

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE SOJA COM DIFERENTES NÍVEIS DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO

BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN SOYBEAN GENOTYPES WITH DIFFERENT TOLERANCE LEVELS TO WATER STRESS

CEREZINI, P.¹; FAGOTTI, D.S.L.¹; KUWANO, B.H.¹; SOUZA, D.I.¹; PÍPOLO, A.E.², HUNGRIA, M.³; NOGUEIRA, M.A.³

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR. ²Embrapa Soja - Equipe de Melhoramento Genético de Plantas. ³Embrapa Soja - Laboratório de Biotecnologia do Solo.

Resumo

A cultura da soja tem elevada demanda por nitrogênio (N), que pode ser fornecido pela fixação biológica de N (FBN). Entretanto, restrições hídricas prejudicam a cultura e também a FBN. Nesse trabalho, avaliaram-se alguns parâmetros da FBN sob condições ótimas ou de restrição hídrica em genótipos de soja com diferentes capacidades de manter a FBN sob estresse hídrico. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2, com sete repetições, com as linhagens R01-581F, R01-416F, R02-1325, que apresentam capacidade de manter a FBN em condições de seca, e os padrões CD-215 e BRS-317, sob suprimento adequado de água (70% da capacidade de campo - CC), ou sob restrição hídrica (30% CC) entre 45 e 55 dias. Avaliaram-se a massa da parte aérea (MPAS) e raízes (MRS) secas, número e massa de nódulos secos, teor de nitrogênio na parte aérea e concentração foliar de N-ureídeos (alantoína e ácido alantoico). A 30% CC, a MPAS diminuiu em todos os genótipos, enquanto que a massa de raízes aumentou no genótipo R01-581. Tanto a massa quanto o número de nódulos diminuíram a 30% CC. O genótipo R01-581 apresentou maior teor de N sob estresse, e maior acúmulo de N em ambas condições. A restrição hídrica aumentou os teores foliares de ureídeos, sendo que o genótipo BRS 317 apresentou os maiores teores de alantoína, o que pode inibir a FBN. De modo geral, os efeitos da restrição hídrica foram menores nos genótipos R01-581 e R01-416.

Introdução

Devido ao alto teor de proteínas em seus grãos, a cultura da soja tem elevada demanda por N, que pode ser fornecido pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Esse processo é indispensável para a viabilidade econômica e ambiental da cultura, sendo realizado por bactérias da ordem Rhizobiales, que são capazes de fixar o N₂ atmosférico em simbiose com leguminosas, substituindo os fertilizantes químicos nitrogenados (Hungria et al., 2007).

Entre os fatores limitantes à produtividade da cultura da soja, a ocorrência de veranicos em fases críticas do desenvolvimento é responsável por grandes prejuízos (IPCC, 2007). Além de comprometer a planta fisiologicamente, o estresse hídrico também pode causar prejuízos indiretos, como efeitos negativos à FBN, que afeta o suprimento de N à cultura e pode restringir a sua produtividade.

Os fatores envolvidos na diminuição da FBN sob estresse hídrico ainda não são bem compreendidos, mas sugere-se que o metabolismo do N pode influenciar na regulação. Entretanto, há variações genotípicas quanto à sensibilidade ao estresse hídrico, que também podem influenciar na FBN (Ladrera et al., 2007). As linhagens R01-581F, R01-416F, R02-1325 apresentam a característica de manter FBN mesmo em condições de seca (Chen et al., 2007).

O objetivo desse trabalho foi avaliar atributos relativos à FBN sob condição normal (70% da capacidade de campo – CC) ou de restrição hídrica (30% CC) em genótipos de soja que apresentem diferentes capacidades de FBN em condições de seca.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em condições controladas na Embrapa Soja, com delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 × 2, sendo cinco genótipos de soja: R01-581F, R01-416F, R02-1325, com maior capacidade de manter a FBN em condições de seca, e os padrões CD-215 e BRS-317, com e sem indução de estresse hídrico, em sete repetições, em vasos com 8 kg de solo.

A inoculação com *Bradyrhizobium* foi realizada imediatamente antes da semeadura com inoculante comercial líquido contendo 1×10^9 células viáveis/g. Foram mantidas três plantas por vaso. A umidade do solo foi mantida a 70% da capacidade de campo (CC) por 45 dias, quando metade dos vasos passou a receber água para manutenção de 30% da CC por 10 dias e a outra metade continuou a receber água para 70% da CC.

Aos 55 dias, as plantas foram coletadas e avaliaram-se a massa da parte aérea seca (MPAS), massa de raízes secas (MRS), número e massa de nódulos secos, teor de nitrogênio na parte aérea e teor foliar de N-ureídeos (alantoína e ácido alantoico) (Vogels & van der Drift, 1970).

Os dados foram submetidos à análise de variância com teste F ($p < 0,05$). Constatado efeito isolado dos fatores ou da interação significativa, aplicou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

A produção de MPAS e MRS apresentou interação entre genótipos e condição hídrica (Figuras 1A e 1B). A produção de MPAS foi menor sob estresse hídrico em todos os genótipos, mas nessa condição não diferiram entre si (Figura 1A); já a MRS foi maior nas plantas sob estresse para o genótipo R01-581 (Figura 1B). Essa resposta pode estar associada a um mecanismo de adaptação ao estresse hídrico, pois em condições de baixa disponibilidade de água as plantas tendem a investir mais no prolongamento das raízes do que na parte aérea em busca de água de zonas profundas do solo (Silva e Nogueira, 2003).

Não houve interação dos fatores para massa e número de nódulos (Tabela 1). Entretanto, a restrição hídrica diminuiu a nodulação, tanto em massa quanto em número. O genótipo R02-1325 apresentou maior número de nódulos em relação ao genótipo CD 215.

O teor de N na parte aérea apresentou interação entre os genótipos e a condição hídrica (Tabela 2). Na condição de estresse, o genótipo R01-581 apresentou maior teor de N, seguido pelos genótipos R01-416 e R02-1325, e os genótipos CD 215 e BRS 317, com os menores teores. Nos tratamentos sob suprimento normal de água, observou-se a mesma tendência entre os genótipos. Não houve interação dos fatores quanto ao acúmulo de N nas plantas. Assim, a condição de estresse diminuiu o N acumulado na média dos genótipos, enquanto que os genótipos R01-581 e R01-416 apresentaram os maiores acúmulos, independentemente da condição hídrica, tendo os genótipos CD 215 e BRS 317 apresentado os menores acúmulos.

Os teores foliares de alantoína e ácido alantoico nas folhas não sofreram interação significativa dos fatores (Tabela 3). Dessa forma, o estresse hídrico levou ao aumento dos teores tanto de alantoína quanto de ácido alantoico nas folhas. O genótipo BRS 317 apresentou as maiores concentrações de ureídeos em relação aos demais genótipos, mas sem diferir dos genótipos R01-581 e R01-416 para o ácido alantoico.

Esses resultados confirmam que em plantas não tolerantes e sob condições de seca ocorre limitação na translocação e assimilação do N-ureído, e conseqüentemente, acúmulo na parte aérea (e possivelmente nos nódulos) que pode inibir a atividade da nitrogenase (Ladrera et al., 2007), o que coincide com os menores teores e acúmulos de N na parte aérea dessas plantas.

Conclusões

- Em condição de estresse hídrico, enquanto há restrição da parte aérea, há em geral aumento da massa de raízes, notadamente no genótipo R01-581;
- Em geral, os genótipos capazes de manter a FBN sob seca tiveram maiores concentrações e acúmulo de N na parte aérea, enquanto que os genótipos suscetíveis apresentaram menores teores e acúmulo de N.

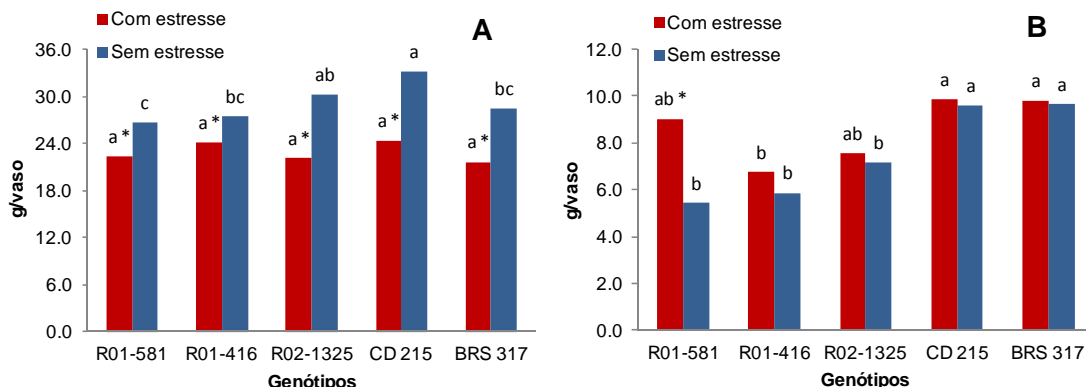


Figura 1. (A) Massa da parte aérea seca e (B) raízes secas de genótipos de soja com diferentes capacidades de manter a fixação biológica de N sob estresse hídrico, submetidos ao estresse hídrico (30% da capacidade de campo) ou não (70%). Genótipos compartilhando letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) dentro de cada condição hídrica, * indica efeito significativo da condição hídrica dentro de cada genótipo.

Tabela 1. Massa seca e número de nódulos de genótipos de soja com diferentes capacidades de manter a fixação biológica de N sob estresse hídrico, submetidas a 30 ou 70% da capacidade de campo (CC) entre 45 e 55 dias.

CONDIÇÃO HÍDRICA	GENÓTIPOS					média
	R01-581	R01-416	R02-1325	CD 215	BRS 317	
----- massa seca de nódulos g/vaso -----						
30% CC	0,81	1,06	0,92	0,81	0,94	0,91 B
70 % CC	1,19	1,15	1,27	1,18	1,15	1,18 A
média	1,00 a	1,10 a	1,09 a	0,99 a	1,04 a	
----- número de nódulos /vaso -----						
30% CC	223	249	247	235	257	243 B
70 % CC	342	296	376	291	340	329 A
média	282 ab	272 ab	312 a	263 b	299 b	
ANAVA: genótipo (G) = 0,23; condição hídrica (H) < 0,01; GxH = 0,06; CV = 14,9%						
ANAVA: genótipo (G) = 0,03; condição hídrica (H) < 0,01; GxH = 0,06; CV = 15,4%						

Letras maiúsculas comparam na coluna, letras minúsculas comparam na linha. Média seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 2. Teor de nitrogênio (N) na parte aérea de genótipos de soja com diferentes capacidades de manter a fixação biológica de N sob estresse hídrico, submetidas a 30 ou 70% da capacidade de campo (CC) entre 45 e 55 dias.

CONDIÇÃO HÍDRICA	GENÓTIPOS					média
	R01-581	R01-416	R02-1325	CD 215	BRS 317	
----- nitrogênio g/kg -----						
30% CC	33,43 Aa	25,97 Bb	25,68 Ab	19,46 Ac	21,10 Ac	25,13
70 % CC	32,61 Aa	31,31 Aa	27,40 Ab	22,0 Ac	29,92 Ac	26,65
média	33,02	28,64	26,53	20,72	20,51	
----- nitrogênio mg/vaso -----						
30% CC	708,3	617,8	536,1	487,1	455,3	560,9 B
70 % CC	881,2	832,1	782,5	742,9	560,6	759,9 A
média	794,7 a	724,9 ab	659,3 bc	615,0 c	507,6 d	
ANAVA= genótipo (G) < 0,01; condição hídrica (H) = 0,01; GxH < 0,01; CV = 9,2%						
ANAVA= genótipo (G) < 0,01; condição hídrica (H) < 0,01; GxH = 0,17; CV = 13,5%						

Letras maiúsculas comparam na coluna, letras minúsculas comparam na linha. Média seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Concentração de N-ureídeos (alantoína e ácido alantoico) em folhas de genótipos de soja com diferentes capacidades de manter a fixação biológica de N sob estresse hídrico, submetidas a 30 ou 70% da capacidade de campo (CC) entre 45 e 55 dias.

CONDIÇÃO HÍDRICA	GENÓTIPOS					
	R01-581	R01-416	R02-1325	CD 215	BRS 317	média
----- alantoína mM/g -----						
30% CC	3,90	4,05	4,33	3,69	5,68	4,33 A
70 % CC	3,23	3,30	2,70	2,91	3,58	3,17 B
média	3,56 b	3,68 b	3,52 b	3,30 b	4,68 a	
ANAVA= genótipo (G) < 0,01; condição hídrica (H) < 0,01; GxH = 0,13; CV = 20,4%						
----- ácido alantoico mM/g -----						
30% CC	1,56	1,02	0,74	0,82	1,28	1,00 A
70 % CC	0,74	0,77	0,40	0,50	0,70	0,62 B
média	0,95 ab	0,90 abc	0,57 c	0,65 bc	0,99 a	
ANAVA= genótipo (G) < 0,01; condição hídrica (H) < 0,01; GxH = 0,70; CV = 35,5%						

Letras maiúsculas comparam na coluna, letras minúsculas comparam na linha. Média seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Referências

CHEN, P.; SNELLER, C.H.; PURCELL, T.R.; 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 Registration**, v.1, n.2, September, 2007.

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

IPCC: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate change**: the physical science basis, contribution of working group to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change). Cambridge University Press, 2007. Editado por Houghton, J.T.

LADRERA, R.; MARINO, D.; LARRAINZAR, E.; GONZÁLEZ, E.M.; ARRESE-IGOR, C. Reduced carbon availability to bacteroids and elevated ureides in nodules, but not in shoots, are involved in the nitrogen fixation response to early drought in soybean. **Plant Physiology**, v.145, p.539-546, 2007.

SILVA, E.C.; NOGUEIRA, R.J.M. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa-de-vegetação. **Revista Ceres**, v.50, n.288, p.203-217, 2003.

VOGELS, G.D.; van der DRIFT, C. Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, v.33, p.143-157, 1970.