

## INOCULAÇÃO DE DIFERENTES ESTIRPES DE *Bradyrhizobium* EM SOJA SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA

CEREZINI, P.<sup>1</sup>; PELAQUIM, J.A.P.<sup>2</sup>; KUWANO, B.H.<sup>1</sup>; GRUNVALD, A.K.<sup>3</sup>; PÍPOLO, A.E.<sup>3</sup>; HUNGRIA M.<sup>3</sup>; NOGUEIRA, M.A.<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 10.011, 86057-970, Londrina-PR; <sup>2</sup>Universidade Norte do Paraná, Londrina-PR; <sup>3</sup>Embrapa Soja, Londrina-PR, e-mail: [joao\\_pissinati.jp@hotmail.com](mailto:joao_pissinati.jp@hotmail.com)

A restrição hídrica é o fator abiótico mais limitante para a produtividade da cultura da soja, com efeitos negativos à fixação biológica de nitrogênio (FBN), que é vulnerável à seca e é um dos primeiros processos biológicos a serem prejudicados (Sinclair et al., 2007). Em estudos para desenvolvimento de linhagens de soja mais tolerantes à seca, o genótipo R01-581F se mostrou promissor, com maior potencial de rendimento de grãos em condições de seca (Chen et al., 2007). Diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* apresentam diferenças quanto à competitividade e eficiência da FBN sob condições adversas. Bizarro et al. (2011) demonstraram que *B. elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) foram mais competitivas e mostraram maior capacidade de nodulação em relação às estirpes de *B. japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080), sendo a SEMIA 5080 recentemente reclassificada como *B. diazoefficiens* (Delamuta et al., 2013).

A combinação de genótipos de soja capazes de manter a FBN e demais processos fisiológicos em condição de seca com uma estirpe de *Bradyrhizobium* que apresente maior robustez quanto à capacidade de tolerar a seca, pode resultar em maior estabilidade da FBN e da produtividade de soja em condição de restrição hídrica. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da inoculação com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* no genótipo de soja R01-581F, com e sem restrição hídrica.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Soja, Londrina-PR em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram de três estirpes de *Bradyrhizobium*: SEMIA 587 (*B. elkanii*), SEMIA 5019 (*B. elkanii*) e SEMIA 5080 (*B. diazoefficiens*), com e sem indução da restrição hídrica entre 45 e 62 dias após a emergência (DAE) em arranjo fatorial 3 × 2, com seis repetições.

Foi utilizada amostra de um solo proveniente de uma área agrícola, obtido na camada 0-20 cm, cujo resultado da análise química revelou: pH (CaCl<sub>2</sub>) = 4,7; matéria orgânica = 33 g kg<sup>-1</sup>; P (Mehlich) = 2,14 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,31 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Ca = 4,02 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Mg = 0,64 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, H + Al = 5,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, CTC = 10,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, SB = 4,97, V = 47%, Al = 0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; frações granulométricas: areia = 732 g kg<sup>-1</sup>, silte = 30 g kg<sup>-1</sup>, argila = 238 g kg<sup>-1</sup>. Com base na análise química, foram aplicados 2,2 kg de calcário dolomítico por tonelada de substrato, que foram acondicionados em vasos de 2 kg. Cada vaso recebeu 27 mg de P, 158 mg de K (ambos como K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 115 mg de Mg, 155 mg de S (ambos como MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), e 100 mL de uma solução de micronutrientes contendo 0,0014 mg de CoSO<sub>4</sub>, 0,0054 mg de Na<sub>2</sub>MO<sub>4</sub>, 0,5 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> em 10 L de água. Nenhuma fonte de N mineral foi adicionada. Foram semeadas três sementes por vaso, cada qual recebeu 1 mL de inoculo (com 1 × 10<sup>9</sup> células mL<sup>-1</sup>). Aos 10 DAE realizou-se o desbaste, mantendo-se uma planta por vaso.

Durante 45 DAE, o experimento foi conduzido com suprimento hídrico para 70% da capacidade de campo (CC). Aos 45 DAE, no florescimento pleno, as plantas sob restrição hídrica passaram a receber água a 30% CC por 10 dias (restrição hídrica moderada - RHM). Após os 10 dias de RHM, as mesmas plantas passaram a receber água para 20% CC por mais 7 dias, simulando uma restrição hídrica severa (RHS). O

controle da quantidade de água fornecida foi realizado por pesagens diárias em balança eletrônica.

Para análise de parâmetros fisiológicos foi utilizado um medidor de trocas gasosas modelo LCpro-SD com sistema aberto de fluxo de ar (LCpro-SD, ADC Bio Scientific Ltd., UK), em dois períodos, aos 55 DAE (fim da RHM) e 62 DAE (fim da RHS), sendo determinados a taxa fotossintética, condutância estomática e a temperatura das folhas.

A desinstalação do experimento foi realizada aos 63 DAE. A parte aérea foi seca em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C por 48 h, para determinação da massa parte da aérea seca (MPAS) e o teor de N nas folhas foi obtido após digestão sulfúrica do tecido seco moído pelo método do verde de salicilato (Searle, 1984). Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Sob RHM durante dez dias, as plantas ainda apresentavam bom desempenho quanto às trocas gasosas, sem diferir do controle (Tabela 1); no entanto, com indução de sete dias de RHS todas as variáveis fisiológicas foram afetadas negativamente. Destaca-se que, na condição úmida, as maiores médias para taxa fotossintética e condutância estomática foram observadas nas plantas associadas à estirpe SEMIA 5019. A temperatura das folhas sob RHS aumentou, independente da estirpe utilizada; no entanto, as plantas inoculadas com a estirpe SEMIA 5019 apresentaram menor aumento de temperatura (2 °C), quando comparadas às plantas inoculadas com as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5080, com aumento de 3,8 e 3,7 °C, respectivamente.

A MPAS sofreu redução significativa, quando submetida à restrição hídrica (Figura 1A), com diminuição de 36% na média das estirpes. A mesma tendência foi observada para o N-total na parte aérea, com redução de 40% na média das estirpes (Figura 1B). Na condição de estresse, não houve efeito das estirpes quanto ao acúmulo de N nas plantas, enquanto que, a 70% CC, as maiores médias de foram observadas nas plantas inoculadas com as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5080.

A estirpe utilizada pode interferir no desempenho do genótipo, sendo que, sob suprimento hídrico adequado, a estirpe SEMIA 5019 contribuiu para o melhor desempenho dos parâmetros fotossintéticos e as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5080 promoveram maior acúmulo de N nas plantas. No entanto, não foi possível selecionar uma estirpe que garanta os benefícios da FBN sob seca, uma vez que as três estirpes utilizadas apresentaram respostas semelhantes sob restrição hídrica.

## Referências

- BIZARRO, M.J.; GIONGO, A.; VARGAS, L.K.; ROESCH, L.F.W.; GANO, K.A.; SACCOL SÁ, E.L.; PASSAGLIA, L.M.P.; SELBACH, P.A. Genetic variability of soybean bradyrhizobia populations under different soil managements. **Biology and Fertility of Soils**, v.47, p.357–362, 2011.
- CHEN, P.; SNELLER, C.H.; PURCELL, L.C.; SINCLAIR, T.R.; KING, C.A.; ISHIBASHI, T. Registration of soybean germplasm lines R01-416F and R01-581F for improved yield and nitrogen fixation under drought stress. **Journal of Plant Registrations**, v., p.166-167, 2007.
- DELAMUTA, J.R.M.; RIBEIRO, R.A.; ORMENÕ-ORRILLO, E.; MELO, I.S.; MARTINÉZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.63, p.3342–3351, 2013.
- SEARLE, P. L. The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. **Analyst**, v.109, p.549-568, 1984.

SINCLAIR, T.R.; PURCELL, L.C.; KING, A.; SNELLER, C.H.; CHEN, P.; VADEZ, V. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N<sub>2</sub> fixation. **Field Crops Research**, v.101, p.68–71, 2007.

Tabela 1. Taxa fotossintética, condutância estomática e temperatura foliar do genótipo R01-581F, inoculado com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium*, submetido a estresse hídrico moderado (durante 10 dias) e severo (durante mais 7 dias), entre 45 e 62 dias após a emergência.

<b>Taxa fotossintética (<math>\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}</math>)</b>						
Estirpe	---- Restrição hídrica moderada ----			----- Restrição hídrica severa -----		
	Com	Sem	Média	Com	Sem	Média
587	17.8 aA	18.5 bA	18.1	0.58 aB	12.1 cA	6.31
5019	18.3 aB	20.9 aA	19.6	0.54 aB	18.3 aA	9.42
5080	18.4 aA	17.7 bA	18.0	0.12 aB	14.6 bA	7.35
Média	18.2	19.1		0.41	15.04	

<b>Condutância estomática (<math>\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}</math>)</b>						
Estirpe	---- Restrição hídrica moderada ----			----- Restrição hídrica severa -----		
	Com	Sem	Média	Com	Sem	Média
587	0.301 aA	0.341 bA	0.321	0.015 aB	0.261 bA	0.137
5019	0.261 aB	0.452 aA	0.362	0.005 aB	0.386 aA	0.195
5080	0.272 aA	0.313 bA	0.292	0.000 aB	0.278 bA	0.139
Média	0.278	0.369		0.007	0.308	

<b>Temperatura das folhas (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>						
Estirpe	---- Restrição hídrica moderada ----			----- Restrição hídrica severa -----		
	Com	Sem	Média	Com	Sem	Média
587	30.7 aA	29.1 aB	29.9	34.1 aA	30.3 aB	32.2
5019	28.1 bB	29.3 aA	28.7	31.7 bA	29.7 aB	30.7
5080	30.6 aA	29.5 aB	30.1	33.8 aA	30.1 aB	31.9
Média	29.8	29.3		33.2	30.1	

Letras maiúsculas comparam na linha, letras minúsculas comparam na coluna. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) ( $n = 6$ ). As interações significativas são comparadas dentro de cada nível dos fatores condição hídrica e estirpe.

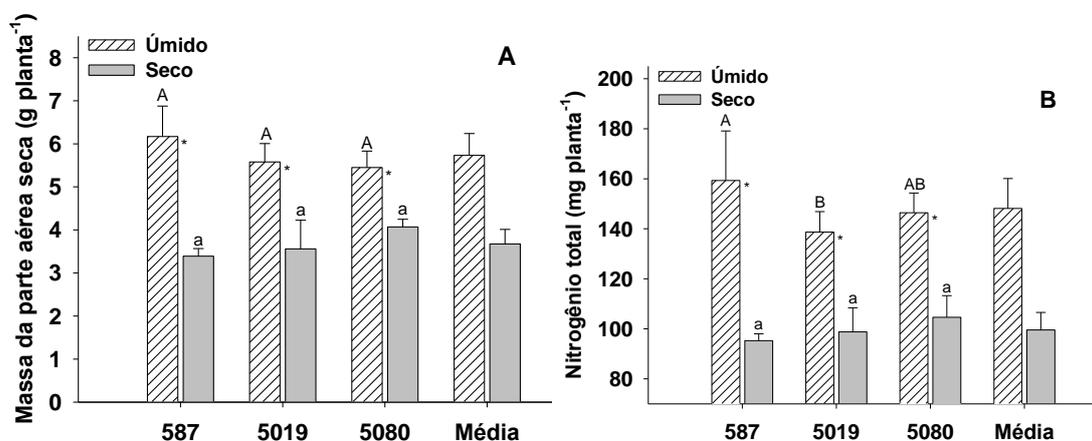


Figura 1. Massa da parte aérea seca (A) e nitrogênio total (B) no genótipo R01-581F inoculado com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium*, submetido a estresse hídrico moderado (durante 10 dias) e severo (durante mais 7 dias), entre 45 e 62 dias após a emergência. Letras maiúsculas comparam as estirpes na condição úmida, letras minúsculas comparam as estirpes na condição seca; letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* Indica efeito significativo da condição hídrica dentro de cada estirpe. Barras verticais indicam o desvio-padrão ( $n=6$ ).