

## **Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Arroz Irrigado por Inundação**

**Parte II: Interação entre as Cultivares BRS  
Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa  
com Bactérias Endofíticas Diazotróficas**



ISSN 1516-8840

Setembro, 2015

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Clima Temperado  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Documentos**384

## **Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Arroz Irrigado por Inundação**

**Parte II: Interação entre as Cultivares BRS Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa com Bactérias Endofíticas Diazotróficas**

*Maria Laura Turino Mattos  
Paulo Ricardo Reis Fagundes  
Walkyria Bueno Scivittaro  
Morjana Luisa Pereira Facio*

Embrapa Clima Temperado  
Pelotas, RS  
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Clima Temperado**

Endereço: BR 392, Km 78

Caixa postal 403, CEP 96010-971 - Pelotas/RS

Fone: (53) 3275-8100

www.embrapa.br/clima-temperado

www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

**Comitê de Publicações da Unidade Responsável**

Presidente: *Ana Cristina Richter Krolow*

Vice-presidente: *Enio Egon Sosinski Junior*

Secretária-Executiva: *Bárbara Chevallier Cosenza*

Membros: *Ana Luiza Barragana Viegas, Apes Falcão Perera, Daniel Marques Aquini, Eliana da Rosa Freire Quincozes, Marilaine Schaun Pelufê.*

Revisão de texto: *Ana Luiza Barragana Viegas*

Normalização bibliográfica: *Marilaine Schaun Pelufê*

Editoração eletrônica: *Rosana Bosenbecker (estagiária)*

Foto(s) de capa: *Maria Laura Turino Mattos*

**1ª edição**

1ª impressão (2015): 150 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Clima Temperado

---

F566 Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação: parte II: Interação entre as cultivares BRS Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa com bactérias endofíticas diazotróficas / Maria Laura Turino Mattos... [et al.]. - Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2015.  
25 p. (Documentos / Embrapa Clima Temperado, ISSN 1516-8840 ; 384)

1. Arroz. 2. Arroz irrigado. 3. Manejo. 4. Nitrogênio.  
I. Mattos, Maria Laura Turino. II. Série.

---

633.18 CDD  
©Embrapa 2015

# **Autores**

## **Maria Laura Turino Mattos**

Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

## **Paulo Ricardo Reis Fagundes**

Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

## **Walkyria Bueno Scivittaro**

Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Fertilidade do Solo, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

## **Morjana Luisa Pereira Facio**

Graduanda em Química Ambiental, bolsista da Embrapa, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS.



# Apresentação

O aumento do custo dos fertilizantes químicos nitrogenados e a lacuna entre o fornecimento e a demanda de nitrogênio, estão gerando preocupações quanto às questões ambientais e questionamentos quanto à rentabilidade da orizicultura.

Neste contexto, a Embrapa Clima Temperado tem buscado soluções tecnológicas para a redução das emissões de gases de efeito estufa e para o aumento da eficiência do uso de nutrientes na agricultura, promovendo pesquisas sobre Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) na cultura do arroz irrigado por inundação. A FBN insere-se no Programa de Agricultura de Baixa Emissão de Carbono (ABC), criado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para mitigação do efeito estufa e adaptação às mudanças climáticas, visando à consolidação de uma agricultura eficiente e ambientalmente amigável.

Este documento apresenta a segunda fase dos resultados da pesquisa com FBN na cultura do arroz irrigado por inundação da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS) em parceria com a Embrapa Agrobiologia (Seropédica, RJ), integrante do projeto “Soluções tecnológicas para otimizar o aporte de N nos sistemas agrícolas via Fixação Biológica de Nitrogênio” (PAC – Embrapa - Macroprograma 2).

*Clenio Nailto Pillon*  
Chefe-Geral  
Embrapa Clima Temperado



# Sumário

<b>Introdução.....</b>	<b>09</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>11</b>
Acessos vegetais e microbianos utilizados nos experimentos.....	12
Plantio .....	13
Inoculação .....	13
Análise Estatística .....	14
<b>Resultados.....</b>	<b>15</b>
BRS Fronteira e Querência x BED.....	15
BRS Pampa x BED .....	17
<b>Considerações finais.....</b>	<b>21</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>22</b>
<b>Referências.....</b>	<b>23</b>



# Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Arroz Irrigado por Inundação

---

*Maria Laura Turino Mattos  
Paulo Ricardo Reis Fagundes  
Walkyria Bueno Scivittaro  
Morjana Luisa Pereira Facio*

## Introdução

A aplicação de fertilizantes nitrogenados minerais ou orgânicos tem um importante papel no aumento da produtividade da cultura de arroz irrigado. Por outro lado, o aumento do custo dos fertilizantes minerais e a lacuna entre o fornecimento e a demanda de N, considerando a possibilidade de lixiviação e escoamento desse nutriente para o lençol freático e águas superficiais, respectivamente, está gerando preocupações ambientais entre os orizicultores e a sociedade e questionamentos quanto à rentabilidade da prática de adubação. Dessa forma, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) assume um importante papel em outras plantas que não as leguminosas, como o arroz irrigado, para a redução dos custos com a adubação nitrogenada e o desenvolvimento de uma agricultura de baixo carbono nas terras baixas do Bioma Pampa.

Diversos estudos têm sido realizados, visando avaliar a contribuição da FBN à cultura de arroz, com o objetivo de selecionar estirpes de bactéria e quantificar a FBN em genótipos de arroz (BALDANI et al., 2000; SABINO et al., 2000; CAMPOS et al., 2003; RODRIGUES et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2010). Porém, esses estudos envolveram somente genótipos de arroz para o cultivo de arroz de sequeiro.

Bactérias endofíticas diazotróficas associativas foram isoladas de folhas, colmos e raízes da cultivar de arroz irrigado BRS-7 Taim, cultivada nas terras baixas do Rio Grande do Sul. Estirpes diazotróficas apresentaram a habilidade de crescer em meio seletivo NFb (Novo Fábio Pedrosa) (MATTOS et al., 2010). Em outro estudo, foram obtidas 19 bactérias endofíticas diazotróficas de colmos da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota (MATTOS et al., 2010). Populações de bactérias diazotróficas foram encontradas em número significativo em colmos das cultivares de arroz irrigado EEA-406 e IRGA 419, sendo importante determinar a real contribuição dessas à cultura quanto ao fornecimento de nitrogênio (SILVA et al., 2007). A fixação do nitrogênio por diazotróficos endofíticos tem sido raramente comprovada. Alega-se que esses microrganismos têm uma vantagem sobre os diazotróficos associativos de raízes, uma vez que ocupam espaços mais estritamente ligados ao hospedeiro e, portanto, com maior acesso às fontes de carbono. Além disso, colonizam nichos protegidos do oxigênio, o qual é necessário à expressão e atividade da nitrogenase (DOBBELAERE et al., 2003).

É importante considerar a existência da variabilidade genética, tanto nos genótipos de arroz, como nas bactérias com capacidade para FBN, e compreender os mecanismos envolvidos na interação planta/bactéria/ambiente, como características para sua seleção, visando à formulação de inoculantes. Assim, a seleção de bactérias endofíticas diazotróficas com potencial para FBN e a interação com as cultivares de arroz irrigado BRS Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa, recomendadas para o cultivo em terras baixas do Rio Grande do Sul, constituem-se em estudos básicos necessários à inovação da pesquisa em prol da sustentabilidade da orizicultura e, conseqüentemente, à inserção de produtores no Programa de Agricultura de Baixo Carbono.

## Material e Métodos

Realizaram-se dois experimentos em casa de vegetação, na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS, nos períodos de setembro a novembro de 2010 e janeiro a fevereiro de 2011. Empregaram-se bandejas de isopor, com dimensões de 67,2 cm x 34,2 cm, com 72 alvéolos, estabelecendo-se os tratamentos em duas fileiras (12 alvéolos) (Figura 1).

Foto: Maria Laura Turino Mattos



**Figura 1.** Bandejas de isopor empregadas para o cultivo do arroz nos ensaios em casa de vegetação. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 2013.

Os tratamentos compreenderam a semeadura com a aplicação, desde esta ocasião, de soluções nutritivas com N ou sem N, bem como a semeadura com a aplicação de solução nutritiva sem N, mas com a inoculação com os acessos bacterianos, aplicada por ocasião do desbaste.

Adotou-se o delineamento experimental de tratamentos inteiramente casualizado, envolvendo as cultivares combinadas com os tratamentos, sendo dois representantes das testemunhas com nitrogênio (TC/N) e sem nitrogênio (TS/N). Em cada tratamento avaliaram-se, individualmente, 12 repetições de plantas.

## **Acessos vegetais e microbianos utilizados nos experimentos**

Experimento 1 - cultivares BRS Fronteira (ciclo médio) e BRS Querência (ciclo precoce) - interação com 27 bactérias endofíticas diazotróficas (BED) e oriundas da Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado (CMMCT): CMM170, CMM171, CMM172, CMM173, CMM174, CMM175, CMM176, CMM177, CMM178, CMM179, CMM180, CMM181, CMM182, CMM183, CMM192, CMM193, CMM 194, CMM195, CMM196, CMM197, CMM198, CMM199, CMM200, CMM201, CMM202, CMM203, CMM205.

O experimento 1 envolveu cultivares combinadas com 11, 12 e 10 tratamentos, respectivamente para os ensaios 1, 2, 3, de acordo com o esquema a seguir:

- 1º Ensaio: C/N, S/N, CMM170, CMM171, CMM192, CMM193, CMM 194, CMM198, CMM199, CMM201, CMM202;

- 2º Ensaio: C/N, S/N, CMM172, CMM173, CMM174, CMM175, CMM176, CMM177, CMM178, CMM179, CMM180, CMM181;

- 3º Ensaio: C/N, S/N, CMM195, CMM196, CMM197, CMM182, CMM183, CMM202, CMM203, CMM205.

Experimento 2 - cultivar BRS Pampa (ciclo precoce) - interação com 18 BED oriundas da CMMCT: CMM174, CMM175, CMM176, CMM177, CMM178, CMM179, CMM180, CMM192, CMM193, CMM194, CMM171, CMM199, CMM173, CMM172, CMM201, CMM202, CMM198, CMM170.

Todos os acessos microbianos foram isoladas de colmos, folhas e raízes das cultivares BRS Pelota e BRS-7Taim (MATTOS et al., 2010).

## Plantio

As sementes foram esterilizadas superficialmente por meio da imersão em uma solução de álcool 70% (v/v), por um minuto, seguido de uma solução de hipoclorito de sódio 2,5%, por três minutos, e lavadas dez vezes em água destilada estéril. Posteriormente, as sementes foram colocadas em placas de Petri para secar, em câmara de fluxo laminar, durante duas horas.

Semearam-se três sementes em cada alvéolo de bandejas de isopor, contendo uma mistura na proporção de 2:1 (v/v) de vermiculita + areia esterilizadas. Regaram-se diariamente as sementes com 10 mL de uma solução nutritiva descrita por Vahl et al. (1993) (sem açúcares e aminoácidos em todos os tratamentos). Desbastaram-se as plantas aos sete dias após o início da emergência, mantendo-se uma planta por alvéolo.

## Inoculação

Inocularam-se as plantas com um volume de 0,4 mL de um cultivo (caldo NFb, 33 oC, 100 rpm, 24 h) dos acessos bacterianos com uma faixa de concentração celular de  $10^5$ – $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>. As plantas dos tratamentos C/N e S/N receberam o volume igual da solução nutritiva.

Aos 30 dias após a emergência, avaliaram-se as seguintes variáveis:

- Cultivares BRS Fronteira, BRS Querência: comprimento da parte aérea (cpaérea), das raízes (craízes) e diâmetro do colmo (dcolmo);
- Cultivar BRS Pampa: cpaérea e craízes, dcolmo, índice relativo de clorofila (IRC) da folha, peso de matéria fresca da parte aérea (pfaérea) e de raízes (pfraízes), peso de matéria seca da parte aérea (pspaérea) e das raízes (psraízes).

## **Análise estatística**

Experimento 1 – adotou-se um modelo de análise de variância para o delineamento inteiramente casualizado com os tratamentos dispostos num esquema fatorial completo com dois fatores (cultivares x bactérias). Além das análises individuais, foi realizada uma análise conjunta envolvendo simultaneamente os três experimentos. A conectividade entre os três ensaios deve-se ao fato dos tratamentos C/N e S/N serem comuns a todos os ensaios e cultivares. Pressupõe-se uma estrutura com distribuição de probabilidade conjunta tri normal e realizou-se uma análise de variância multivariada (Manova), envolvendo, simultaneamente, as três variáveis para testar as mesmas hipóteses consideradas nas análises univariadas.

Experimento 2 – adotou-se um modelo de análise de variância para o delineamento inteiramente casualizado com 20 tratamentos. Além das análises univariadas, envolvendo oito variáveis relacionadas ao desenvolvimento vegetativo, pressupõe-se uma estrutura com distribuição de probabilidade conjunta multinormal 8 e realizou-se uma análise de variância multivariada (Manova), envolvendo simultaneamente as oito variáveis para testar as mesmas hipóteses consideradas nas análises univariadas.

Em ambos os experimentos, complementarmente à Manova, gerou-se a primeira função discriminante Canônica de Fisher, denominada nesses trabalhos de desenvolvimento vegetativo multivariado (DVM), tais que:

Experimento 1

Dados originais

$DVM=0.21953361 * cpaerea - 0.03198395 * craízes + 0.43673132 * dicolmo;$

Dados percentuais

$DVM=0.03897517 * c_{paerea} + 0.01509550 * c_{raizes} + 0.02781066 * d_{colmo}$ ;

## Experimento 2

$DVM=0.082404 * c_{paerea} - 0.125243 * c_{raizes} + 0.538628 * d_{co}$   
 $lmo + 0.131923 * IRC + 35.161907 * p_{folhas} - 1.755914 * p_{raizes} -$   
 $57.469483 * p_{paerea} - 241.988668 * p_{raizes}$

Usou-se o teste de Tukey a 5%, para as comparações múltiplas de médias, em todas as análises (individuais ou conjuntas) dos dados experimentais.

## Resultados

As bactérias endofíticas diazotróficas diferiram na capacidade de promover o crescimento das cultivares BRS Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa.

### BRS Fronteira e Querência x BED

A função discriminante Canônica de Fischer, com base na síntese das informações contidas nas três variáveis, permitiu formar três grupos para cada cultivar (Tabela 1):

1. Grupo I: BRS Fronteira e BRS Querência: CMM194, CMM195, CMM196, CMM197, CMM182, CMM183, CMM200, CMM203, CMM205

2. Grupo II: BRS Fronteira: CMM173, CMM175, CMM176, CMM177, CMM178, CMM179, CMM180, CMM181, CMM193

BRS Querência: CMM172, CMM173, CMM175, CMM176, CMM177, CMM178, CMM179, CMM180, CMM181, CMM193, CMM, 201

3. Grupo III: BRS Fronteira: CMM170, CMM171, CMM172, CMM174, CMM198, CMM199, CMM201, CMM202

BRS Querência: CMM170, CMM171, CMM174, CMM192, CMM198, CMM202

**Tabela 1.** Análise conjunta dos tratamentos por meio da conexão dos TCN e TSN comuns dentro de cada cultivar em comparação dos tratamentos, cultivares e interação tratamentos x cultivares, referente aos dados relativizados expressos em percentual da média da testemunha sem nitrogênio, variável DMV. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Tratamentos	Cultivar Fronteira	Cultivar Querência	Média
	DMV		
C/N	11.37 a	10.27 a	10.82 a
S/N	8.19 efghi	8.19 ef	8.19 efghi
CMM192	8.09 fghi	7.83 f	7.96 fghi
CMM193	8.39 defghi	8.29 def	8.34 efghi
CMM194	8.89 cdefgh	8.83 abcdef	8.86 efgh
CMM201	7.55 hi	8.17 ef	7.86 hi
CMM202	7.37 i	7.78 f	7.58 i
CMM171	7.45 i	7.82 f	7.63 i
CMM198	7.13 i	7.49 f	7.31 i
CMM170	7.20 i	7.74 f	7.47 i
CMM199	7.71 ghi	8.22 ef	7.96 fghi
CMM173	9.72 bcd	8.43 cdef	9.08 cde
CMM174	7.92 ghi	7.87 f	7.89 ghi
CMM172	7.96 ghi	8.38 def	8.17 efghi
CMM175	9.45 bcdef	8.49 bcdef	8.97 def
CMM176	8.19 efghi	8.21 ef	8.20 efghi
CMM177	9.53 bcde	8.80 abcdef	9.16 bcde
CMM178	9.90 bc	8.05 f	8.97 def
CMM179	9.83 bc	8.01 f	8.92 efg
CMM180	9.96 abc	7.78 f	8.87 efgh
CMM181	9.12 bcdefg	8.29 def	8.72 efgh
CMM195	10.51 ab	10.0 ab	10.27 a
CMM196	10.32 ab	9.73 abcde	10.02 abcde

Tratamentos	Cultivar Fronteira	Cultivar Querência	Média
	DMV		
CMM182	10.13 abc	10.00 abc	10.06 abc
CMM183	10.30 abc	10.24 a	10.27 a
CMM197	10.00 abc	10.06 ab	10.03 abc
CMM203	10.32 ab	9.98 abc	10.15 ab
CMM205	10.03 abc	10.01 abc	10.02 abcd
CMM200	10.22 abc	9.86 abcd	10.04 abc

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os acessos CMM 194, CMM 195, CMM 196, CMM 197, CMM 182, CMM 183, CMM 200, CMM 203 e CMM 205, componentes do grupo I, apresentaram maior habilidade para a colonização das plantas, demonstrando uma interação positiva entre cultivares e bactérias inoculadas para a FBN.

## BRS Pampa x BED

A função discriminante Canônica de Fischer, com base na síntese das informações contidas nas oito variáveis, permitiu formar três grupos (Tabela 2):

1. Grupo I - os maiores estímulos para o crescimento, em relação ao tratamento C/N, foram obtidos com os acessos CMM179, CMM176, CMM178, CMM174, CMM177, CMM175;

2. Grupo II - em relação ao tratamento S/N, os acessos CMM180, CMM192, CMM193, CMM194, CMM171 apresentaram DVM inferiores;

3. Grupo III - houve contribuição negativa das BED (CMM199, CMM173, CMM172, CMM201, CMM202, CMM198 e CMM170 para o crescimento da cultivar BRS Pampa.

**Tabela 2.** Comparação dos tratamentos inerentes às variáveis comprimentos da parte aérea (cpaérea) e raízes (craízes), diâmetro do colmo (dcolmo), índice relativo de clorofila (IRC), pesos frescos da parte aérea (pfpárea) e raízes (pfraízes), pesos secos da parte aérea (pspaérea) e raízes (psraízes) e desenvolvimento vegetativo multivariado (DVM) da cultivar BRS Pampa de arroz irrigado com nitrogênio (C/N), sem nitrogênio (S/N) e inoculada com bactérias endofíticas diazotróficas acessos CMM. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Tratamento	Variáveis		
	cpaérea	craízes	dcolmo
	(cm)		(mm)
C/N	38,49a	7,09 bcd	2,96 a
CMM179	27,18b	6,18 cd	2,20 b
CMM176	24,52bc	5,52 d	2,02 bc
CMM178	23,50 bcd	6,73 bcd	1,94 bc
CMM174	21,03 bcdefg	7,27 abcd	1,99 bc
CMM177	20,88 bcdefg	6,97 bcd	1,93 bc
CMM175	21,65 bcdef	7,50 abcd	2,04 bc
S/N	23,84 bc	8,03 abcd	1,73 c
CMM180	22,33 bcde	6,87 bcd	1,93 bc
CMM192	20,03 cdefg	6,55 cd	1,88 bc
CMM171	22,08 bcde	7,20 bcd	1,92 bc
CMM194	22,03 bcde	7,20 bcd	1,92 bc
CMM193	20,39 cdefg	6,96 bcd	1,80 c
CMM170	18,26 cdefg	7,94 abcd	1,95 bc
CMM202	18,09 cdefg	9,04 abcd	1,91 bc
CMM199	15,36 fg	7,23 abcd	1,70 c
CMM172	16,57 efg	8,80 abcd	1,73 c
CMM173	17,04 defg	10,50 ab	1,80 c
CMM198	17,09 defg	10,99 a	1,84 bc
CMM201	14,88 g	9,83 abc	1,79 c

IRC	Variáveis					DVM
	pfaérea	pfraízes	pspaérea	psraízes	(g)	
27,27 a	0,282 a	0,022 de	0,052 a	0,0077 a	5,76 a	
20,83 b	0,151 b	0,031 cde	0,046 ab	0,0054 ab	2,73 b	
18,87 b	0,115 bc	0,021 de	0,023 bc	0,0056 ab	1,55 bc	
19,85 b	0,112 bcd	0,064 a	0,021 bc	0,0058 ab	1,03 cd	
18,92 b	0,101 bcd	0,034 bcde	0,018 c	0,0049 b	0,97 cde	
17,35 b	0,097 cd	0,045 abc	0,019 bc	0,0052 b	0,95 cde	
16,93 b	0,106 bcd	0,031 cde	0,020 bc	0,0066 ab	0,88 cde	
20,93 b	0,104 bcd	0,023 de	0,019 bc	0,0051 b	0,77 cdef	
19,53 b	0,101 bcd	0,051 ab	0,019 bc	0,0057 ab	0,74 cdef	
20,15 b	0,098 bcd	0,040 bcd	0,019 bc	0,0064 ab	0,44 cdefg	
21,30 b	0,078 cd	0,022 de	0,029 abc	0,0052 b	0,16cdefgh	
21,30 b	0,096 cd	0,039 bcd	0,020 bc	0,0065 ab	0,14cdefgh	
18,22 b	0,082 cd	0,022 de	0,018 bc	0,0057 ab	0,14cdefgh	
18,91 b	0,083 cd	0,031 bcde	0,018 c	0,0064 ab	-0,15defghi	
20,94 b	0,086 cd	0,035 bcde	0,017 c	0,0066 ab	-0,49 efghi	
18,68 b	0,061 d	0,019 e	0,027 abc	0,0056 ab	-0,63 fghi	
19,86 b	0,069 cd	0,030 cde	0,015 c	0,0057 ab	-0,77 ghi	
20,34 b	0,070 cd	0,019 e	0,015 c	0,0062 ab	-1,01 ghi	
20,20 b	0,072 cd	0,026 cde	0,025 abc	0,0072 ab	-1,15 hi	
21,03 b	0,066 cd	0,030 cde	0,013 c	0,0068 ab	-1,45 i	

Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Verificou-se uma contribuição significativa de seis acessos CMM179, CMM176, CMM178, CMM174, CMM177, CMM175, isolados do colmo da cultivar BRS Pelota (MATTOS et al., 2010), no DVM da cultivar BRS Pampa. Observaram-se, também, efeitos positivos dos acessos

CMM171, CMM180, CMM192, CMM193 e CMM194 no DVM, onde as variáveis referentes às raízes indicaram que houve um estímulo ao crescimento radicular, induzido, provavelmente, pela produção de fitormônios (SABINO et al., 2000).

O acesso CMM179 endofítico diazotrófico do colmo destacou-se como associativo à cultivar, incrementando em 3,5 vezes o DVM quando comparado ao tratamento S/N. Em colmos da cultura do arroz irrigado são encontradas bactérias diazotróficas em número significativo, constituindo-se em um ambiente muito propício ao desenvolvimento de bactérias endofíticas diazotróficas (SILVA et al., 2007).

Os efeitos estimulatórios e inibitórios do crescimento de plantas de arroz variam em função da bactéria diazotrófica e do parâmetro analisado (SABINO et al., 2000). Um consórcio das bactérias *Burkholderia brasiliensis* (M130/BR11181) e *Herbaspirillum seropedicae* (Z95/BR11340) promoveu o crescimento de plântulas de arroz da cultivar Guarani, indicado pelo grande acúmulo de matéria seca na parte aérea (SABINO et al., 2000).

É comum detectar grandes diferenças na FBN entre genótipos de plantas, sugerindo que o genótipo influencia a população de bactérias diazotróficas a ele associada. Além disso, o estabelecimento de um bom inóculo endofítico em plantas de arroz é dependente da relação bactéria/genótipo (BALDANI et al., 2000). Em experimento de campo, conduzido em Planossolo Háptico, obtiveram-se respostas diferenciais de 48 genótipos de arroz irrigado à FBN. Observou-se um associativismo entre as linhagens AB10005, AB09021, AB09006, AB09002 e AB09044 e um consórcio bacteriano constituído com os acessos CMM174, CMM175 e CMM179, constatado pelo aumento da produção da matéria seca da parte aérea das plantas e alterações positivas no Índice Relativo de Clorofila das folhas. Isso é um indicativo de que essas BED são capazes de contribuir para a FBN (FAGUNDES et al., 2011). Além dos estudos das bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> e do mecanismo de suas associações com plantas, é muito

importante a seleção e o melhoramento genético de gramíneas quanto à capacidade de sustentar a FBN, além das características agronômicas (DÖBEREINER, 1992).

Um número relevante de gêneros de bactérias associadas à rizosfera do arroz tem sido reportado (*Azospirillum*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*), com destaque à contribuição da espécie *Klebsiella oxytoca*, para a fixação de N<sub>2</sub> (KENNEDY; TCHAN, 1992). Estirpes endofíticas diazotróficas de *Herbaspirillum seropedicae* associadas às raízes de arroz, fixam de 31% a 54% do nitrogênio total acumulado pelo vegetal, em condições de experimentos gnotobióticos, indicando que o interior da planta foi colonizado (BALDANI et al., 2000).

Assim, os acessos promissores selecionados neste trabalho, CMM194, CMM195, CMM196, CMM197, CMM182, CMM183, CMM200, CMM203, CMM205, CMM179, CMM176, CMM178, CMM174, CMM177, CMM175, ao demonstrarem uma diversidade em função de pertencerem aos grupos de bactérias Gram-negativo e positivo, de exibirem características bioquímicas diferenciadas (MATTOS et al., 2010) e por apresentarem os maiores DVM, serão identificados por métodos moleculares e avaliados em experimentos em escalas maiores em casa de vegetação e campo, continuando esse tipo de estudo.

## Considerações Finais

Os acessos CMM194, CMM195, CMM196, CMM197, CMM182, CMM183, CMM200, CMM203 e CMM205 apresentam maior habilidade para a colonização das plantas das cultivares BRS Fronteira e BRS Querência, demonstrando uma interação positiva entre cultivares e bactérias inoculadas para a FBN.

Os acessos CMM179, CMM176, CMM178, CMM174, CMM177, CMM175 têm potencial para a FBN na cultivar de arroz irrigado BRS Pampa. O acesso CMM179 é associativo ao genótipo, promovendo o

crescimento e contribuindo para fixação de N<sub>2</sub>, indicando a relação específica entre a cultivar e a bactéria na composição de inoculantes.

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Antonio Lourenço Guidoni (*in memoriam*), executor da análise estatística. Aos funcionários do laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental, pelo auxílio na condução dos experimentos e análises microbianas.

## Referências

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Inoculation of Rice plants with the *endophytic diazotrophs Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, p. 485-491, 2000.

CAMPOS, D. V. B de; ALEXANDER, S. R.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 41-46, 2003.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant-growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 22, n. 22, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E. J. B. N; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992, p. 173-179.

FAGUNDES, P. R. R.; MATTOS, M. L. T.; MAGALHÃES Jr., A. M. de **Genótipos de arroz irrigado responsáveis à fixação biológica de nitrogênio**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011. 7 p. (Embrapa

Clima Temperado. Circular Técnica). No prelo.

GUIMARÃES, S. L.; CAMPOS, D. T. S.; BALDANI, V. L. D.; NETO-JACOB, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 4, p. 32-39, 2010.

KENNEDY, I. R.; TCHAN, Y. T. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: Recent advances. In: LADHA, J. K.; GEORGE, T.; BOHLOOL, B. B. (Ed.). **Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1992. p. 93-118.

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SANTOS, I. B. dos; ALMEIDA, B. M. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação: parte I: bactérias endofíticas diazotróficas isoladas das cultivares BRS 7 "Taim" e BRS Pelota**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 303).

RODRIGUES, L. da S.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Bulkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 275-284, 2006.

SABINO, D. C. C.; FERREIRA, J. S.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Avaliação da capacidade das bactérias *Burkholderia brasilensis* e *Herbaspirillum seropedicae* em promover o crescimento de plântulas de arroz**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. 3 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 45).

SILVA, D. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S.; VOSS, M. Bactérias diazotróficas nas folhas e colmos de plantas de arroz irrigado (*Oryza sativa*). **Revista Brasileira de Agrocência**, v. 13, n. 2, p. 181-187, 2007.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz**

**irrigado:** recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil.  
Porto Alegre: SOSBAI, 2010. 188 p.

VAHL, L. C.; ANGHINONI, I; VOLKWEISS, S. J. Cinética de absorção de potássio afetada por ferro, cálcio e magnésio em genótipos de arroz de diferentes sensibilidades à toxicidade de ferro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, n. 2, v. 17, p. 269-273, 1993.

**Embrapa**

---

*Clima Temperado*

CGPE 11745

Ministério da  
**Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PÁTRIA EDUCADORA