NaOH	hidróxido de sódio
NH ₃	amônia
NH ₄ ⁺	amônio
NO ₂ ⁻	nitrito
NO ₃ ⁻	nitrato
nm	nanômetro
P	fósforo
P ₂ O ₅	pentóxido de difosforo
SO ₄ ⁻	sulfato
t ha ⁻¹	toneladas por hectare
V%	Saturação de bases
Zn	zinco

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma das maiores fontes vegetais de proteína e óleo (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Na composição do grão há cerca de 40% de proteína, que é utilizada principalmente na alimentação animal (HUNGRIA et al., 2006). Além disso, os grãos de soja possuem todos os aminoácidos essenciais para os humanos e apresenta baixo custo quando comparados a outras fontes proteicas (CARRERA et al., 2011).

O aumento da população mundial tem elevado a demanda por alimentos, e o Brasil é um dos países com o maior potencial para suprir esta demanda, no qual a soja está entre os principais alimentos produzidos (ALVES et al., 2017).

Na safra 2017/2018, aproximadamente 125 milhões de hectares foram cultivados com soja no mundo. Os Estados Unidos foram responsáveis pela maior área cultivada (36.2 milhões de hectares), seguido do Brasil com 35.2 milhões de hectares. Esses dois países juntos colheram em torno de 240 milhões de toneladas, cerca de 70% da produção mundial que foi de 340 milhões de toneladas (USDA, 2018). A exportação dos produtos contidos no complexo soja (grãos, farelo e óleo) representou 40.2% do valor total das exportações do agronegócio brasileiro no ano de 2018, e gerou uma receita bruta de quase 41 bilhões de dólares (AGROSTAT, 2019).

A produtividade média nas lavouras brasileiras na safra 2017/2018 foi de 3394 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019). Contudo, rendimentos superiores a 6000 kg ha⁻¹ já são atingidos em algumas regiões produtoras. Na safra 2016/2017, o vencedor do “Desafio Nacional de Máxima Produtividade de Soja” realizado pelo Comitê Estratégico Soja Brasil (CESB) alcançou 8945 kg ha⁻¹ (CESB, 2017). Observa-se, assim, que há um grande potencial de aumento de produtividade desta cultura nos principais centros produtores (CONAB, 2017).

O nitrogênio (N) é o elemento mais extraído e exportado pela soja. Com um teor médio de 6,5% de N nas sementes, o elemento é peça chave na busca de altos rendimentos e qualidade de sementes (HUNGRIA et al., 2001). Este nutriente promove o crescimento de órgãos vegetativos e estimula o crescimento radicular (LEGHARI et al., 2016), além de ser constituinte de proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos (DNA, RNA), membranas, enzimas e vários outros compostos fundamentais para o metabolismo vegetal (KRAPP, 2015).

Para a produção de 1000 kg de grãos, a cultura da soja extrai em média 80 kg de N pela parte aérea das plantas (SALVAGIOTTI et al., 2008). Dessa forma, para rendimentos em

torno de 6000-8000 kg ha⁻¹, uma extração de cerca de 480-640 kg de N ha⁻¹ seria necessária (LA MENZA et al., 2017).

A extração e acúmulo de N pela soja dependem em geral de duas fontes: o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a absorção do N mineral presente no solo. A contribuição relativa de cada fonte é resultado de condições ambientais, manejo agrônomo e fatores genéticos (SANTACHIARA et al., 2017). Para ambientes com rendimentos superiores a 5000 kg ha⁻¹, informações inerentes à contribuição relativa das fontes são escassas (SALVAGIOTTI et al., 2008). Além disso, pouco se sabe sobre a capacidade da FBN em suprir a demanda de N das plantas em ambientes de alta produtividade, bem como o balanço do nutriente N no ambiente. Grande parte dos estudos com FBN tem focado somente na determinação do N₂ fixado na parte aérea, desconsiderando a contribuição das raízes. A contribuição da deposição radicular também deve ser levada em consideração para aumentar a precisão quanto à contribuição da FBN, bem como seu impacto no balanço de N do sistema (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). O efeito diluição no teor de proteína também foi detectado através da redução do teor com o aumento da produtividade. Determinações de 41% e 38% de proteína no grão em ambientes de rendimento de 2.500 e 6.000 kg ha⁻¹ foram relatadas por La Menza et al., 2017.

Também, a maioria dos estudos que analisam a extração de N pelas plantas de soja bem como a contribuição da FBN não particionam em seus respectivos órgãos para análise. Nesse sentido, estudos são necessários para avaliar a estequiometria deste nutriente. Ou seja, quantificar o acúmulo de nitrogênio e subsequente translocação do elemento para as sementes em formação, com o uso de cultivares adaptados aos sistemas intensivos de produção (BORTOLON et al., 2018).

Dessa forma, para garantir ganhos futuros no rendimento de sementes em soja, é necessário compreender os processos associados à absorção e assimilação de N, bem como entender a contribuição da FBN e redistribuição do N para as sementes (SANTACHIARA et al., 2017; MASTRODOMENICO; PURCELL, 2012).

1.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar a variação temporal do teor e acúmulo de N em plantas de soja.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (i) quantificar o crescimento, desenvolvimento e índice de área foliar das plantas de soja;
- (ii) determinar o teor e acúmulo de N nas diferentes partes das plantas bem como a remobilização do elemento para as sementes em formação;
- (iii) calcular as taxas de acúmulo de matéria seca e extração de N durante o ciclo da cultura;
- (iv) determinar o teor de nitrato e ureídeo na haste da soja e estimar a contribuição relativa da fixação biológica de nitrogênio;
- (v) calcular o índice de colheita de grãos e o índice de colheita de N;
- (vi) determinar o balanço de N no sistema e a influência das raízes nesse atributo;
- (vii) determinar a lacuna de N.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da soja: uso da matéria prima, composição do grão, área plantada e produção

A cultura da soja é uma das maiores fontes de proteína e óleo (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Além do uso do grão *in natura* como alimento funcional, a soja é matéria prima para produção de temperos prontos, massas, chocolate, alimentos dietéticos, leites e suco de frutas à base de soja, entre outros. Exemplos de produtos oriundos do óleo extraído da soja são: óleo de cozinha, margarinas, temperos para salada, maionese e gordura vegetal. Também, destaca-se a lecitina, a qual é um agente emulsificante muito utilizado para produzir sorvetes, salsichas, barras de cereais e produtos congelados (APROSOJA).

Com cerca de 40% de proteína no grão, a soja é também utilizada na alimentação animal, tanto para bovinos, suínos e aves (HUNGRIA et al., 2006), e a transformação de sua proteína vegetal em proteína animal é bastante importante a nível mundial. Ainda, os grãos de soja são interessantes para a alimentação humana, já que possuem todos os aminoácidos essenciais e tem um baixo custo comparado a outras fontes de proteína (CARRERA et al., 2011).

Além disso, o óleo de soja é a principal matéria-prima para a produção de biodiesel. Dos 4.289.351 m³ de biodiesel produzidos no Brasil em 2017, 3.072.446 (71.62%) foram oriundos do óleo de soja (ANP, 2018).

Aproximadamente 125 milhões de hectares foram semeados com soja na safra 2017/2018, os quais produziram 340 milhões de toneladas. Deste total, os Estados Unidos e o Brasil produziram, cada um, aproximadamente 120 milhões de toneladas, seguido pela Argentina, que produziram 37.8 milhões de toneladas (USDA, 2018). As áreas cultivadas com a soja nos Estados Unidos e Brasil foram 36.2 e 35.2 milhões de hectares, respectivamente, e a produtividade média para os EUA foi de 3.310 kg ha⁻¹ e 3.420 kg ha⁻¹ para o Brasil.

Na safra 2017/2018 no Brasil, o maior estado produtor foi Mato Grosso (MT) com 32.3 milhões de toneladas produzidas em uma área aproximada de 9.5 milhões de hectares. A segunda maior área semeada foi no Rio Grande do Sul (RS), com 5.7 milhões de hectares e uma produção de 17.2 milhões de toneladas. Já o estado do Paraná (PR) ocupou a terceira maior área plantada e segunda maior produção nacional, com 5.5 milhões de hectares e 19.2 milhões de toneladas, respectivamente. Esses três estados juntos somados ao Mato Grosso do

Sul (MS) e Goiás (GO) foram responsáveis por aproximadamente 75% da produção nacional (CONAB, 2019).

Nos últimos 20 anos, o aumento da produção nacional foi devido tanto ao aumento da área semeada quanto à elevação da produtividade. Nesse período, a área semeada foi multiplicada por dez, ao passo que a produtividade cresceu cerca de 50% (CONAB, 2017).

Embora a produtividade média das lavouras brasileiras na safra 2017/2018 foi de 3.394 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019), rendimentos superiores a 8.000 kg ha⁻¹ foram obtidos em concursos de produtividade na mesma safra. No Brasil, o “Desafio Nacional de Máxima Produtividade de Soja”, realizado pelo Comitê Estratégico Soja Brasil (CESB), indica que a produtividade média da cultura da soja tem um grande potencial de aumento (CONAB, 2017).

Tratando-se dos usos e destinos da soja brasileira, 44% são exportados via grão *in natura*, 49% vão para o processamento e 7% são mantidos em acúmulo para outros usos. Do montante destinado ao processamento, 79% é transformado em farelo, dos quais 52% são exportados e 48% são consumidos internamente para ração animal. Os 21% restantes são transformados em óleo, sendo que desses, 77% são utilizados no consumo doméstico (alimentação e biodiesel) e o restante (23%) é exportado (APROSOJA).

2.2 Estádios fenológicos referentes à cultura de soja

Tabela 1. Estádios vegetativos para a cultura da soja.

Estádio	Denominação	Descrição
V _E	Emergência	Os cotilédones estão acima da superfície do solo
V _C	Cotilédone	Os cotilédones estão totalmente abertos
V ₁	Primeiro nó	Folhas unifolioladas completamente desenvolvidas
V ₂	Segundo nó	Primeira folha trifoliolada completamente desenvolvida
V ₃	Terceiro nó	Segunda folha trifoliolada completamente desenvolvida
V ₄	Quarto nó	Terceira folha trifoliolada completamente desenvolvida
V ₅	Quinto nó	Quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida
V(n)	Enésimo nó	Ante-enésima folha trifoliolada completamente desenvolvida
R ₁	Início do florescimento	Uma flor aberta em qualquer nó da haste principal
R ₂	Florescimento pleno	Uma flor aberta em um dos 2 últimos nós da haste principal
R ₃	Início da formação da vagem	Vagem com 5 mm de comprimento num dos 4 últimos nós da haste principal
R ₄	Vagem desenvolvida	Vagem com 2 cm de comprimento num dos 4 últimos nós da haste principal
R ₅	Início do enchimento dos grãos	Grão com 3 mm de comprimento em vagem num dos 4 últimos nós da haste principal
R _{5,1}	Enchimento dos grãos	Grãos perceptíveis ao tato (equivalente a 10% de granação)
R _{5,2}	Enchimento dos grãos	Granação de 11 a 25%
R _{5,3}	Enchimento dos grãos	Granação de 26 a 50%
R _{5,4}	Enchimento dos grãos	Granação de 51 a 75%
R _{5,5}	Enchimento dos grãos	Granação de 76 a 100%
R ₆	Grão cheio ou completo	Vagem contendo grãos verdes preenchendo as cavidades da vagem de um dos 4 últimos nós do caule
R ₇	Início da maturação	Uma vagem normal no caule com coloração madura
R ₈	Maturação plena	95% das vagens com coloração madura

Fonte: Fehr; Caviness (1977); Ritchie et al. (1977)

2.3 Nitrogênio: Ocorrência, funções biológicas e assimilação

Cerca de 80% do ar atmosférico é composto de nitrogênio (N) na forma de N₂. Contudo, a tripla ligação entre os átomos presentes na molécula do N₂ torna-o extremamente estável e não disponível para as plantas. Bactérias de vida livre e algumas que fazem associações simbióticas com plantas são capazes de fixar este N₂ e transformá-lo em NH₄⁺, tornando-o disponível para a assimilação pelas plantas (MAATHUIS, 2009), fenômeno esse denominado de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN).

Com exceção das leguminosas que podem fixar o N₂ atmosférico, as plantas utilizam principalmente o nitrato (NO₃⁻) e o amônio (NH₄⁺) oriundos da matéria orgânica do solo. Absorção de aminoácidos ou peptídeos pode ser fonte de N em situações específicas, mas tem pouca importância em sistemas agrícolas. A utilização dessas formas para as plantas envolvem absorção, assimilação, translocação, reciclagem e remobilização. Essas etapas precisam ser reguladas e integradas com outros processos metabólicos durante o desenvolvimento das plantas (KRAPP, 2015).

O N é um elemento essencial para todos os organismos, já que é constituinte de proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos (DNA, RNA), membranas, ATP, NADH, enzimas, pigmentos fotossintetizantes como a clorofila, metabólitos secundários e vários outros compostos indispensáveis para o metabolismo vegetal (KRAPP, 2015). Além disso, o N promove o crescimento de estruturas vegetativas como folhas e hastes, bem como estimula o crescimento radicular. O elemento também melhora da qualidade de frutos, aumenta o teor de proteína na biomassa de culturas forrageiras e favorece o crescimento de vegetais folhosos (LEGHARI et al., 2016).

O N presente nas folhas das plantas ocorre principalmente na forma da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), responsável pela assimilação do CO₂ atmosférico, e, geralmente, observa-se grande relação entre a quantidade de N por unidade de área foliar e a fotossíntese (SINCLAIR, 2004). Portanto, a cultura deve possuir um dossel que permita a máxima interceptação luminosa bem como um suficiente conteúdo de N nas folhas. Assim, o aparato fotossintético não limitado pelo N é capaz de melhor converter a radiação em biomassa e, eventualmente, em ganho de produção (SALVAGIOTTI et al., 2008).

O N nos solos brasileiros ocorre principalmente na forma de nitrato (NO₃⁻) devido à presença de bactérias nitrificadoras que transformam o N-orgânico em N-mineral que depois é reduzido para NH₄⁺ dentro da planta antes de ser assimilado e metabolizado. Essa redução envolve duas enzimas importantes: A nitrato redutase, (transformação de NO₃⁻ para NO₂⁻) e a nitrito redutase (redução do NO₂⁻ à NH₄⁺) (MAATHUIS, 2009). Parte do NO₃⁻ absorvido é reduzido nas raízes, sendo que o restante é transportado para a parte aérea via xilema para então ser reduzido nas folhas. Se a concentração de NO₃⁻ no meio for muito elevada, o mesmo é temporariamente estocado nos vacúolos das células do córtex das raízes (OHYAMA, 2010). O NH₄⁺ é então metabolizado à glutamato via glutamina sintetase (GS) e glutamato sintetase (GOGAT). Uma vez que o NH₄⁺ é assimilado para glutamato via GS-GOGAT, enzimas denominadas aminotransferases podem transferir o grupo amina do glutamato para outros ácidos, e assim outros aminoácidos podem ser sintetizados. Esse fenômeno tem extrema importância no metabolismo das plantas, já que proteínas são sequências de aminoácidos conectados por ligações peptídicas, e geralmente representam cerca de 80% do N presente nas plantas (OHYAMA, 2010).

2.4 Nitrogênio em soja – Extração, exportação e balanço de nitrogênio

O N é o elemento requerido em maior quantidade pela cultura da soja, já que os grãos são ricos em proteínas apresentando um teor médio de 6.5% de N, o que torna o elemento peça chave na busca de altos rendimentos (HUNGRIA et al., 2001). Nesse sentido, para a produção de 1.000 kg de grãos torna-se necessária a extração de aproximadamente 80 kg de N na parte aérea pelas plantas (SALVAGIOTTI et al., 2008). Deste montante, cerca de 65 kg de N são exportados por tonelada produzida, e 15 kg de N ficam retidos em folhas, caule e raízes (restos de cultura). Da mesma forma, para uma produtividade hipotética de 3.000 kg ha⁻¹ é necessária a extração de pelo menos 240 kg de N ha⁻¹ pelas plantas, sendo 195 kg de N exportados pelos grãos (HUNGRIA et al., 2001). Assim, em áreas com produtividades em torno de 6.000-8.000 kg ha⁻¹, cerca de 480-640 kg N ha⁻¹ precisariam ser acumulados pelas plantas (LA MENZA et al., 2017).

Observa-se, portanto, que a cultura da soja apresenta correlação positiva entre produtividade de grãos e a assimilação de N (SALVAGIOTTI et al., 2008; ROTUNDO et al., 2014), e apresenta maior necessidade do elemento quando comparada a outras leguminosas e cereais (SINCLAIR; DE WIT, 1975).

O fornecimento deste N é atribuído aos seguintes fatores: ao solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica e posterior mineralização do N; aos fertilizantes nitrogenados; ao processo de fixação biológica do N (FBN) atmosférico (N₂) e à fixação não biológica, resultante de descargas elétricas na atmosfera, combustão e vulcanismo (HUNGRIA, et al., 2001).

Informações sobre a contribuição relativa da FBN e o N mineral do solo são escassas para ambientes de rendimento superior a 5.000 kg ha⁻¹ (SALVAGIOTTI et al., 2008). Para esta produção hipotética, aproximadamente 390 kg N ha⁻¹ seriam requeridos. Alta extração de N é necessária para cultivares de alta produtividade, sendo que o elemento pode ser adquirido sob diferentes combinações da FBN e do N mineral do solo. A contribuição relativa das fontes de N para a cultura é resultante de condições ambientais, manejo agrônomo e fatores genéticos (SANTACHIARA et al., 2017).

Na cultura da soja, a contribuição do N oriundo da FBN varia de 0 a 98%, o que depende de vários fatores, sendo o mais importante deles a atividade das bactérias fixadoras (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Estudo realizado na Argentina com 70 cultivares de soja revelou contribuição da FBN entre 60-78% (SANTACHIARA et al., 2017). Em uma meta análise baseada em observações de 108 artigos publicados entre os anos de 1966 a 2006

com nitrogênio em soja, 50-60% do N demandado pela cultura foi oriundo da FBN (SALVAGIOTTI et al., 2008). No Brasil, experimentos realizados por três anos no estado do Paraná (PR) revelaram que até 80% do N extraído por dois cultivares de soja foram oriundos da FBN (HUNGRIA et al., 2006).

A necessidade da medição da fixação do N_2 via FBN é definida em quatro aspectos: 1) Verificar a capacidade genotípica da planta; 2) Determinar se práticas de manejo afetam a fixação do N_2 ; 3) Quantificar o montante de N_2 fixado por determinada cultura e 4) determinar a importância da fixação do N_2 para o funcionamento de um ecossistema (UNKOVICH et al. 2008). A estimativa da FBN em sistemas intensivos de agricultura é essencial para se entender a dinâmica do N e determinar o balanço e demanda das culturas (LANDRISCINI et al., 2018).

Na cultura da soja, o balanço parcial de nitrogênio (N fixado na parte aérea subtraído do N exportado pelos grãos) é um índice que pode inferir sobre perspectivas futuras para o N contido no solo. Balanço parcial negativo indica que o montante de N exportado pela colheita dos grãos é maior do que o N fixado pelas plantas, então uma redução do N do solo pode ocorrer. Em contrapartida, um balanço parcial positivo demonstra uma situação na qual a contribuição da fixação do N_2 excede o montante de N exportado pelos grãos, o que resulta em um saldo positivo de N para o solo (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018).

Na maioria dos casos, o montante de N fixado pela soja não é suficiente para repor o N exportado nas colheitas. Considerando somente o N fixado na parte aérea das plantas, o balanço parcial de N foi negativo em 80% do conjunto de dados, com média de $-40 \text{ kg de N ha}^{-1}$ (SALVAGIOTTI et al., 2008).

Em outro estudo de revisão voltado para rendimento de grãos, contribuição da FBN (%) e absorção de N pelas plantas, Ciampitti; Salvagioti (2018) reuniram dados de 60 estudos conduzidos no período de 1955 a 2017. Os autores encontraram média geral para o balanço parcial de N de -47 kg N ha^{-1} . Nas áreas com eficiência da FBN em torno de 0-44%, o balanço foi ainda mais negativo ($-100 \text{ kg N ha}^{-1}$), sendo que somente 3% dos locais estudados tiveram balanço positivo de N. O cenário muda em locais onde a eficiência da FBN é superior a 72%: A média do balanço parcial de N foi de $-3.4 \text{ kg N ha}^{-1}$, e 40% das observações tiveram balanço parcial positivo. Ressalta-se que esses resultados são referentes ao acúmulo de N observado na parte aérea das plantas, já que a maioria dos estudos não considerou a contribuição das raízes. Elevada eficiência da FBN é fator chave para balanço de N no

sistema, de modo que aproximadamente 80% de eficiência foi necessária para manter o balanço neutro (SANTACHIARA et al., 2017).

Em lavouras de soja de alta produtividade, há incerteza se a FBN é capaz de suprir a demanda em N das plantas mantendo um balanço parcial neutro de N (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Contudo, é de se esperar que o balanço de N nessas áreas tende a ser ainda mais negativo, já que se trata de um grande montante de N exportado pelos grãos (SALVAGIOTTI et al., 2008).

As estimativas de fixação do N_2 por leguminosas no campo são subestimadas pela ausência de dados sobre o N retido nas raízes, nódulos e exsudatos radiculares. A maioria das estimativas baseia-se somente na biomassa vegetal acima do solo. Como grande parte deste N é exportado nos grãos, a contribuição radicular não pode ser desprezada no cálculo do balanço de N (KESSEL; HARTLEY, 2000).

No futuro, os cálculos de balanço parcial de N no sistema devem considerar o N presente nas folhas que caem da planta devido à senescência, bem como a contribuição das raízes. Assim, será possível quantificar com maior precisão o balanço do N (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018).

A “lacuna de N” é um termo utilizado para abordar o N extraído pela cultura da soja não oriundo da FBN. A lacuna aumentou consideravelmente quando a extração total das plantas foi maior que 370 kg N ha^{-1} , sugerindo a necessidade de fontes adicionais para o suprimento de N (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). De forma geral, este indicador tende a aumentar em áreas de alto rendimento, já que a demanda em N é maior (SALVAGIOTTI et al., 2008).

Melhor entendimento da lacuna de N pode permitir o desenvolvimento de práticas de manejo que aumentem ainda mais a produtividade e rentabilidade da soja. O uso de bactérias fixadoras altamente adaptadas a ambientes de alta produtividade, rotação de culturas com leguminosas e o uso de fertilizantes nitrogenados de liberação lenta são algumas das alternativas (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018).

2.5 Partição de nitrogênio em soja

Independente do rendimento, o acúmulo de nutrientes na cultura da soja ocorre em três fases distintas: 1) Baixa taxa de assimilação até 30 dias após a emergência; 2) Máximas

taxas de assimilação entre R_2 e R_5 ; e 3) Redução no acúmulo de nutrientes próximo a maturação (HARPER, 1971). George; Singleton (1992), por exemplo, encontraram baixo acúmulo de N em plantas de soja durante o período vegetativo, seguido de rápida assimilação de N a partir do início da fase reprodutiva.

Em estudo de partição de carbono e N em soja, um comportamento similar foi determinado no acúmulo de N nas diferentes partes da planta no decorrer do ciclo da cultura (SRIVASTAVA et al., 2006). Foi observado máximo acúmulo de N no florescimento para raízes, haste e folhas, com posterior decréscimo nas concentrações à medida que a maturação se aproximou. Resultados similares foram encontrados por Pal; Saxena (1976), onde a concentração de N nos órgãos vegetativos (hastes, folhas e pecíolos) decresceu com o avanço do ciclo da cultura. Nas vagens, a concentração de N aumentou com o passar do ciclo, provavelmente pela continuação da assimilação bem como a remobilização do elemento das partes vegetativas. Também, concentrações máximas de N nas folhas e hastes durante o início do enchimento dos grãos foram encontrados, mas com decréscimo linear durante o desenvolvimento das sementes (MASTRODOMENICO et al., 2012).

Para sustentar a alta demanda de N das sementes, a soja acumula o elemento nas partes vegetativas (hastes, pecíolos e folhas) e remobiliza o mesmo para os grãos durante a fase de granação (GASPAR et al., 2017). A remobilização do N (%) é definida pela proporção do N das sementes oriundo de estruturas vegetativas em R_5 (ROTUNDO et al., 2014).

Sugere-se que a remobilização de N das partes vegetativas para as sementes pode representar de 30 a 100% do N total das sementes (ZEIHER et al., 1982). Foi reportado valores médios entre 66-69% de remobilização de N após $R_{5.5}$ dos órgãos vegetativos para as sementes em formação (Gaspar et al., 2017). Em adição, remobilização total de N de 59% foi reportada, sendo 65% remobilizado das folhas e 32% de hastes (BENDER et al., 2015).

O índice de colheita de N (ICN) representa uma relação entre o conteúdo total de N nos grãos e o N acumulado na parte aérea das plantas em R_8 (KOUTROUBAS et al., 1998). Uma forma de aumentar o conteúdo de N nos grãos e consequentemente o ICN seria aumentar a remobilização de N dos órgãos vegetativos das plantas através do melhoramento genético (TAMAGNO et al., 2017).

Um valor médio de ICN de 73% foi encontrado por Bender et al. (2015) em áreas de rendimento médio de 3.480 kg ha^{-1} . Em ambientes mais produtivos ($\sim 4340 \text{ kg ha}^{-1}$), Mastrodomenico et al. (2012) determinaram valores de 86%. No estudo de Gaspar et al. (2017), os autores encontraram média de ICN de 82.1% para ambientes de baixo rendimento

(3.000 kg ha⁻¹), 83.3% para médio (4.500 kg ha⁻¹) e 84.1% para alto (6.000 kg ha⁻¹) e sugeriram que a medida que o rendimento aumenta, o mesmo acontece com o ICN.

2.6 Fixação biológica de nitrogênio

A FBN é o segundo processo biológico mais importante na terra, e está atrás somente da fotossíntese. Neste evento, um número considerável de espécies de bactérias usa a enzima nitrogenase para converter o N₂ em amônia (NH₃) (UNKOVICH et al., 2008). Posteriormente, a abundância dos íons H⁺ no interior das células bacterianas leva a redução da amônia (NH₃) em amônio (NH₄⁺), sendo este distribuído para a planta hospedeira e incorporado em diversas formas de N-orgânico, como os ureídeos, aminoácidos e amidas (HUNGRIA, et al., 2001). Desta forma, o gás N₂ não reativo passa a fazer parte do ciclo global do N (UNKOVICH et al., 2008). Estima-se que a FBN contribui com cerca de 50-70 milhões de toneladas de N por ano na agricultura, e é a mais importante fonte de N nos agroecossistemas (HERRIDGE et al., 2008).

A soja é uma planta nodulífera que pertence à família das Fabáceas. Suas raízes, além de exercerem as funções normais (ancoragem física, absorção de água e elementos minerais em solução), podem estabelecer relação simbiótica com espécies de bactérias capazes de fixar o nitrogênio molecular (N₂) presente no ar (CÂMARA, 2014).

Bradyrhizobium é um dos gêneros que possui espécies de bactérias fixadoras de N₂, que vivem em simbiose mutualística com vegetais superiores. Essas bactérias possuem crescimento lento e não são autotróficas, e necessitam de fonte de carbono de outros compostos orgânicos, e assim vivem saprofiticamente no solo com organismos de vida livre ou em simbiose muito específica com vegetais, como é o caso da soja (CÂMARA, 2014). As estirpes bacterianas recomendadas para inoculação da soja mais frequentes no Brasil são SEMIA 5079 e SEMIA 5080, da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, e SEMIA 587 e SEMIA 5019, da espécie *Bradyrhizobium elkanii* (MENDES et al., 2014).

Para a maioria das técnicas de estimativa da eficiência da FBN, três parâmetros devem ser mensurados para se estimar a quantidade de N fixado: matéria seca das plantas, concentração de N na matéria seca (%N) e a porcentagem do N total da planta derivado da FBN (%N_{dda}) (UNKOVICH; PATE, 2000).

A quantidade de N₂ fixado é controlada por quatro fatores principais: 1) A efetividade da simbiose entre as bactérias e a planta hospedeira; 2) A habilidade de a planta

acumular N; 3) O conteúdo de N mineral disponível no solo e 4) Restrições ambientais para o processo de fixação do N_2 (KESSEL; HARTLEY, 2000), tais como temperatura, umidade e acidez do solo (CÂMARA, 2014). Além disso, a qualidade, transporte e armazenamento do inoculante bem como a ausência de impedimentos físicos ao desenvolvimento radicular das plantas são fatores importantes (CÂMARA, 2014).

Muito tem sido escrito sobre a importância de aproveitar a fixação biológica de N_2 para fornecer uma fonte renovável de N para proteína humana e animal, desenvolver sistemas agrícolas mais sustentáveis e manter ecossistemas naturais. Esse processo pode contribuir diretamente para a produção agrícola por fornecer N às folhas, vagens, sementes e tubérculos que por sua vez podem ser utilizados para alimentação animal ou humana. Também, a fixação de N é uma fonte importante do elemento para os solos agrícolas, já que boa parte dos resíduos da parte aérea das plantas, ricos em N, permanecem no solo após a colheita do produto agrícola (UNKOVICH et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área

A pesquisa foi realizada em área experimental no município de Piracicaba (SP) ($22^{\circ} 41' 30''$ S e $47^{\circ} 38' 30''$ O, altitude 546 m).

O solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico argiloso (HEIFFIG, 2002). O clima da região é Cwa, com verão chuvoso e estiagem de inverno (KÖPPEN, 1948). A temperatura média anual fica em torno de $21,4^{\circ}\text{C}$. A precipitação média anual é de 1257 mm (SENTELHAS; PEREIRA, 2000).

3.2 Delineamento experimental e atributos do solo

A área experimental foi de um talhão homogêneo constituído por 60 parcelas idênticas para coleta de amostras de planta ao longo do tempo. Cada uma foi composta por cinco linhas de quatro metros de comprimento espaçadas em 0,45 m nas entrelinhas (Figura 1). A área útil de cada parcela foi composta pelas três linhas centrais.

Figura 1. (A) Arranjo das 60 parcelas na área experimental e (B) Esquema mostrando uma única parcela com suas dimensões na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Foram caracterizados atributos físicos e químicos do solo nas profundidades 0-20 e 20-40 cm (Tabela 2). O preparo do solo foi efetuado cinco dias antes da semeadura da cultura por meio de uma gradagem e uma subsolagem.

Figura 2. (A) Área experimental do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP após o preparo do solo e antes da semeadura da soja e (B) semeadura da cultura da soja realizada no dia 10/10/2017 na área experimental do Departamento de Fitotecnia.

Tabela 2. Atributos químicos do local do experimento na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Parâmetro	Unidade	Método	0 - 20 cm	20 - 40 cm
pH	-	CaCl ₂	5,7	5,5
H + Al	cmol _c dm ⁻³	Ca(OAc) ₂ 0,5 mol L ⁻¹	2,8	2,8
Al	cmol _c dm ⁻³	KCl 1 mol L ⁻¹	0	0
Ca ²⁺	cmol _c dm ⁻³	KCl 1 mol L ⁻¹	3,6	3,3
Mg ²⁺	cmol _c dm ⁻³	KCl 1 mol L ⁻¹	1,7	1,3
K ⁺	cmol _c dm ⁻³	KCl 1 mol L ⁻¹	0,53	0,32
P	mg dm ⁻³	Resina	30	11
SO ₄ ⁻	mg dm ⁻³	Fosfato monocalcico	7	25
B	mg dm ⁻³	Água quente	0,39	0,29
Fe	mg dm ⁻³	DTPA	12	9
Mn	mg dm ⁻³	DTPA	11,2	6,5
Zn	mg dm ⁻³	DTPA	2,3	1,3
Cu	mg dm ⁻³	DTPA	3,9	3,0
Matéria Orgânica	%	Walkley-Black	0,9	0,7
SB	cmol _c dm ⁻³	-	5,8	4,9
CTC	cmol _c dm ⁻³	-	8,6	7,7
V%	%	-	68	64
m%	%	-	0	0
Argila (<0,002mm)	g kg ⁻¹	-	514	-
Silte (0,053 -0,002mm)	g kg ⁻¹	-	146	-
Areia total (0,053-2mm)	g kg ⁻¹	-	340	-

3.3 Semeadura da soja e tratos culturais

Foi utilizada a cultivar de soja RK7518 IPRO, com hábito de crescimento indeterminado, ciclo médio e grupo de maturação 7.5. A semeadura foi realizada no dia 10/10/2017 com taxa de semeadura de 300.000 sementes por hectare. Um dia antes do plantio, as sementes foram tratadas com Fipronil (250 g L^{-1}), Piraclostrobina (25 g L^{-1}) e Tiofanato-metílico (225 g L^{-1}) na dose de $2,0 \text{ mL kg}^{-1}$ de sementes. Duas horas antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 5019) na concentração de 5×10^9 células mL^{-1} . Adubação de base foi equivalente à 20, 70 e 40 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 e K_2O , respectivamente. As sementes foram alocadas no solo em uma profundidade de 3-5 cm, sendo o fertilizante a 8 cm da superfície do solo. Plantas daninhas, insetos praga e doenças foram adequadamente controlados.

Em R_1 foi realizada uma contagem em quatro pontos aleatórios de 20 metros de comprimento na área útil para determinar a densidade de plantas que foi de $14 \text{ plantas m}^{-1}$ ou $311.000 \text{ plantas ha}^{-1}$.

Para garantir a alta disponibilidade de água para a cultura, nos períodos sem chuva foi acionado sistema de irrigação via pivô central. Foram adicionados à cultura lâminas de 7 mm de água, a cada dois dias na ausência de precipitação (Figura 4).

3.4 Avaliações de crescimento

As plantas de soja foram coletadas em parcelas sorteadas, com 6 repetições, com o auxílio de uma pá, buscando-se retirar o máximo possível de raízes juntamente da parte aérea. O instrumento foi alocado há aproximadamente três centímetros do colo da planta e submetido à 30 centímetros solo adentro. Nove coletas ocorreram durante o ciclo da cultura nos estádios fenológicos V_E , V_4 , V_8 , R_1 , R_2 , R_4 , $R_{5.2}$, R_6 , e R_8 (Tabela 3), e foi realizada apenas uma coleta por parcela ao longo do ciclo. Dentro da área útil de cada parcela coletaram-se aleatoriamente três plantas de soja. As plantas coletadas foram separadas em raiz, haste, folhas e vagens (quando presentes). Os pecíolos foram considerados junto das folhas. As raízes foram lavadas, e a área das folhas foi avaliada pelo integrador de área foliar (modelo LICOR LI-3000). Utilizou-se o valor médio da área foliar das três plantas coletadas

por parcela e a área que uma única planta ocupava no solo, para estimar o índice de área foliar (IAF) para os estádios V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆.

Os órgãos separados das três plantas por repetição foram submetidos à secagem em estufa de fluxo de ar à 60°C por 72 horas. Foi determinada a massa seca total de cada órgão, e após isso as amostras foram moídas em 0,1 mesh.

O acúmulo de matéria seca dos órgãos foi calculado através da multiplicação da massa seca de cada órgão da planta pela densidade de plantas em R₁. Através da soma do acúmulo de matéria seca dos órgãos, estimou-se o acúmulo total de MS da planta.

Tabela 3. Data das coletas, dia após a emergência das plantas e estágio fenológico correspondente na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Data	DAE	Estádio Fenológico
18/10/2017	5	V _E
30/10/2017	17	V ₄
17/11/2017	35	V ₈
21/11/2017	39	R ₁
28/11/2017	46	R ₂
22/12/2017	70	R ₄
8/1/2018	87	R _{5.2}
7/2/2018	117	R ₆
27/02/2018	137	R ₈
2/3/2018	140	Colheita

3.5 Extração, análise de nitrato (NO₃⁻) e ureídeos e nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA)

A amostra moída de haste seca foi peneirada em malha 0,1 mm. Foram pesadas 0,1 g por amostra nos estádios V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆ e adicionada em tubo falcon de 15 mL. Posteriormente, 10 mL de água milliQ foram adicionados em cada tubo. Os exemplares foram submetidos a banho-maria (45°C) por 60 minutos e então centrifugados a 10000 RPM por 15 minutos. Feito isso, o sobrenadante foi recolhido com o auxílio de uma pipeta e armazenado em geladeira até o momento das análises.

A quantificação de nitrato (N-NO₃⁻) foi realizada através do método proposto por Cataldo et al. (1975). Para este procedimento, foram adicionados a um tubo de ensaio 50 µL da amostra e 200 µL de solução contendo ácido salicílico 5% + ácido sulfúrico concentrado. Os tubos permaneçam em repouso durante 20 minutos e, após esse período foi adicionado

4,75 mL de NaOH 2 mol L⁻¹. A solução foi agitada vigorosamente e após 10 minutos realizou-se leitura em espectrofotômetro a 410 nm. Os teores de nitrato foram obtidos a partir de curva padrão de KNO₃ (25mM), e os dados expressos em mM [N-NO₃⁻] g⁻¹ [MS].

O teor de ureídeos (N-Ureídeos) foi determinado com base no método proposto por Young; Conway (1942). Para isso, 1 mL da amostra foi adicionada a tubo de ensaio, com posterior adição de 200 µL de NaOH 0,5 N. Essa solução foi colocada em banho-maria (100°C) durante dez minutos. Após esse procedimento, foram adicionados 400 µL de solução contendo HCl 0,65N + Cloridrato de Fenil-hidrazina 0,33%. A solução homogeneizada foi novamente para banho-maria (100 °C) durante dois minutos. Em seguida, os tubos foram colocados em banho de gelo por 15 minutos. Feito isso, adicionou-se 1 mL de solução contendo ferrocianeto de potássio 1,67% + HCl 10N. Os tubos foram agitados vigorosamente, e após 10 minutos foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 525 nm. Os teores de ureídeos foram obtidos a partir de curva padrão de alantoína 1 mM, e os dados expressos em mM [N-Ureídeos] g⁻¹ [MS].

O nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA) (%) foi estimado através da seguinte relação: N-Ureídeo/(N-Ureídeo + N-NO₃⁻) (HERRIDGE, 1982). Os valores de NDDA ao longo do ciclo da cultura foram ajustados em gráfico de dispersão.

3.6 Nitrogênio total

Para análise do N-total (NT), amostras compostas de raízes, folhas, hastes e vagens (somente estádios reprodutivos) foram preparadas. A determinação ocorreu para os órgãos das plantas coletadas nos estádios V₈, R₂, R₄ e R₆. O método utilizado foi o da combustão seca (KEENEY; BREMNER, 1967). Com os dados obtidos foi gerado um modelo polinomial e obtida a equação da reta para a estimativa do teor de N para os órgãos nos demais estádios fenológicos estudados. Também, através do teor de NT nos grãos secos de soja estimou-se o teor de proteína bruta dos mesmos assumindo teor de 16% de N na proteína. Através da massa seca de cada órgão e o teor de N nos mesmos, estimou-se o acúmulo de N nos órgãos da planta em todos os estádios fenológicos estudados. Somando os acúmulos de N nos órgãos, calculou-se o acúmulo total de N por hectare. A remobilização de N das hastes e raízes foi estimada pela diferença de acúmulo de N nos órgãos entre R_{5.2} e R₈ (ROTUNDO et al., 2014).

3.7 N oriundo da FBN, balanço parcial de N, lacuna de N e índice de colheita de N

Estimou-se o N oriundo da FBN pela multiplicando do NDDA (%) pelo acúmulo total de N por hectare na planta. O balanço final de N foi determinado subtraindo o máximo montante de N oriundo da FBN pelo total de N exportado pelos grãos em kg ha^{-1} . A lacuna de N foi calculada pela subtração do acúmulo total de N na planta em R_6 pelo total de NDDA (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Já o índice de colheita aparente de N foi calculado pela relação entre o montante de N exportado pelos grãos na colheita e o acúmulo total de N na parte aérea das plantas em R_8 (BENDER et al., 2015). Também, outro índice foi determinado considerando o acúmulo de N nas raízes em R_8 .

3.8 Colheita, Produtividade final e índice de colheita

No dia 02/03/2018 foram colhidos 5.4 m^2 que corresponderam à área útil de cada parcela. Todas as parcelas foram colhidas. Foi determinada a produtividade de grãos, e o valor foi corrigido para 13% de umidade. Dois índices de colheita foram determinados: i) Através da relação entre a massa total de grãos secos pela massa total da parte aérea em R_8 por hectare e ii) Pela relação entre a massa total de grãos secos colhidos pelo acúmulo de matéria seca na planta por inteira em R_8 .

3.9 Dados climáticos e balanço hídrico

Os dados de temperatura e precipitação foram coletados de estação meteorológica localizada a aproximadamente 1 km do experimento. Os dados de radiação fotossinteticamente ativa RFA (MJ m^{-2}) foram obtidos em uma estação meteorológica instalada no próprio local do experimento. Foi determinado o balanço hídrico sequencial, pelo método de Thornthwaite; Mather (1955); com base na planilha de Rolim et al., (1998). Através da temperatura média diária durante o ciclo da cultura, determinou-se o acúmulo de graus dia considerando a temperatura basal de 10°C .

Figura 3. Radiação fotossinteticamente ativa, temperatura máxima, temperatura mínima e temperatura média na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Figura 4. Precipitação e lâminas de irrigação distribuídas na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Figura 5. Balanço Hídrico: Precipitação + lâmina de irrigação acumuladas (mm), evapotranspiração potencial (mm) e evapotranspiração real (mm) representadas nos decêndios na Safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Figura 6. Balanço Hídrico mostrando o excedente (mm) e deficiência de água (mm) representada nos decêndios na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Figura 7. Graus dia acumulado em relação aos dias após a emergência da cultura da soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

3.10 Análise estatística e modelagem dos dados

Os dados de acúmulo total de matéria seca e N foram ajustados em modelo matemático utilizando o software Table Curve 2D. Os dados de NO_3^- , ureídeo e NDDA foram submetidos a análise de variância com posterior teste de Tukey a 95% de significância. O software utilizado foi o R 3.5.0.

Para o cálculo do acúmulo de massa de matéria seca total ou da extração total de N (Y , kg ha^{-1}), foi utilizado o seguinte modelo sigmoidal:

$$Y = \frac{a}{1 + e^{-\frac{(t-b)}{c}}} \quad 1)$$

Em que **a**, **b** e **c** são parâmetros empíricos obtidos através do ajuste dos dados pelo Programa Table Curve 2D. Portanto, a taxa de acúmulo de massa de matéria seca total ou taxa de extração de nitrogênio (dY/dt , $\text{kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$) foi calculada através da primeira derivada dY/dt , a saber:

$$\frac{dY}{dt} = \frac{a \cdot e^{-\frac{(t-b)}{c}}}{c \cdot \left[1 + e^{-\frac{(t-b)}{c}} \right]^2} \quad 2)$$

Sendo Y uma sigmoidal, sua derivada tem formato de sino, mostra que a taxa de extração de N passa por um máximo. As coordenadas desse máximo podem ser obtidas igualando a segunda derivada d^2Y/dt^2 a zero. A segunda derivada é:

$$\frac{d^2Y}{dt^2} = \frac{a \cdot e^{-\frac{(t-b)}{c}} \cdot \left\{ 2 \cdot e^{-\frac{(t-b)}{c}} - \left[1 + e^{-\frac{(t-b)}{c}} \right] \right\}}{c^2 \cdot \left[1 + e^{-\frac{(t-b)}{c}} \right]^3} \quad 3)$$

Fazendo $d^2Y/dt^2 = 0$ verifica-se que o momento (t , dias após a emergência) em que ocorre a máxima taxa de acúmulo é:

$$t = b \quad 4)$$

e que a máxima taxa de acúmulo $M_{\max}$ pode ser calculada no momento b :

$$M_{\max} = \frac{dY}{dt} \left(\frac{d^2Y}{dt^2} = 0 \right) = \frac{a}{4 \cdot c} \quad 5)$$

Bem como a massa de matéria seca total (MST, kg ha^{-1}), ou extração total de nitrogênio Y , pode ser assim calculada no momento b :

$$Y \left(\frac{d^2Y}{dt^2} = 0 \right) = \frac{a}{2} \quad 6)$$

e

$$\lim_{t \rightarrow \infty} Y = a \quad 7)$$

Figura 8. Acúmulo de massa de matéria seca total ou de N total [linha contínua], taxa de acúmulo de massa de matéria seca ou de N [linha tracejada] e máxima taxa de acúmulo de massa de matéria seca ou de nitrogênio em função do tempo na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Acúmulo e partição de matéria seca

A matéria seca média total e fracionada ao longo dos estádios fenológicos estão representadas na Tabela 4 e Figura 9. As raízes apresentaram crescimento em massa até o estádio R_{5.2} com posterior declínio nos estádios R₆ e R₈. Com relação ao crescimento de haste, lento incremento em massa foi observado até o florescimento pleno (R₂). Após este estádio, o acúmulo de matéria seca aumentou, sendo a máxima massa encontrada em R₈ (16.45 g planta⁻¹). Tratando-se das folhas, máxima massa foi encontrada no estádio R_{5.2}, seguida de significativa redução em R₆ e ausência de massa em R₈. Como esperado, máxima massa de vagens ocorreu em R₈ (37.6 g planta⁻¹). A taxa de acúmulo total de matéria seca foi baixa nos primeiros estádios fenológicos e aumentou substancialmente até os 76 DAE, momento cujo máximo acúmulo diário foi determinado da ordem de 340 kg ha⁻¹ d⁻¹ ou 1.09 g planta⁻¹ d⁻¹. Após o ocorrido, a taxa de acúmulo de MS voltou a se reduzir (Figura 10). Também neste dia, 50% da MS total da planta havia sido acumulada. Esta última informação corrobora com o encontrado por Gaspar et al. (2017), que também determinou 50% da produção de MS logo após R₄.

Figura 9. Massa de matéria seca por planta de soja dos órgãos e total nos estádios fenológicos V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2}, R₆ e R₈ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Tabela 4. Massa de matéria seca por planta de soja e acúmulo por área dos órgãos e total nos estádios fenológicos V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2}, R₆ e R₈ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Estádio F.	V _E	V ₄	V ₈	R ₁	R ₂	R ₄	R _{5.2}	R ₆	R ₈
Órgão	g planta⁻¹								
Raiz	0.014	0.13	1.27	1.44	1.98	3.04	6	4.9	3.46
Haste	0.028	0.15	1.4	1.61	2.24	7.76	15.5	15.9	16.45
Folha	0.07	0.32	2.5	2.97	3.96	7.51	14.28	8.86	0
Órgão Reprodutivo	0	0	0	0.02	0.063	0.95	8.59	29.5	37.6
Total	0.11	0.6	5.17	6.04	8.24	19.3	44.4	59.2	57.5
	kg ha⁻¹								
Raiz	4.3	40.4	395	448	616	945	1866	1524	1076
Haste	8.7	46.6	435	501	697	2413	4820	4944	5115
Folha	21.7	99.5	777	923.7	1231	2335	4441	2755	0
Órgão Reprodutivo	0	0	0	6.5	19.6	295	2671	9174	11693
Total	34.7	187	1607	1878	2563	5988	13798	18397	17884
Total parte aérea	30.4	146	1212	1430	1947	5043	11932	16873	16808

*Órgão Reprodutivo se refere à Flor em R₁ e R₂ e à vagem nos demais estádios fenológicos.

Figura 10. Acúmulo de massa de matéria seca [linha contínua] e taxa de acúmulo de massa de matéria seca [linha tracejada] em plantas de soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Tabela 5. Parâmetros (P) empíricos a (kg ha^{-1}), b (d) e c, erro padrão (E), intervalo de confiança (95%), referentes ao modelo logístico (Equação 1) para o cálculo da massa de matéria seca total e taxa de acúmulo da massa de matéria seca total.

P	Valor	E	t	IC		$P > t $
				Mínimo	Máximo	
a	18.801,597	801,629	23,454	16.840,081	20.763,113	<0,00001
b	76,051	2,547	29,857	69,818	82,284	<0,00001
c	13,815	1,999	6,911	8,924	18,707	0,00045

$R^2=0.9897784539$. $R^2_{aj} = 0.9836455262$. $F = 290.49767349$.

O comportamento do incremento de massa seca dos órgãos vegetativos da planta pode estar relacionado ao hábito de crescimento indeterminado, já que após o início do florescimento (R_1) a planta continua seu crescimento vegetativo (RITCHIE et al., 1975). A queda de matéria seca nas raízes a partir de $R_{5.2}$ faz parte da senescência programada, uma vez que após este estágio a absorção de nutrientes bem como a atividade da FBN decrescem substancialmente. Já a redução da matéria seca de folhas a partir de $R_{5.2}$ é associada à queda das folhas a medida que a planta se encaminha para a maturidade fisiológica, bem como à translocação de fotoassimilados para as vagens, o que explica o aumento gradativo da massa de vagens até R_8 .

Após R_6 as vagens continuaram acumulando MS, provavelmente nos órgãos situados no terço superior da planta (Tabela 4). Essa informação é relevante se pensarmos no manejo da dessecação pré-colheita. Embora a dessecação traga alguns benefícios como uniformidade para colheita, controle de plantas daninhas para a cultura em sucessão e antecipação da semeadura da cultura sucessora, fica evidente que de R_6 para R_8 ainda ocorre certo incremento de MS nas vagens, e a realização de uma dessecação precoce prejudicaria o enchimento desses órgãos no final do ciclo da planta, prejudicando o rendimento final de sementes.

As menores taxas de crescimento relatadas nos primeiros estádios vegetativos (Figura 10) podem estar associadas à baixa atividade de absorção de nutrientes e da FBN pelas raízes bem como a reduzida área foliar da cultura. O aumento da taxa de crescimento ao longo do ciclo sugere que à medida que o sistema radicular se desenvolveu e a área foliar aumentou, o processo de FBN foi intensificado e conseqüentemente a extração de N, o que contribuiu para o crescimento da planta. Nesse sentido, a máxima taxa de crescimento da planta encontrada aos 76 DAE (intervalo entre R_4 e $R_{5.2}$) está relacionada à maior taxa de acúmulo de nitrogênio determinada neste mesmo intervalo, como veremos no decorrer do texto.

Três fases distintas de crescimento foram determinadas em estudo de crescimento e parâmetros de rendimento em soja: lento crescimento inicial antes do início do florescimento, seguido de aumento entre o florescimento e o enchimento de grãos, com declínio próximo a maturação das vagens. Pequena proporção da MS total foi produzida antes de R_1 , sendo a maioria após este estágio. A máxima taxa de crescimento foi observada em R_5 e foi associada ao máximo incremento de área foliar bem como o IAF neste estágio. Já a redução de crescimento próximo à maturação foi associada ao sombreamento bem como a queda das folhas, ou seja, senescência programada das plantas (MALEK et al., 2012).

Salvagiotti et al. (2009), por exemplo, encontraram taxa de crescimento $196 \text{ kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$ entre os estádios R_1 e R_5 , com redução para $107 \text{ kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$ entre R_5 e R_7 em soja de rendimento de 4.840 kg ha^{-1} e $13.200 \text{ kg de MS ha}^{-1}$ na parte aérea. Em área de rendimento de 3.480 kg ha^{-1} , máxima taxa de acúmulo de MS ocorreu em R_4 na ordem de $162 \text{ kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$, resultando em um acúmulo total de MS da parte aérea de 9.775 kg ha^{-1} (BENDER et al., 2015). Em adição, relatos comprovam baixa taxa de acúmulo de MS nos primeiros estádios de desenvolvimento, nos quais somente 11-14% da MS total da planta foi produzida até o estágio R_1 (GASPAR et al., 2017), similar aos 10.5% deste estudo.

Em áreas mais produtivas ocorrem maiores taxas de acúmulo de MS bem como superiores acúmulos de MS total da parte aérea (SALVAGIOTTI et al. (2009); BENDER et al. (2015). Em dois cultivares cujos rendimentos foram 5.400 e 6.800 kg ha⁻¹, as máximas taxas de acúmulo de MS foram de 442 e 478 kg ha⁻¹ d⁻¹, e resultou em acúmulo total de MS da ordem de 13.900 e 19.000 kg ha⁻¹, respectivamente (SADLER; KARLEN, 1995). Ainda, em áreas de rendimento entre 6.158-7.953 kg ha⁻¹, taxas de acúmulo de MS de 456-643 kg ha⁻¹ d⁻¹ foram determinadas, além do acúmulo de 15.300-18.900 kg ha⁻¹ de MS total da parte aérea. (ROEKEL; PURCELL, 2014). Em adição, foi evidenciado que um cultivar de elevado rendimento foi mais eficiente no acúmulo de MS já em V₄. Nesse estágio, taxas de acúmulo de MS de 66, 57 e 48 kg ha⁻¹ d⁻¹ foram determinadas para rendimentos de 5.483, 4.421 e 3.608 kg ha⁻¹, respectivamente (GASPAR et al., 2017). Esses autores observaram alta relação desses dados com as elevadas taxas de extração de N.

Os pilares de rendimento da soja são carboidratos, proteína e óleo, o máximo potencial de rendimento da cultura é limitado pelo acúmulo de carbono e nitrogênio (ROEKEL; PURCELL, 2014). Fazendo rápida analogia ao trabalho destes pesquisadores, este estudo teve máxima taxa de produção de matéria seca total de 340 kg ha⁻¹ d⁻¹ durante a fase reprodutiva e acúmulo total de MS na parte aérea de 16.808 kg ha⁻¹ em R₈, além de elevada taxa de acúmulo de N. Nesse sentido, manter altas taxas fotossintéticas demanda alta taxa de acúmulo de N, e consequentemente o acúmulo de C e N estão altamente correlacionados (SINCLAIR, 2004). Pode-se inferir que, genótipos de elevado rendimento tem maior produção total de MS bem como IAF quando comparado aos de rendimentos inferiores (MALEK et al., 2012).

O rendimento da soja foi de 6.470 kg ha⁻¹ (13% de umidade), e gerou um índice de colheita 33.5% ou 31.5% quando contabilizada a massa das raízes. Este resultado corrobora com Sadler; Karlen (1995) que encontraram 33.8% e 31.1% para os cultivares citados acima bem como com Salvagiotti et al. (2009) que determinaram 32.3%. Contudo, resultados superiores entre 38.1% e 48.8% foram relatados (ROEKEL; PURCELL, 2014). O resultado encontrado em nosso estudo pode estar relacionado a alguns fatores que favoreceram o crescimento vegetativo da cultura, como adequada época de plantio, teores adequados de nutrientes no solo, fornecimento de água via irrigação ao longo de todo o ciclo e controle satisfatório de fatores bióticos. Nesse sentido, a maior massa de haste das plantas em R₈ pode ter gerado certa redução no IC.

Com relação à massa seca relativa dos órgãos, nos estádios V_E e V_4 mais de 50% da massa seca da planta eram compostas pelas folhas, seguida pela haste com 25% (Figura 11). Já nos estádios V_8 , R_1 e R_2 , aproximadamente metade da massa era composta por folhas e $\frac{1}{2}$ por hastes e raízes. A partir de R_4 , a proporção de massa seca ocupada pelas folhas e raízes começou a decrescer e chegou a ser nula para as folhas em R_8 . A proporção ocupada pelas hastes apresentou o comportamento mais estável entre todos os órgãos e foi máxima em R_4 (40%), voltando a ser próxima de $\frac{1}{4}$ nos estádios R_6 e R_8 . As vagens corresponderam 5% do peso da planta em R_4 , e aumentou gradativamente sua proporção até atingir o máximo em R_8 (65%).

Figura 11. Proporção relativa de matéria seca nos estádios fenológicos V_E , V_4 , V_8 , R_1 , R_2 , R_4 , $R_{5.2}$, R_6 e R_8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

A maior proporção relativa de folhas observada até o estágio R_2 pode ser uma estratégia da planta no suprimento de foto assimilado para as raízes, resultados similares aos encontrados por Portes; Araújo (2012). A partir de R_4 , a participação relativa das folhas na massa total da planta reduziu devido ao incremento em massa das hastes e raízes, bem como o surgimento das primeiras vagens na planta. Já em R_6 , apenas 15% da massa total da planta era

composta pelas folhas, sendo este fato atribuído à queda devido à senescência das folhas e ao incremento em massa das vagens.

Similarmente aos resultados encontrados por Zajac et al. (2017), normalmente a fração mais estável em relação às outras partes da planta foram as hastes. Ainda, a proporção relativa das folhas foi alta em R₂ (64.7%) e decresceu gradualmente nos estádios seguintes atingindo 27.5% em R₆. Esses resultados são ligeiramente superiores aos encontrados em nosso estudo (48% e 15% para R₂ e R₆, respectivamente) e podem estar associados ao fato de que os respectivos autores não consideraram a massa de raízes para calcular a proporção relativa dos órgãos. Valores médios de proporção relativa de matéria seca de soja foram determinados para pecíolo + haste (45%), folha (27%), vagem (24%) e folhas + pecíolos caídos (4%) no estágio R_{5.5} (GASPAR et al., 2017) e são bem próximos às proporções encontradas em R_{5.2} quando excluídas as raízes.

4.2 Índice de área foliar (IAF)

A área foliar da soja cresceu de forma linear desde a emergência (V_E) até o enchimento de grãos (R_{5.2}), com posterior declínio em R₆ e ausência de área foliar em R₈ (Figura 12).

Figura 12. Índice de área foliar (IAF) ao longo dos dias após a emergência das plantas nos estádios fenológicos V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Em soja cultivada em Piracicaba-SP, Heiffig et al. (2006) relataram IAF máximo em R₅ com posterior redução à medida que as plantas se encaminhavam para a maturação. Contudo, o IAF e a produtividade média em R₅ foram de 3.2 e 2.470 kg ha⁻¹, respectivamente. Em área de produção irrigada, IAF próximo a 8 foi determinado para cultivares que produziram até 9.200 kg ha⁻¹ (ISODA et al., 2010). Avaliando cultivares modernos de soja no Rio Grande do Sul (RS), o IAF máximo também ocorreu próximo de R₅ (ZANON et al., 2015). Aumento do IAF até 80 dias após o plantio com posterior redução devido à abscisão das folhas velhas sugeriu padrão sigmoidal para este atributo (MALEK et al., 2012).

O IAF máximo ter sido encontrado no estágio fenológico R₅ está relacionado ao dreno do crescimento reprodutivo, acúmulo de matéria seca dos grãos e maior biossíntese de óleo e proteína (HEIFFIG et al., 2006). Também, maior IAF garante que as plantas permaneçam por mais tempo em condição de máxima interceptação luminosa (TAGLIAPIETRA et al., 2018), uma vez que a fotossíntese nos estádios reprodutivos é um processo chave na busca de altos rendimentos. Já a redução do IAF a partir de R_{5.2} é associada à translocação de compostos para as sementes em formação bem como a senescência das folhas.

Tagliapietra et al. (2018) concluíram que o IAF ótimo em R₅ para atingir o rendimento potencial em cultivares de hábito indeterminado deve ser em torno de 6. Também, os autores observaram aumento de rendimento em função do aumento do IAF em áreas com alto nível tecnológico (rendimentos superiores a 4.500 kg ha⁻¹). Essa informação é relevante e pode sugerir que a soja cultivada neste experimento produziu próximo ao RP, já que o IAF máximo foi de 5.23 e não houve limitações em água e nutrientes, bem como um satisfatório controle de estresses bióticos.

4.3 Ureídeos, nitrato e nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA)

A concentração de nitrato (NO₃⁻) na haste foi superior no estágio V₄ (15.86 mM g⁻¹) e apresentou redução gradativa com o avanço da fenologia da planta. Em contra partida, o teor de ureídeo foi o menor neste estágio (0.24 mM g⁻¹) e um aumento foi observado até o estágio R_{5.2} com posterior redução em R₆ (Tabela 6). Através da relação de ambas as formas de N, o NDDA nos estádios fenológicos analisados foi estimado conforme proposto por Herridge (1982). Aumento na atividade da FBN foi observada desde os estádios vegetativos até atingir máxima eficiência em R_{5.2} (65.2%), com posterior declínio para 59.3% em R₆ (Figura 13).

Tabela 6. Teor de nitrato (NO_3^-) e ureídeo expressos em mmol g^{-1} de haste seca nos estádios fenológicos V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2} e R₆ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Estádio fenológico	Nitrato	Ureídeo
	mmol g^{-1}	
V ₄	15.86	0.24
V ₈	5.63	1.22
R ₁	7.36	1.47
R ₂	3.78	1.6
R ₄	3.48	2.16
R _{5.2}	2.2	4.13
R ₆	1.74	2.53

CV Nitrato = 29.07% CV Ureídeo = 25.01%

Figura 13. Nitrogênio derivado da atmosfera (NDDA) ao longo do ciclo da soja representando os estádios fenológicos V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2}, R₆ e R₈ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Em relação ao comportamento de ureídeos, resultados similares foram encontrados por Herridge; Peoples (2002) que estudaram N. Em quatro ambientes, os autores encontraram aumento na concentração de ureídeos entre os estádios R₂, R₃, R₄ e R₅, sendo que na última fase descrita obteve-se o maior valor. Também, Herridge (1982), em estudo de abundância relativa de ureídeos e nitrato em tecidos de plantas de soja, encontrou maior relação de

ureídeos comparada a nitrato foram encontradas na fase reprodutiva em relação à vegetativa, corroborando com os resultados aqui descritos.

Tratando-se da estimativa do NDDA em relação à fenologia, os resultados se assemelham com os encontrados por Agoyi et al. (2017), que estudaram a proporção do nitrogênio fixado por doze genótipos de soja pelo método da abundância relativa de ureídeos. No estágio R_{5.3}, a média de N oriundo da FBN foi de 59.35%, apresentando alta correlação com a massa e número de nódulos. Em adição, utilizando outro método para estimar a eficiência da FBN, Herridge (1982) determinou máxima atividade de redução do acetileno entre os estádios R₄ e R₆ com posterior declínio. Assumindo que ocorre alta correlação entre a massa e número de nódulos com a atividade da FBN, os resultados encontrados por Câmara (2014) ajudam a explicar a máxima eficiência em R_{5.2} descrita neste trabalho. Em estudo da variação da nodulação em função da fenologia da soja, este pesquisador encontrou máxima massa e número de nódulos no estágio R_{5.3} em experimento realizado em Piracicaba-SP.

A maior concentração de nitrato nos estádios vegetativos (principalmente V₄) pode estar relacionada à fertilização que foi realizada na semeadura, fornecendo o equivalente a 20 kg de N ha⁻¹, bem como à baixa atividade da FBN. Nos estádios vegetativos iniciais, os nódulos presentes nas raízes são poucos e pequenos, assim a demanda de N pelas plantas é atendida pelas reservas cotiledonares da semente e pela absorção da solução do solo (CÂMARA, 2014). Também, deve-se considerar que em V₄ as raízes estavam situadas nas camadas mais superficiais do solo, onde a concentração de NO₃⁻ tende a ser maior devido ao maior conteúdo de matéria orgânica nesta parte do solo. Assim, à medida que o sistema radicular se desenvolveu em profundidade, a disponibilidade de NO₃⁻ provavelmente diminuiu e o processo da FBN se intensificou, explicando assim a relação dessas duas formas de N em relação aos estádios fenológicos.

A partir de R₂ a atividade da nitrato redutase diminuiu rapidamente e da nitrogenase aumentou, o que confirma relação inversa no comportamento dessas duas enzimas durante o desenvolvimento da planta (FABRE; PLANCHON, 2000). Também, o rendimento foi mais associado à assimilação de N mineral até R₂ e à FBN nos seguintes estádios reprodutivos, sugerindo que os genótipos mais produtivos são caracterizados por satisfatória assimilação de nitrato na fase vegetativa aliado com alta fixação de N durante o enchimento dos grãos (FABRE; PLANCHON, 2000).

O crescimento das plantas bem como o desenvolvimento de área foliar é fundamental para uma efetiva simbiose entre a planta e as bactérias fixadoras de N. A fosforilação

oxidativa dos produtos elaborados pelas folhas através da fotossíntese (sacarose, glicose e ácidos orgânicos) libera carbono e ATP (adenosina-trifosfato) para a nutrição dos microrganismos (CÂMARA, 2014). Essa informação facilita o entendimento dos resultados aqui apresentados, já que a dinâmica de incremento do teor de ureídeos bem como da eficiência da FBN é similar com o aumento do índice de área foliar (IAF) determinado ao longo do ciclo da cultura (Figura 12). Portanto, à medida que as plantas desenvolveram novas folhas, a nutrição dos microrganismos foi beneficiada e o processo de fixação do N_2 intensificado.

Contudo, a variação dos teores de NO_3^- e ureídeos bem como a eficiência da FBN nos variados ambientes de produção é associada à efetividade da simbiose entre as bactérias e a planta de soja; à habilidade da planta acumular N; ao conteúdo de N-mineral disponível no solo e aos fatores ambientais que afetam o processo de fixação do N_2 (KESSEL; HARTLEI, 2000), tais como temperatura, umidade e acidez do solo (HUNGRIA; VARGAS, 2000).

4.4 Nitrogênio: Concentração nos órgãos ao longo do ciclo e acúmulo total e relativo dos órgãos

A concentração de N total dos órgãos nas fases fenológicas avaliadas está representado na Tabela 7. Foi observado aumento na concentração de N nas raízes até o estágio R_4 com posterior declínio atingindo o valor mínimo em R_8 . Também em R_4 , máximo teor foi determinado para as hastes (16.5 g kg^{-1}) com redução para 1.9 g kg^{-1} em R_8 . Nas folhas, os máximos teores foram encontrados nos primeiros estádios fenológicos com redução gradual até R_6 (23.1 g kg^{-1}). Já para as vagens, a máxima concentração ocorreu em $R_{5.2}$ (53.8 g kg^{-1}) apresentando leve redução em R_8 (50 g kg^{-1}).

Tabela 7. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}) dos órgãos nos estádios fenológicos V_E , V_4 , V_8 , R_1 , R_2 , R_4 , $R_{5.2}$, R_6 e R_8 na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

	V_E	V_4	V_8	R_1	R_2	R_4	$R_{5.2}$	R_6	R_8
Nitrogênio total (g kg^{-1})									
Raiz	6.7	9.6	13.1	13.5	14.15	15.95	15.1	10.5	5
Haste	9.6	12.5	15.1	16	16.2	16.5	14.9	7.4	1.9
Folha	64.2	57	46.5	45.4	43.6	31.2	27.3	23.1	-
Órgão reprodutivo					37.1	44.5	53.8	49.4	50
Grão									65.9

*Órgão Reprodutivo se refere à Flor em R_2 e à vagem nos demais estádios fenológicos.

A redução da concentração de N nos órgãos vegetativos com o passar dos estádios fenológicos apresentou comportamento sigmoidal para raízes e haste, ou seja, aumento de concentração até certo estágio com posterior redução. Padrões semelhantes de concentração nesses órgãos são facilmente encontrados na literatura desde cultivares antigos até os mais modernos. Concentração de N nas raízes da ordem de 4.9, 7.6 e 4.5 g kg^{-1} foram determinadas para os estádios fenológicos V_2 , R_1 e R_8 , respectivamente (PAL; SAXENA, 1976). Nas hastes, teores de 15.1, 9.9 e 4.5 g kg^{-1} foram encontrados nos estádios R_3 , R_6 e R_8 , respectivamente (ZAJAC et al., 2017). Para sustentar elevada demanda de N das sementes, a soja acumula o elemento nas partes vegetativas e remobiliza o mesmo para os grãos durante a fase de granação (GASPAR et al., 2017). Assim, os resultados descritos até o momento evidenciam translocação de N das raízes e hastes para as vagens em desenvolvimento.

A concentração de N nas folhas apresentou comportamento distinto. As máximas concentrações foram determinadas nos primeiros estádios fenológicos com redução ao passar do ciclo da cultura. O fato pode estar relacionado a um efeito concentração nos estádios iniciais e diluição nos finais, uma vez que mesmo com menor concentração de N em $R_{5.2}$, máximo acúmulo de N ocorreu nesta fase (Tabela 8). Embora se esperasse incremento na concentração de N nas vagens de R_6 para R_8 devido ao enchimento dos grãos e à remobilização do N, o comportamento da concentração de N das vagens pode ser explicado por um possível efeito de diluição, já que houve incremento significativo em massa neste período, o que gerou máximo acúmulo de N nas vagens em R_8 (Tabela 8).

O acúmulo de N dos órgãos e total ao longo dos estádios fenológicos está representado na Tabela 8. Nas raízes, o máximo acúmulo foi encontrado em R_{5.2} com 28.2 kg N ha⁻¹, estando associado à máxima massa radicular determinada neste estágio e ao teor de N de 15.1 g kg⁻¹ (Tabelas 4 e 7). Pode-se observar que em R₆ e R₈ o armazenamento de N radicular reduziu para 16 e 5.4 kg ha⁻¹ respectivamente, sendo esta queda atribuída à remobilização de N para as vagens, na ordem de 66.8%, e às raízes mortas. Em relação às hastes, 71.8 kg ha⁻¹ foi o valor máximo determinado em R_{5.2}. Em R₈, somente 9.7 kg N ha⁻¹ foram encontrados neste órgão, sugerindo remobilização de 87.2%. Também em R_{5.2}, máximo acúmulo de N ocorreu para as folhas (121.2 kg ha⁻¹). Embora o teor de N ter sido relativamente baixo comparado aos estádios anteriores de desenvolvimento, a máxima massa de folhas foi encontrada em R_{5.2}, o que contribuiu para este resultado. Como as folhas caídas no solo devido à senescência não foram coletadas para quantificação da matéria seca e teor de N, a remobilização de N pelas folhas não foi determinada. Para as vagens, aumento gradativo no acúmulo de N foi observado até R₈ (584.7 kg ha⁻¹). Através da relação entre o acúmulo máximo de N na parte aérea pela produtividade, a soja extraiu 91.87 kg N ha⁻¹ para cada tonelada de sementes colhida.

Tabela 8. Acumulado total de nitrogênio (kg ha⁻¹) dos órgãos nos estádios fenológicos V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2}, R₆ e R₈ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

	V _E	V ₄	V ₈	R ₁	R ₂	R ₄	R _{5.2}	R ₆	R ₈
	Acúmulo de N (kg ha ⁻¹)								
Raiz	0.03	0.4	5.2	6	8.7	15.1	28.2	16	5.4
Haste	0.08	0.6	6.6	8	11.3	39.8	71.8	36.6	9.7
Folha	1.4	5.7	36.1	41.9	53.7	72.8	121.2	63.6	0
Órgão reprodutivo	0	0	0	0	0.7	13.1	143.7	453.2	584.7
Total	1.5	6.7	47.9	55.9	74.4	140.8	364.9	569.4	599.8
Total parte aérea	1.48	6.3	42.7	49.9	65.7	125.7	336.7	553.4	594.4

*Órgão Reprodutivo se refere à Flor em R₂ e à vagem nos demais estádios fenológicos.

Apoiando a ideia de que os órgãos vegetativos podem ser importantes reservatórios de N para atender a demanda das sementes, valores médios entre 66-69% de remobilização de

N após R_{5.5} foram encontrados por GASPAR et al., (2017). Em adição, Bender et al. (2015) encontraram 65% de remobilização nas folhas e 32% nas hastes. Frente a isso, evidencia-se que aproximadamente 1/3 do N total acumulado nas folhas não é remobilizado. Embora não contabilizado em nosso estudo, parte do N contido nas folhas certamente foi remobilizado para as sementes. Também, a maior remobilização de N oriundo da haste pode estar associada à elevada demanda de N das sementes, bem como ao intervalo de tempo entre R₆ e R₈ no qual as plantas dispuseram de um bom período para remobilizar o elemento.

O máximo acúmulo de N encontrado nos órgãos vegetativos no estágio R_{5.2} está relacionado ao máximo acúmulo de biomassa que ocorreu entre o período de R₄ para R_{5.2} bem como à máxima taxa de acúmulo de N que também ocorreu neste intervalo (Figura 14). O acúmulo de nutrientes na cultura da soja ocorre em três fases distintas: 1) Lenta taxa de assimilação até 30 dias após a emergência; 2) Máximas taxas de assimilação entre R₂ e R₅ e 3) Redução no acúmulo de nutrientes próximo a maturação (HARPER, 1971). Comprovando este fato, no início do ciclo da cultura as taxas de acúmulo de N são baixas, e aumentam gradualmente até atingir a máxima aos 84 DAE (intervalo entre R₄ e R_{5.2}) (Figura 14). Após isso, a taxa de acúmulo de N volta a cair à medida que as plantas se encaminham para a maturação.

Taxas de acúmulo de N de 1.2, 5.2 e 0.4 kg N ha⁻¹ d⁻¹ foram determinadas entre os estádios V₂ a R₂, R₂ a R₅ e R₅ a R₇, respectivamente. Contudo, a extração total de N foi de 241 kg N ha⁻¹, com rendimento de 2.943 kg ha⁻¹ (GEORGE; SINGLETON, 1992). Também, pico de extração de N de 4.6 kg N ha⁻¹ d⁻¹ foi encontrado em R₄ em soja de rendimento de 3.480 kg ha⁻¹ (BENDER et al., 2015) e entre R₄ e R₅ dependendo do rendimento (GASPAR et al., 2017). Também foi evidenciado que somente 12-14% do N total acumulado pelas plantas ocorreu até R₁, o que mostra que até este estágio as taxas de assimilação de N são baixas e a maioria do N assimilado pela cultura da soja ocorre nos estádios reprodutivos. Ainda, 50% do N acumulado pelas plantas de soja ocorreu alguns dias após R₄ (GASPAR et al., 2017). Em nosso estudo, somente 9.3% de todo o N acumulado havia sido assimilado até R₁ e ½ da extração total de N também ocorreu dias após R₄ (84 DAE).

Os eventos das taxas e acúmulo total de MS já discutidos se assemelham bastante com a dinâmica desses atributos voltados para N em áreas de maior rendimento. Máximas taxas de extração de N de 8.2 e 15.9 kg N ha⁻¹ d⁻¹ foram relatadas para cultivares com rendimento de 5.400 e 6.800 kg ha⁻¹ de grãos e extração de 462 e 615 kg N ha⁻¹, respectivamente. Nesse caso, 85.5 e 90.4 kg de N por tonelada de grão colhida foram

acumulados na parte aérea das plantas, corroborando com os resultados aqui apresentados (SADLER; KARLEN, 1995). Ainda, taxas de acúmulo entre 14.3-20.8 kg N ha⁻¹ d⁻¹ foram determinadas em soja de alta produtividade cujos rendimentos já foram relatados anteriormente (ROEKEL; PURCELL, 2014). Em adição, assim como o ocorrido para MS, plantas de soja de maior rendimento apresentaram já em V₄ superiores taxas de extração de N quando comparadas a média e baixa produtividade. Os valores foram de 2.1, 1.8 e 1.4 kg N ha⁻¹ d⁻¹ para os três grupos, respectivamente (GASPAR et al., 2017). As máximas taxas de extração de N ocorrem entre R₄-R₅ e tendem a ser superiores em áreas de maior rendimento, bem como maiores acúmulos totais de N.

O teor de N determinado nas sementes foi de 65.9 g kg⁻¹, o que sugeriu teor de proteína de 41.18%. Para um mesmo cultivar cujo rendimento variou de 2.500 e 6.000 kg ha⁻¹, teores de 41% e 38% foram determinados, respectivamente (LA MENZA et al., 2017). Em nosso estudo, mesmo com rendimento superior a 6.000 kg ha⁻¹ as plantas foram capazes de manter maior teor de proteína. Este fato pode ser atribuído ao elevado acúmulo de N encontrado nas partes vegetativas das plantas em R_{5.2} que foi redistribuído para as sementes em formação, bem como à continuação da extração de N pelas plantas, majoritariamente através do processo da FBN. Os processos fisiológicos que aumentam o conteúdo de N nos grãos incluem o acúmulo do elemento após R₅ com partição direta para as sementes, ou remobilização dos órgãos vegetativos (BENDER et al., 2013). Os cultivares modernos mais produtivos demonstraram não somente maior capacidade de remobilização de N, mas também elevada habilidade de extrair e acumular N após R₅ (GASPAR et al. 2017). Em adição, foi relatado que a disponibilidade de N no período reprodutivo determinou o rendimento de sementes diretamente através do aumento do suprimento de N para o crescimento das sementes (KINUGASA et al., 2012).

Figura 14. Acúmulo de nitrogênio (extração) [linha contínua] e taxa de extração de nitrogênio [linha tracejada] em plantas de soja na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

Tabela 9. Parâmetros (P) empíricos a, b (d) e c, erro padrão (E), intervalo de confiança (95%), referentes ao modelo logístico para o cálculo da extração de nitrogênio e taxa de extração de nitrogênio.

P	Valor	E	t	IC		P> t
				Mínimo	Máximo	
a	631,110505	30,9438486	20,3953462	555,393635	706,827375	<0,00001
b	84,0216371	3,01053801	27,9091766	76,6551160	91,3881583	<0,00001
c	15,8508989	2,19409171	7,22435568	10,4821499	21,2196479	0,00036
$R^2=0.9917636244$. $R^2_{aj} = 0.9868217990$. $F = 361.23788006$.						

Observa-se que entre os estádios V_E e R_2 , $\frac{3}{4}$ ou mais do conteúdo de N da planta estava estocado nas folhas (Figura 15). Este acontecimento é atribuído à maior proporção de matéria seca que as folhas ocupavam bem como aos teores elevados de NT nesse órgão. A partir de R_4 , a proporção relativa de N estocado nas folhas decresceu, sendo este fato atribuído a alguns fatores como a redução da matéria seca relativa bem como o teor de N, aliado ao surgimento das vagens na planta (grande dreno fisiológico de N). Nas hastes, o máximo acúmulo relativo de N ocorreu em R_4 (28%) estando relacionado à máxima massa seca relativa bem como ao máximo teor de N determinado neste estágio. A partir deste ponto, a relação reduz a 2% do N acumulado na planta em R_8 , certamente devido à remobilização do

elemento para as vagens. Com relação às vagens, incremento na proporção relativa de N foi encontrado desde R₄ (9%) até R₈ (97%). A remobilização de N dos órgãos vegetativos bem como a ausência de folhas neste estágio contribuiu para este resultado. Em R_{5.5}, 43.7%, 31.9%, 21.6% e 2.8% do acúmulo relativo de N na planta foi determinado para folhas, vagens, hastes + pecíolos e folhas + pecíolos caídos, respectivamente (GASPAR et al., 2017). Estes valores diferem ligeiramente das proporções relatadas em R_{5.2} para folhas e vagens, mas deve-se considerar que a partição de N em soja é um processo muito dinâmico. Também, os autores relatados acima não contabilizaram a partição de N nas raízes.

O maior acúmulo de N e proporção relativa deste atributo nas folhas tem finalidade fisiológica. O N presente nas folhas das plantas ocorre principalmente na forma da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), responsável pela assimilação do CO₂ atmosférico, e normalmente, grande relação entre o N por unidade de área foliar e a fotossíntese são relatadas (SINCLAIR, 2004). Por exemplo, a concentração de N foliar apresentou correlação positiva com a taxa fotossintética e o rendimento (JIN et al., 2011). Nesse sentido, um dossel que permita a máxima interceptação luminosa bem como um suficiente conteúdo de N nas folhas é fundamental para a conversão de radiação em biomassa, e eventualmente, em ganho de produção (SALVAGIOTTI et al., 2008).

Figura 15. Proporção relativa do acúmulo de nitrogênio nos órgãos da planta nos estádios fenológicos V_E, V₄, V₈, R₁, R₂, R₄, R_{5.2}, R₆ e R₈ na safra 2017/2018, Piracicaba (SP), Brasil.

O máximo acúmulo relativo de N nas raízes ocorreu em R₂ (12%). Este valor é bem inferior ao relatado por Unkovich et al. (2010) que encontrou 33%, ou ainda 24% determinado por Rochester et al. (1998) que foi utilizado por Salvagiotti et al. (2008) em cálculo de balanço de N considerando a contribuição de raízes. Apesar da nossa metodologia de amostragem de raízes possa não ter contabilizado a totalidade das mesmas presentes no solo, grande esforço foi efetuado para coletar o máximo montante. Mesmo que pequena quantidade de raízes tenha permanecido no solo, o valor em porcentagem pode estar subestimado. Desta forma, o resultado aqui apresentado pode inferir sobre a contribuição do N radicular no sistema e contribuir para futuros cálculos de balanço de N no sistema.

4.5 Balanço parcial, lacuna e índice de colheita de N

Através da multiplicação da produtividade em base seca (5.628,9 kg ha⁻¹) e o teor de N determinado, uma exportação total de 370.95 kg N ha⁻¹ foi encontrada. Embora o máximo NDDA tenha ocorrido em R_{5,2}, máximo N oriundo da FBN ocorreu em R₆ com 337.6 e 328.2 kg N ha⁻¹ com e sem raízes, respectivamente. Esses números sugerem que o balanço parcial de N foi negativo mesmo considerando a contribuição do N presente nas raízes. Através da subtração do N oriundo da FBN do total exportado pelos grãos, os valores são de -33.35 e -42.75 kg N ha⁻¹ com e sem raízes, respectivamente.

Em estudo de revisão, Ciampitti; Salvagiotti (2018) estudaram o balanço de N em amplo conjunto de dados de estudos realizados desde 1955 a 2017 em diversos locais do mundo. Somente em 17% das observações os autores relataram balanço positivo de N, sendo que mais de 80% do conjunto de dados apontaram para balanço negativo de N. Os autores classificaram os locais estudados em baixa (0-42%), média (42-72%) e alta (72-98%) eficiência da FBN e chegaram a resultados mais esclarecedores: No primeiro grupo, somente 3% das observações apresentaram balanço positivo, contra 15% e 40% para segundo e terceiro grupo, respectivamente. Ainda, os valores médios foram de -100, -38.5 e -3.4 kg N ha⁻¹ para o primeiro, segundo e terceiro grupo, respectivamente. Considerando que em nossa observação a eficiência da FBN ficou na faixa média, os resultados deste estudo corroboram com os obtidos por estes pesquisadores. Também em estudo de revisão, em 80% dos casos o balanço parcial de N foi negativo com média de -40 kg N ha⁻¹. Porém, quando consideraram uma estimativa de N contido nas raízes, o balanço ficou próximo da neutralidade (-4kg N ha⁻¹) (SALVAGIOTTI et al, 2008). Observa-se, portanto, que maior eficiência da FBN é

necessária para buscar balanço positivo de N no sistema. Aumento de eficiência da FBN foi associada a um balanço menos negativo, e 80% foi necessária para neutralidade (SANTACHIARA et al., 2017). Ainda, em estudo de balanço de N na Argentina entre 2006 a 2011, valores positivos foram relatados com média de eficiência da FBN de 62%. Contudo, o rendimento médio foi de 4.000 kg ha⁻¹, e gerou menor exportação de N na colheita quando comparada aos nossos dados (LANDRISCINI et al., 2019).

O estudo do balanço parcial de N requer uma estimativa adequada da FBN, e é útil para estimar a magnitude da perda/ganho de N no sistema (LANDRISCINI et al., 2019). O balanço parcial negativo de N indica que a quantidade de N exportada na colheita dos grãos é maior do que o N fixado pela cultura, e assim pode ocorrer uma depleção de N no solo. Em contrapartida, balanço positivo relata uma situação na qual a fixação do N₂ excede a exportação de N nas sementes, e gera um orçamento líquido positivo de N para o solo (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2019). Nas condições que este estudo foi realizado, a maior exportação de N pelos grãos na colheita aliado a eficiência mediana da FBN conferiram balanço negativo de N, sugerindo redução do acúmulo de N mineral do solo.

Através da subtração do N total acumulado pela planta por inteira (considerando as raízes) em R₆ pelo N oriundo da FBN constata-se que a lacuna de N foi de 231.7 kg ha⁻¹. Evidências comprovam que à medida que o rendimento da soja aumenta, o mesmo acontece com a lacuna de N devido à maior demanda em N das plantas (SALVAGIOTTI et al., 2008). Em casos onde a contribuição da FBN é baixa, a lacuna de N tende a ser de 37 kg N ha⁻¹ quando o total acúmulo da planta é de 50 kg N ha⁻¹. Já em situações nas quais a extração de N foi na ordem de 400 kg N ha⁻¹, a lacuna aumentou para 183 kg N ha⁻¹. Em contra partida, mediante alta contribuição da FBN, a lacuna de N reduziu para 15 kg N ha⁻¹ e 115 kg N ha⁻¹ considerando os acúmulos totais da parte aérea de 50 e 400 kg N ha⁻¹, respectivamente. Ainda, em ambientes de rendimento acima de 6.000 kg ha⁻¹ e contribuição média da FBN em torno de 67%, a lacuna de N foi de 137 kg N ha⁻¹ (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018).

Os fatos acima descritos evidenciam que em ambientes de alta produtividade onde a demanda em N é maior, a lacuna de N é maior mesmo com elevada contribuição da FBN, sugerindo a necessidade de uso de outras fontes para o suprimento de N das plantas. Algumas alternativas para reduzir a lacuna de N e suprir a necessidade das plantas nesses ambientes seriam primeiramente através de uma efetiva simbiose com estirpes de *Rhizobium* altamente adaptadas. Para isso, práticas que contribuam para uma boa cobertura do solo são fundamentais para manutenção de uma satisfatória condição de temperatura e umidade para a

atividade dos bacterióides, além da correção da acidez do solo e construção de um bom perfil de solo para exploração radicular. Também, suprir as plantas com N em baixas taxas principalmente durante o enchimento dos grãos visando mitigar o efeito negativo do NO_3^- no processo da FBN pode ser uma alternativa. O uso de leguminosas nos esquemas de rotação de cultura bem como o uso de fertilizantes nitrogenados de liberação lenta tendem a ser boas opções (CIAMPITTI; SALVAGIOTTI, 2018). Em estudo de influência da fertilização nitrogenada no rendimento da soja, a aplicação de uréia de liberação lenta abaixo da zona de nodulação das raízes foi eficiente para aumentar a produtividade, não inibindo a atividade da FBN (SALVAGIOTTI et al., 2009).

O índice de colheita para o N calculado foi de 62.4% ou 61.8% considerando o N acumulado nas raízes. Em áreas de rendimento médio de 3480 kg ha^{-1} , 73% foi encontrado (BENDER et al., 2015). Em ambiente mais produtivo (4.340 kg ha^{-1}), 86% foi determinado por Mastrodomenico et al. (2012). O elevado acúmulo de N nas vagens em R_8 comparado à exportação pelos grãos sugere que considerável parte do N ficou retido nas cascas das vagens, fato que pode explicar o ICN inferior encontrado comparado à literatura. Alguns dados publicados pela EMBRAPA (2013) sobre exportação e montante de N presente nos restos culturais da soja na região central do Brasil confortam os resultados aqui encontrados. Em média, os autores concluíram que 61% do N acumulado pela cultura é exportado pelos grãos, e $32 \text{ kg N tonelada}^{-1}$ de grão colhido ficam nos restos culturais. Em nosso estudo, $34.5 \text{ kg N tonelada}^{-1}$ ficaram retidos nos restos culturais da parte aérea, corroborando com os resultados publicados pelos pesquisadores. Ainda, em soja de rendimento de 4.850 kg ha^{-1} , 411 kg N ha^{-1} foram extraídos pelas plantas, sendo que 264 kg N ha^{-1} foram exportados pelas sementes e 147 kg N ha^{-1} ficaram retidos nos restos culturais, e gerou um índice de colheita de N de 64%. Assim, $30.3 \text{ kg N ha}^{-1}$ foram contabilizados nos resíduos por tonelada de grãos colhidos (SALVAGIOTTI et al., 2009), valores próximos aos encontrados nesta pesquisa.

5. CONCLUSÕES

A caracterização do crescimento e do acúmulo de N na cultura de soja estudada fica assim definida:

- A matéria seca das raízes aumentou até o estágio R_{5.2} com posterior declínio. Em relação às hastes e vagens, máxima massa de matéria seca por planta foi encontrada em R₈. Já para as folhas, máxima massa de matéria seca por planta e índice de área foliar foram encontrados no estágio R_{5.2}, com posterior declínio em R₆ e ausência de folhas em R₈. O máximo acúmulo de MS ocorreu em R₈ com 17.884 kg ha⁻¹ ou 16.808 kg ha⁻¹ considerando somente a parte aérea;

- A máxima taxa de acúmulo de matéria seca ocorreu aos 76 dias após a emergência das plantas e foi de 340 kg ha⁻¹ d⁻¹;

- O Índice de colheita foi de 33.5% ou 31.5% quando considerada a massa das raízes;

- O teor de NO₃⁻ na haste da soja foi maior em V₄ e apresentou redução até R₆. Em relação ao teor de ureídeo, mínimo teor foi encontrado em V₄ e máximo em R_{5.2}. A eficiência da FBN foi máxima em R_{5.2} (65.2%) e caiu para 59.3% em R₆, apresentando comportamento similar ao ocorrido com o IAF;

- Máximo acúmulo de N para raízes, hastes e folhas foi encontrado no estágio R_{5.2}, sendo 28.2, 71.8 e 121.2 kg N ha⁻¹, respectivamente. Nas vagens, máximo acúmulo de N ocorreu em R₈ com 584.7 kg N ha⁻¹. Considerando a planta por inteira, máximo acúmulo de N ocorreu em R₈ com 599.8 kg N ha⁻¹. A remobilização de N estimada foi de 66.8% para as raízes e 87.2% para as hastes;

- A máxima taxa de acúmulo de nitrogênio foi de 9.9 kg N ha⁻¹ d⁻¹ aos 84 dias após a emergência;

- O Índice de colheita de N foi de 62.4% ou 61.8% quando o N presente nas raízes foi contabilizado no cálculo;

- O balanço parcial de N foi negativo mesmo considerando a contribuição do N presente nas raízes. Os valores foram de -33.35 e -42.75 kg N ha⁻¹ com e sem raízes, respectivamente. A lacuna de N foi de 231.7 kg N ha⁻¹.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Visto que a FBN não foi suficiente para atender a demanda de N da planta, esta gerou balanço negativo e a lacuna de N foi alta. Torna-se, assim, necessária a adoção de técnicas que aumentam a eficiência da FBN e o acúmulo de N no solo para o equilíbrio desses sistemas de produção a médio-longo prazo. Algumas dessas medidas são: i) O uso de bactérias adaptadas aos diversos ambientes para a fixação do N; ii) Medidas que favoreçam a atividade dessas bactérias como adequada cobertura e correção da acidez do solo; iii) Uso de leguminosas em rotação de culturas; iv) Uso de fertilizantes nitrogenados de liberação lenta.

- Para determinação mais concreta da remobilização de N das folhas para as vagens em formação bem como quantificação do N residual das folhas senescentes, sugere-se que em estudos futuros seja criada metodologia para coleta e determinação do N total dessas folhas. Assim, pode-se estimar com maior precisão a contribuição do N remobilizado deste órgão para as sementes bem como o montante de N que retorna para o solo na forma de resíduo.

- Considerando as falhas embutidas na coleta de raízes e na determinação do nitrogênio residual das folhas senescentes, é possível que o balanço de nitrogênio calculado não tenha sido tão negativo.

REFERÊNCIAS

- AGOYI, E. E.; AFUTU, E.; CHADERE, F. J.; TUMUHAIRWE, J. B.; CHIGEZA, G.; TUKAMUHABWA, P. Ureide essay to assess N₂-fixation abilities of soybean (*Glycine max*) Genotypes under Different *Bradyrhizobium* Strains. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 20, p. 65-72, 2017.
- AGROSTAT - <http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm> (Acesso em Fevereiro/2019)
- ALVES, B. J. R.; MADARI, B. E.; BODDEY, R. M. Integrated crop–livestock–forestry systems: prospects for a sustainable agricultural intensification. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 108, p. 1-4, 2017.
- ANP – Agência nacional do petróleo. Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis, 2018. Disponível em: http://www.anp.gov.br/images/publicacoes/anuario-estatistico/2018/anuario_2018.pdf Acesso em (Fevereiro/2019).
- APROSOJA - <http://www.aprosoja.com.br/> (Acesso em Fevereiro/2019).
- BENDER, R. R.; HAEGELE, J. W.; BELOW, F. E. Nutrient uptake, partitioning and remobilization in modern soybean varieties. **Agronomy Journal**, v. 107, p. 563-573, 2015.
- BENDER, R. R.; HAEGELE, J. W.; RUFFO, M. L.; BELOW, F. E. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. **Agronomy Journal**, v. 105, p. 161-170, 2013.
- BORTOLON, L.; BORTOLON, E. S. O.; CAMARGO, F. P.; SERAGLIO, N. A.; LIMA, A. O.; ROCHA, P. H. F.; SOUZA, J. P.; SOUSA, W. C.; TOMAZZI, M.; LAGO, B. C.; NICOLODI, M.; GIANELLO, C. Yield and nutrient uptake of soybean cultivars under intensive cropping systems. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 344-357, 2018.
- CÂMARA, M. D. S. Fixação biológica de nitrogênio em soja. IPNI: International plant nutrition institute. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 147, 2014.
- CARRERA, C. S.; REYNOSO, C. M.; FUNES, G. J.; MARTÍNEZ, M. J.; DARDANELLI, J.; RESNIK, S. L. Amino acid composition of soybean seeds as affected by climatic variables. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1579-1587, 2011.

- CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.6, p.71-80, 1975.
- CESB – Comitê Estratégico Soja Brasil – Desafio nacional de máxima produtividade. <http://www.cesbrasil.org.br/desafio-da-soja/> (Acesso em Janeiro/2019).
- CIAMPITTI, I. A.; SALVAGIOTTI, F. New insights into Soybean Biological Nitrogen Fixation. **Agronomy Journal**, v. 110, p. 1185-1196, 2018.
- CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO) – A produtividade da soja: Análise e perspectivas. Compêndio de estudos CONAB, v. 10, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_08_02_14_27_28_10_compendio_de_estudos_conab_a_produtividade_da_soja_-_analise_e_perspectivas_-_volume_10_2017.pdf.
- CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO) - Acompanhamento da safra Brasileira de grãos. v. 6 – Safra 2018/2019- n. 4 – Quarto levantamento, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>.
- FABRE, F.; PLANCHON, C. Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean. **Plant Science**, v. 152, p. 51-58, 2000.
- FEHR, W.R. CAVINESS, C.E. Stage of soybean development. Iowa State University. Special report 80, March, p. 25-26p, 1977.
- GASPAR, A. P.; LABOSKI, C. A. M.; NAEVE, S. L.; CONLEY, S. P. Dry Matter and nitrogen uptake, partitioning, and removal across a wide range of soybean seed yield levels. **Crop Science**, v. 57, p. 2170-2182, 2017.
- GEORGE, T.; SINGLETON, P. W. Nitrogen assimilation traits and dinitrogen fixation in soybean, and common bean. **Agronomy Journal**, v. 84, p. 1020-1028, 1992.
- HARPER, J.E. Seasonal nutrient uptake and accumulation patterns in soybeans. **Crop Science**, v. 11, p. 347–350, 1971.
- HEIFIG, L. S.; CÂMARA, G. M. S.; MARQUES, L. A.; PEDROSO, D. B.; PIEDADE, S. M. S. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. **Bragantia**, v. 65,p. 285-295, 2006.
- HEIFFIG, L. S. Plasticidade da cultura de soja (*Glycine max*, L. Merrill) em diferentes arranjos espaciais. 2002. 85 p. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- HERRIDGE, D. F. Relative abundance of ureides and nitrate in plant tissues of soybean as a quantitative assay of nitrogen fixation. **Plant Physiology**, v. 70, p. 1-6, 1982.

- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, p. 1-18, 2008.
- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B. Timing of xylem sampling for ureide analysis of nitrogen fixation. **Plant and Soil**, v. 238, p. 57-67, 2002.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, p.927–939, 2006.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja. Embrapa Soja, Circular técnica n. 35, 48 p., 2001.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.
- ISODA, A.; MAO, H.; LI, Z.; WANG, P. Growth of high-yielding soybeans and its relation to air temperature in xinjiang, china. **Plant Production Science**, v. 13, p. 209-217, 2010.
- JIN, J.; LIU, X.; WANG, G.; LIU, J.; MI, L.; CHEN, X.; HERBERT, S. J. Leaf nitrogen status as a main contributor to yield improvement of soybean cultivars. **Agronomy Journal**, v. 103, p. 441-448, 2011.
- KEENEY, D. R.; BREMNER, J. M. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 6. Mineralizable nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, v. 31, p. 34-39, 1967.
- KESSEL, C.; HARTLEY, C. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? **Field Crops Research**, v. 65, p. 165-181, 2000.
- KINUGASA, T.; SATO, T.; OIKAWA, S.; HIROSE, T. Demand and supply of N in seed production of soybean (*Glycine max*) at different N fertilization levels after flowering. **Journal of Plant Research**, v. 125, p. 275-281, 2012.
- KRAPP, A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 25, p. 115-122, 2015.
- KÖPPEN, W. **Climatología: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura Económica. México: 479 p. 1948.
- KOUTROUBAS, S. D.; PAPAKOSTA, D. K.; GAGIANAS, A. A. The importance of early dry matter and nitrogen accumulation in soybean yield. **European Journal of Agronomy**, v. 9, p. 1-10, 1998.

- LA MENZA, N. C.; MONZON, J. P.; SPECHT, J. E.; GRASSINI, P. Is soybean yield limited by nitrogen supply ? **Field Crops Research**, v. 213, p. 204-212, 2017.
- LANDRISCINI, M. R.; GALANTINI, J. A.; DUVAL, M. E.; CAPURRO, J. E. Nitrogen balance in a plant-soil system under different cover crop-soybean cropping in Argentina. **Applied Soil Ecology**, v. 133, p. 124-131, 2018.
- LEGHARI, S. J.; WAHOCHO, N. A.; LAGHARI, G. M.; HAFEEZLAGHARI, A.; MUSTAFABHABHAN, G.; HUSSIANTALPUR, K.; BHUTTO, T. A.; WAHOCHO, S. A.; LASHARI, A. A. Role of nitrogen for plant growth and delelopment: a review. **Advances in Environmental Biology**, v. 10, p. 209-218, 2016.
- MASTRODOMENICO, A. T.; PURCELL, L. C. Soybean nitrogen fixation and nitrogen remobilization during reproductive development. **Crop Science**, v. 52, p. 1281-1289, 2012.
- MAATHUIS, F. J. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 250-258, 2009.
- MALEK, M. A.; MONDAL, M. M. A.; ISMAIL, M. R.; RAFII, M. Y.; BERAHIM, Z. Psysiology of seed yield in soybean: Growth and dry matter production. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 7643-7649, 2012.
- MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; PERES, J. R. R.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Embrapa Cerrados: 37 anos de contribuições para o avanço da FBN no Brasil.
- OHYAMA, T. Nitrogen as a major essential element of plants. In: **Nitrogen Assimilation in Plants**, p. 1-17, 2010.
- PAL, U. R.; SAXENA, M. C. Relationship between nitrogen analysis of soybean tissues and soybean yields. **Agronomy Journal**, v. 68, p. 927-931, 1976.
- PORTES, T. A.; ARAÚJO, B. R. B. Comparison of the allocation of phytomass in soybean and bean and its potential role in biological nitrogen fixation. **Acta Scientiarum**, v. 34, p. 285-292, 2012.
- RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; THOMPSON, H.E.; BENSON, G.O. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 20p. 1977 (Special Report, 53).
- ROEKEL, R. J. V.; PURCELL, L. C. Soybean biomass and nitrogen accumulation rates and radiation use efficiency in a maximum yield environment. **Crop Science**, v. 54, p. 1189-1196, 2014.

- ROCHESTER, I.J.; PEOPLE, M.B.; CONSTABLE, G.A.; GAULT, R.R. Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 38, p. 253–260, 1998.
- ROLIM, G.S.; SENTELHAS, P.C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL TM para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 6, p. 133-137, 1998.
- ROTUNDO, J.L.; BORRÁS, L.; DE BRUIN, J.D.; PEDERSEN, P. Soybean nitrogen uptake and utilization in Argentina and united states cultivars. **Crop Science**, v. 54, p. 1153-1165, 2014.
- SADLER, E J.; KARLEN, D. L. Aerial dry matter and nutrient accumulation comparisons among five soybean experiments. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 26, p. 3145-3163, 1995.
- SALVAGIOTTI, F.; SPECHT, J. E.; CASSMAN, K. G.; WALTERS, D. T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Growth and nitrogen fixation in high-yielding soybean: impact of nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, v. 101, p. 958-970, 2009.
- SALVAGIOTTI, F.; CASSMAN, K. G.; SPECHT, J. E.; WALTERS, D. T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, p. 1-13, 2008.
- SANTACHIARA, G.; BORRÁS, L.; SALVAGIOTTI, F.; GERDE, J. A.; ROTUNDO, J. L. Relative importance of biological nitrogen fixation and mineral uptake in high yielding soybean cultivars. **Plant Soil**, v. 418, p. 191-203, 2017.
- SENTELHAS, P. C.; PEREIRA, A. R. A maior estiagem do século? **Notícias Piracema**, v. 6, n. 50, p. 1, 2000.
- SINCLAIR, T.R.; DE WIT, C.T. Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. **Science** 189, 565–567, 1975.
- SINCLAIR, T.R. Improved carbon and nitrogen assimilation for increased yield. In: H.R. BOERMA; J.E. SPECHT, Editors, Soybeans: improvement, production and uses, ASA, CSSA, SSSA, Madison, p. 537–568, 2004.
- SRIVASTAVA, A. C.; TIKU, A. K.; PAL, M. Nitrogen and carbon partitioning in soybean under variable nitrogen supplies and acclimation to the prolonged action of elevated CO₂. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 28, p. 181-188, 2006.

- TAGLIAPIETRA, E. L.; STRECK, N. A.; ROCHA, T. S. M.; RICHTER, G. L.; SILVA, M. R.; CERA, J. C.; GUEDES, J. V. C.; ZANON, A. J. Optimum leaf area index to reach yield potential in subtropical environment. **Agronomy Journal**, v. 110, p. 932-938, 2018.
- TAMAGNO, S.; BALBOA, G. R.; ASSEFA, Y.; KOVÁCS, P.; CASTEEL, S. N.; SALVAGIOTTI, F.; GARCÍA, F. O.; STEWART, W. M.; CIAMPITTI, I. A. Nutrient partitioning and stoichiometry in soybean: A synthesis-analysis. **Field Crops Research**, v. 200, p. 18-27, 2017.
- Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014 – Londrina: Embrapa Soja. (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, ISSN 21762902; n.16, 265p., 2013.
- UNKOVICH, M. J.; BALDOCK, J.; PEOPLES, M. B. Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N₂ fixation by crop and pasture legumes. **Plant and Soil**, v. 329, p. 75–89, 2010.
- UNKOVICH, M. J.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B. & CHALK, P. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. ACIAR Monograph n. 136, 258 p, 2008.
- UNKOVICH, M. J.; PATE, J. S. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. **Field Crops Research**, v. 65, p. 211-228, 2000.
- USDA – United States Department of Agriculture. World Agricultural Production. Circular series, 2018. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> (Acesso em Janeiro/2019).
- YOUNG, E.G.; CONWAY, C.F. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.142, p.839-853, 1942.
- ZAJAC, T.; OLEKSY, A.; SLIZOWSKA, A.; SLIWA, J.; KOPYRA, A.; KULIG, B. Aboveground dry biomass partitioning and nitrogen accumulation in early maturing soybean ‘Merlin’. **Acta Agrobotanica**, v. 70, p. 1-13, 2017.
- ZANON, A. J.; STRECK, N. A.; RICHTER, G. L.; BECKER, C. C.; ROCHA, T. S. M.; CERA, J. C.; WINCK, J. E. M.; CARDOSO, A. P.; TAGLIAPIETRA, E. L. WEBER, P. S. Contribuição das ramificações e a evolução do índice de área foliar em cultivares modernas de soja. **Bragantia**, v. 74, p. 279-290, 2015.
- ZEIHER, C.; EGLI, D. B.; LEGGETT, J. E.; REICOSKY, D. A. Cultivar differences in N redistribution in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 74, p. 375-379, 1982.