

CIRCULAR TÉCNICA

232

Pelotas, RS
Dezembro/2022

Linhagens de Arroz Irrigado Interativas com Bactérias Diazotróficas para Fixação Biológica de Nitrogênio

Paulo Ricardo Reis Fagundes
Maria Laura Turino Mattos
Ariano Martins de Magalhães Jr.
Matheus Boetege Mota
Henrique Ribeiro Lopes



Linhagens de Arroz Irrigado Interativas com Bactérias Diazotróficas para Fixação Biológica de Nitrogênio¹

O melhoramento genético de espécies vegetais, via de regra, prioriza características agrônômicas como produtividade, eficiência no uso de fertilizantes e a resistência a doenças, deixando de considerar as interações entre plantas e microrganismos associativos benéficos, alguns dos quais com a capacidade de fixar nitrogênio por meio do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Montanez et al., 2009), característica passível de seleção em programas de melhoramento.

Plantas não leguminosas, como arroz, trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar, têm demonstrado potencial para FBN, quando inoculadas com bactérias diazotróficas. A FBN nas diferentes culturas é dependente de uma interação complexa entre plantas, microrganismos e o ecossistema.

A capacidade de bactérias para colonizar, fixar e transferir nitrogênio, em simbiose com plantas de mecanismos envolvidos na interação planta x microrganismo x ambiente (Malarvizhi; Ladha, 1999), e a existência de variabilidade genética, tanto nos microrganismos potencialmente fixadores de nitrogênio como nos genótipos de arroz, têm sido amplamente demonstradas e discutidas (Shrestha; Ladha, 1996). Trabalhos conduzidos em ambiente controlado indicam que a bactéria *Herbaspirillum seropedicae*, associada à planta de arroz, pode fixar de 31% a 54% do nitrogênio total acumulado (Mirza et al., 2000). Assim, as cultivares de arroz irrigado BRS-7 Taim e BRS Pelota foram avaliadas quanto à capacidade de FBN. Ambas apresentaram potencial de fixação de N por meio da simbiose com bactérias endofíticas diazotróficas (BED) (Mattos et al., 2006). Esses autores relataram 36 isolados obtidos nas cultivares BRS-7 Taim (17) e BRS Pelota (19), os quais apresentaram capacidade para crescer em meio NFb (Novo Fábio Pedrosa), sendo, portanto, considerados diazotróficos endofíticos aeróbios.

¹ Paulo Ricardo Reis Fagundes, engenheiro-agrônomo, doutor em Melhoramento Genético, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Maria Laura Turino Mattos, engenheira-agrônoma, doutora em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Ariano Martins de Magalhães Jr., engenheiro-agrônomo, doutor em Melhoramento Genético, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Matheus Boetege Mota, acadêmico de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Pelotas, RS. Henrique Ribeiro Lopes, acadêmico de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Pelotas, RS.

Em estudo realizado com genótipos de arroz irrigado considerados promissores para alta FBN, foram identificadas diferenças significativas entre os genótipos em relação ao rendimento de grãos, acúmulo de matéria seca total e índice de colheita. A FBN com bactérias endofíticas diazotróficas pode beneficiar a cultura do arroz irrigado, existindo variabilidade genética para esse processo. Os genótipos IR 42 e CNA 680 mostraram-se promissores para a FBN, chegando a acumular, por meio desse processo, entre 20% e 30% do N total acumulado pela planta (Campos et al., 2003).

O teor relativo de clorofila na folha, avaliado por clorofilômetro SPAD-502 Minolta, pode ser um bom parâmetro indicador do nível de nitrogênio em cereais (Argenta et al., 2001). A obtenção de um índice relativo da clorofila (IRC), com base na intensidade da coloração verde das folhas, que se correlaciona com os teores de clorofila e de N na folha de arroz (Peng et al., 1993), é uma boa alternativa para estimar o estado nutricional das plantas, dado que 50% a 70% do N foliar estão associados aos cloroplastos (Schadchina; Dmitrieva, 1995).

A coleta de dados para estimar esse índice pode ser feita no campo, de forma simples, rápida e não destrutiva. Foram verificadas correlações significativas entre a leitura do clorofilômetro e os teores de clorofila de folha de cafeeiro cultivar Catuaí Vermelho e a linhagem IAC-81, bem como com a concentração de N foliar (Lima Filho et al., 1997).

Pocojeski et al. (2015) monitoraram o teor de nitrogênio (N) em plantas de arroz irrigado das cultivares IRGA 422CL e IRGA 424 com o uso do clorofilômetro, e associaram as leituras com a produção de matéria fresca e seca das plantas e com a produtividade de grãos. As produções de matéria fresca e seca e a quantidade de N acumulado responderam linearmente às doses de N. Não houve efeito de interação para as doses de N e a produtividade de grãos; porém, a resposta de produtividade de grãos, em função das doses de N, obedeceu a uma relação quadrática, em ambos os experimentos. No Rio Grande do Sul, foi constatado que o arroz irrigado por inundação realiza simbiose com bactérias endofíticas diazotróficas (BED), ocasionando alterações no índice relativo de clorofila (IRC), indicando que esses microrganismos promovem a FBN na cultura.

Dessa forma, postula-se que a seleção de genótipos de plantas responsivos à FBN é fundamental para a redução do uso de fertilizantes nitrogenados em diversas culturas de importância econômica, podendo ser aplicada ao arroz irrigado.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é relatar os resultados obtidos na avaliação de genótipos de arroz irrigado do programa de melhoramento da Embrapa, com relação à capacidade de fixação biológica de nitrogênio, com base nas variáveis índice relativo de clorofila na folha e rendimento de grãos.

Metodologia

O estudo foi conduzido, na safra 2021/2022, na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, localizada no município de Capão do Leão, RS. A implantação do experimento foi no sistema de cultivo convencional, sobre um Planossolo Háplico, contendo 24% de argila, 1,6% de M.O; 33,8 e 58,0 mg dm⁻³ de P e K, respectivamente; CTC igual a 8,6 cmol_c dm⁻³ e pH em água 5,2. Não se procedeu à calagem para a correção da acidez do solo e, como adubação de base, foram aplicados 325 kg ha⁻¹, da formulação 5-20-20 (NPK), de acordo com as recomendações técnicas da pesquisa (Reunião..., 2018). As plantas foram inoculadas com um consórcio de acessos preservados na Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado (CMMCT): CMM 176+CMM 197+CMM 205. O inoculante, na forma turfosa, foi preparado no Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Clima Temperado, conforme Mattos et al. (2020).

O experimento seguiu o delineamento de parcelas subdivididas, com três repetições, em que o fator A (parcelas principais) teve dois níveis (T1: adubação nitrogenada mineral; e T2: adubação nitrogenada mineral reduzida, associada à inoculação com BED), e o fator B (subparcelas) teve 14 níveis, correspondentes aos genótipos de arroz irrigado BRS Pampa CL, AB 10501, LTB 16085, LTB 17001, LTB 17024 e SEL.TB 1211-3 de ciclo precoce (< 126 dia da emergência à maturação de campo); BRS Pampeira, LTB 16041, LTB 16052, LTB 16082, LTB 17033, LTB 17082, de ciclo médio (126 a 140 dias da emergência à maturação de campo) e as testemunhas responsivas à FBN CNA 6807, IR 42 ciclo tardio (> 140 dias da emergência à maturação de

campo). A semeadura foi realizada em faixas com 15 metros de comprimento, espaçadas entre si em 0,20 m. Cada parcela foi formada por 9 fileiras de plantas com 5 metros de comprimento (9,0 m²). A área útil das parcelas foi de 7 fileiras de 2 metros de comprimento (2,8 m²). O T1 constou do seguinte manejo da adubação: 120 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha⁻¹ de N na base + 103,75 kg ha⁻¹ de N, em cobertura, sendo 60 kg no estágio V3-V4 + 43,75 kg em R0) (Counce et al., 2000). O T2 foi adubado com 76,25 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha⁻¹ de N na base + 60 kg ha⁻¹ de N em V3V4) + BED. A semeadura foi realizada em 11/11/2021 e a emergência das plântulas ocorreu em 27/11/2021. Foram semeadas 60 sementes por metro linear, sendo que esse número foi corrigido conforme o poder germinativo.

O IRC foi determinado na folha bandeira de dez plantas escolhidas ao acaso em cada unidade experimental, utilizando clorofilômetro SPAD-502 Minolta. As avaliações foram realizadas no estágio V₉ (Counce et al., 2000). Por ocasião da maturação de colheita, foi determinado o rendimento de grãos (REND) da parcela útil, em t ha⁻¹, sendo os dados corrigidos para 130 g kg⁻¹ de umidade. Para fins de comparação entre os tratamentos com e sem inoculação com BED, foi gerada a variável resposta “diferencial de resposta” (Δd), dada pela expressão $\Delta d = T2 - T1$, a qual também é expressa em porcentagem ($\Delta d\%$), para cada variável, a fim de se estabelecer o grau de variação de resposta entre os tratamentos com e sem inoculação. Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SISVAR (Ferreira, 2019), e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados

A análise da variância indicou que houve efeito da interação T x G, para a variável índice relativo de clorofila. Na comparação entre a adubação com N (T1) e a com N reduzido mais a inoculação (T2), verificou-se que houve uma resposta média negativa, quando da substituição parcial do N mineral pelo N suprido pelas BEDs, indicando que, em média, a inoculação com BED não foi capaz de suprir a necessidade de N para as plantas, em comparação ao tratamento com aplicação total de N. Contudo, comparando-se os tratamentos T1 e T2 dentro de cada genótipo (Tabela 1), as linhagens LTB 16052, LTB 17001, LTB 17024 e LTB 1733 não diferiram quanto ao IRC, quando submeti-

das aos manejos de N T1 e T2, comportamento esse semelhante ao verificado para os genótipos testemunhas CNA 6807, IR 42 e a cultivar BRS Pampa CL. Esse resultado é indicativo da existência de associação entre as plantas de arroz e as BEDs e do potencial dessas bactérias em suprir parcialmente N via FBN para as plantas de genótipos de arroz mais responsivos à FBN.

Embora a literatura indique que o IRC é uma variável diretamente proporcional ao teor de N nas folhas, genótipos de arroz que expressam IRC menor na presença de BED, como as linhagens SEL.TB 1211-3 e LTB 17024, podem apresentar rendimento de grãos elevado, devido ao fato de o IRC ser indicador do estado nutricional das plantas de arroz irrigado com relação à disponibilidade de N, mas não produzir uma informação precisa sobre a necessidade de aplicação de N com reflexos na produtividade (Pocojeski et al., 2015).

A análise da variância para rendimento de grãos (REND) não indicou efeito dos fatores manejo do N (T), mas indicou efeito para genótipos (G) e para interação entre esses (TxG). O rendimento médio de grãos do experimento foi de 10,7 kg ha⁻¹, variando entre 10,6 t ha⁻¹, no T1, e 10,8 t ha⁻¹, no T2, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos com e sem a presença de BED inoculante (Tabela 2).

A fim de discutir com mais propriedade esses resultados, deve-se levar em consideração o ciclo dos genótipos. Genótipos que apresentam ciclos mais longos, acima de 130 dias da emergência das plantas até a maturação de campo, tendem a ser mais exigentes e menos responsivos à aplicação de N do que genótipos de ciclos mais curtos (precoce e médio). Assim, infere-se que a contribuição das BEDs para o aporte de N, via FBN em genótipos de ciclo precoces e médio, é capaz de suprir parcialmente a necessidade de N da planta, quando associada à adubação mineral.

A comparação de REND dentro de cada genótipo (Tabela 2), evidencia que, à exceção da cultivar BRS Pampeira, de ciclo médio, que apresentou maior produtividade quando da aplicação de 100% de N mineral (T1), as linhagens SEL.TB 1211-3 e LTB 17024, de ciclo precoce, obtiveram maior rendimento de grãos quando inoculadas com BEDs, e os demais genótipos de ciclo precoce, BRS Pampa CL, LTB 10501, LTB 16085 e LTB 17001, e de ciclo médio, LTB 16041, LTB 16052, LTB 16082, LTB 17033 e LTB 17082, não mostraram diferenças significativas de rendimento de grãos em função dos tratamentos.

Esse resultado corrobora a possibilidade de substituição de até 36% do N mineral pelo N disponibilizado pelas BEDs, valor intermediário aos limites citados por Baldani et al. (2000) e Mirza et al. (2000), para as linhagens LTB 10501, LTB 16085, LTB 17001, LTB 16041, LTB 16052, LTB 16082, LTB 17033, LTB 17082 e a cultivar BRS Pampa CL

Tabela 1. Índice Relativo de Clorofila (IRC) na folha bandeira do arroz e diferencial de resposta (Δd e $\Delta d\%$) de 14 genótipos de arroz irrigado, com e sem inoculação com bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2021/2022.

Genótipo	T1 ¹	T2	Média	Δd	$\Delta d\%$
BRS PAMPA CL	34,29 a ¹	34,71 a	34,50	NS ³	NS
IR 42	30,78 a	29,36 a	30,07	NS	NS
LTB 17001	32,32 a	31,98 a	32,15	NS	NS
LTB 17033	31,18 a	29,04 a	30,11	NS	NS
CNA 6807	27,24 a	27,96 a	27,60	NS	NS
AB 10501	32,38 a	29,81 b	31,10	- 2,57	- 7,94
LTB 16052	23,42 a	22,47 a	22,95	NS	NS
SEL.TB 1211-3	27,09 a	21,40 b	24,25	- 5,69	-21,00
LTB 17024	27,97 a	27,22 a	27,60	NS	NS
LTB16082	32,10 a	28,11 b	30,11	- 3,99	- 12,43
LTB 16041	36,04 a	33,06 b	34,55	- 2,98	-8,27
LTB 17082	32,08 a	29,49 b	30,79	- 2,59	- 8,07
LTB 16085	33,18 a	30,70 b	31,94	- 2,48	- 7,47
BRS PAMPEIRA	32,82 a	27,19 b	30,01	- 5,63	- 17,15
Média	32,10	28,75	30,43	- 3,70	- 11,76

¹Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

²T1 – 120 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha de N, na base + 103,75 kg ha de N, em cobertura (60 kg em V₃-V₄ + 43,5 Kg, em R0);

T2 – 76,25 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha⁻¹ de N, na base + 60 kg ha⁻¹ de N, em V₃-V₄ + BED

³NS – Não significativo.

Tabela 2. Rendimento de Grãos (REND) e diferencial de resposta (Δd e $\Delta d\%$) de 12 genótipos de arroz irrigado, com e sem inoculação com bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2021/2022.

Genótipo	IRC		Média	Δd	$\Delta d\%$
	T1 ²	T2			
LTB 16085	11,8 a	12,4 a	12,1	NS	NS
LTB 17082	11,9 a	11,5 a	11,7	NS	NS
LTB 17033	11,7 a	11,3 a	11,5	NS	NS
LTB 16082	11,5 a	11,5 a	11,5	NS	NS
BRS PAMPEIRA	11,5 a	10,6 b	11,0	- 0,9	- 8,49
LTB 17001	10,6 a	11,1 a	10,8	NS	NS
AB 10501	10,8 a	10,5 a	10,7	NS	NS
SEL.TB 1211-3	10,3 b	12,2 a	10,7	1,9	15,57
LTB 16052	9,8 a	10,1 a	10,0	NS	NS
LTB17024	9,4 b	10,4 a	9,9	1,0	9,62
BRS PAMPA CL	9,3 a	9,5 a	9,4	NS	NS
LTB 16041	9,1 a	8,9 a	9,0	NS	NS
Média	10,6	10,8	10,7	0,2	1,77

¹Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

²T1 – 120 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha de N, na base + 103,75 kg ha⁻¹ de N, em cobertura (60 kg em V₃-V₄ + 43,5 Kg, em R0);

T2 – 76,25 kg ha⁻¹ de N (16,25 kg ha⁻¹ de N, na base + 60 kg ha⁻¹ de N, em V₃-V₄ + BED.

³NS – Não significativo

Considerações finais

O arroz irrigado realiza o processo de FBN associado a bactérias diazotróficas endofíticas (BED), ocasionando alterações no índice relativo de clorofila e no rendimento de grãos, sendo um indicativo de que esses microrganismos podem promover a FBN em genótipos de arroz irrigado. A linhagem CNA 6807 e a cultivar BRS Pampa CL apresentam as maiores respostas diferenciais quanto à contribuição positiva das BEDs à presença de clorofila no tecido foliar.

É importante considerar que os resultados descritos foram obtidos em experimento realizado em apenas uma safra agrícola e em uma condição edafo-climática, sendo necessário que seja replicado em outros ambientes (ano x local), para definição do nível de substituição parcial do N mineral aportado pelas BEDs para os genótipos.

Agradecimentos

À técnica Ieda Baade dos Santos e aos assistentes Claudinei Bonemann Rosso, Elton Rogério Nolasco da Fonseca e Jaime Damasceno Mota, pelo apoio na execução das atividades experimentais.

Referências

- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; BORTOLINI, C. G. Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 715-722, 2001.
- 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**, Berlin, v. 30, p. 485-491, 2000.
- CAMPOS, D. V. B. de; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica do nitrogênio para a cultura do arroz sob inundação. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 41-46, 2003.
- CANUTO, E. L.; OLIVEIRA, A. L. M.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Evaluation of the biological nitrogen fixation contribution in sugarcane plants originated from seeds and inoculated with nitrogen-fixing endophytes. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, p. 62-64, 2003.
- COUNCE, P. A. KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 436-443, 2000.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. DOI: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- LIMA FILHO, O. F.; MALAVOLTA, E.; CABRAL, C. P. Avaliação preliminar de um medidor portátil de clorofila como ferramenta para o manejo da adubação nitrogenada do cafeeiro. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 40, p. 642-650, 1997.
- MALARVIZHI, P.; LADHA, J. K. Influence of available nitrogen and rice genotype on associative nitrogen fixation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, p. 93-99, 1999.

MATTOS, M. L. T.; SCIVITTARO, W. B.; VALGAS, R. A.; MELO, I. S. de; HUNGRIA, M. **Eficiência agrônômica de bactérias endofíticas diazotróficas para a fixação de nitrogênio e promoção do crescimento de arroz irrigado cultivado em terras baixas.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2020. 13 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 210).

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R.; SANTOS, I. M. B. Ocorrência de bactérias endofíticas diazotróficas na folha, colmo e raiz da cultivar BRS Taim de arroz irrigado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. **A busca das raízes:** anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD-ROM. FERTBIO.

MIRZA, M. S.; RASUL, G.; MEHNAZ, S.; LADHA, J. K.; SO, R.; ALI, S.; MALIK, K. A. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. In: LADHA, J. K., REDDY, P. M. (ed.). **The quest for nitrogen fixation in rice.** Los Baños: International Rice Research Institute, 2000. p. 191-204.

MONTANEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 45, p. 253-263, 2009.

PENG, S.; GARCÍA, F. V.; LAZA, R. C.; CASSMAN, K. G. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, n. 5, p. 987-990, 1993.

POCOJESKI, E.; SILVA, L. S. da; KAEFER, S.; MORO, V. J.; GUSTAVO GRIEBELER, G. Uso do clorofilômetro no monitoramento nutricional de arroz irrigado com vistas ao manejo da adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 3, p. 310-318, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201562030011>

REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 32., 2018, Farroupilha. Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Cachoeirinha: SOSBAI, 2018 205 p. il.

SHRESTHA, R. K.; LADHA, J. K. Genotypic variation in promotion of rice nitrogen fixation as determined by ¹⁵N dilution. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 60, p. 1815-1821, 1996.

Embrapa Clima Temperado
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

1ª edição
Publicação digital: PDF



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações

Presidente

Luis Antônio Suíta de Castro

Vice-presidente

Walkyria Bueno Scivittaro

Secretária-executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,

Marilaine Schaun Pelufé, Sonia Desimon

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Marilaine Schaun Pelufé

Editoração eletrônica

Nathália Santos Fick (46.431.873/0001-50)

Foto da capa

Paulo Lanzetta

CGPE: 017862