

PARÂMETROS DE NODULAÇÃO E TEOR DE PROTEÍNAS EM RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA ASSOCIADAS SIMBIOTICAMENTE COM *BRADYRHIZOBIUM* E COINOCULADAS COM *AZOSPIRILLUM*

EDUARDO PEREIRA SHIMOIA¹; CRISTIANE JOVELINA DA SILVA²; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO²; DARWIN ALEXIS POMAGUALLI AGUALONGO²; LUCIANO DO AMARANTE³

¹Universidade Federal de Pelotas Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Plantas – eduardopshimoia@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Plantas - cristianejovs@yahoo.com.br; douglasposso@hotmail.com; pomagualli@yahoo.es

³Universidade Federal de Pelotas Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Plantas - lucianodoamarante@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das espécies vegetais mais cultivadas no Brasil, constituindo o segundo maior país produtor da leguminosa e o maior exportador mundial de produtos do complexo da soja. O plantio nacional dessa espécie apresentou aumento de 2,1% comparado com a safra anterior, com uma produção de 115,1 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

Entretanto, sabe-se que produção de soja seria inviável economicamente, no Brasil, se toda a demanda de nitrogênio da cultura fosse fornecida por meio de adubações minerais devido à quantidade requerida pela cultura e custo da adubação nitrogenada (HUNGRIA, 2007). Desta forma o fator determinante para a viabilidade do cultivo é a simbiose entre bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, mais especificamente *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*, capazes de fixar o nitrogênio atmosférico e fornecê-lo para a planta.

Neste contexto são inúmeras as linhas de pesquisas com objetivo de otimizar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio. No entanto, a coinoculação da cultura da soja com *Bradyrhizobium* e bactérias da espécie *Azospirillum brasilense* é uma das formas ainda pouco estudadas. HUNGRIA (2013), relata que a coinoculação proporciona um aumento de rendimento para a cultura da soja em relação a soja apenas inoculada com *Bradyrhizobium*. Outra das razões para o melhor crescimento e rendimento das culturas quando coinoculadas com a bactéria é a capacidade que esta tem de liberar fito-hormônios no sistema radicular, pois plantas com sistemas radiculares bem desenvolvidos são plantas mais vigorosas (MOLLA et al., 2001).

Considerando o exposto, o estudo da coinoculação, associação da cultura da soja com bactérias promotoras do crescimento e bactérias fixadoras de nitrogênio é indispensável para a obtenção de informações adequadas sobre estas práticas de manejo. A fim de manter ou aumentar a produção da cultura o presente trabalho tem por objetivo estudar algumas respostas morfológicas e bioquímicas de plantas de soja coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação utilizando acessos de [*Glycine max* (L.) Merrill] da cultivar BRS 6049. As plantas foram cultivadas em vasos plásticos com volume de três litros, utilizando vermiculita como substrato. A nutrição das plantas foi realizada fornecendo-se a solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND; ARNON 1950) sem adição de nitrogênio. Para estabelecimento dos tratamentos as sementes foram previamente tratadas com inoculantes comerciais,

em que no tratamento um, as sementes foram tratadas apenas com *Bradyrhizobium japonicum* e para o tratamento dois, as sementes foram coinoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em que cada vaso continha uma planta constituindo assim, a unidade experimental.

Quando a maioria das plantas encontravam-se em estágio fenológico V3 (FEHR; CAVINESS, 1977), foram realizadas a contagem do número de nódulos na coroa e número de nódulos por planta, de forma manual, o tamanho dos nódulos, utilizando-se um paquímetro digital e a massa seca de nódulos por meio da secagem em estufa a 65°C até atingirem massa constante, determinada em balança analítica. Em raízes foi quantificado o teor de proteínas pelo método de Bradford (1976). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro, sendo utilizado o software Statistix.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para número total de nódulos, Figura 1, mostram que houve diferença significativa entre os tratamentos sendo que o tratamento de coinoculação apresentou uma nodulação total menor do que o tratamento apenas com inoculação com rizóbio. Esses dados corroboram com os dados encontrados por FERLINI (2006), pois muitas vezes o número total de nódulos é menor em tratamentos com mais de uma bactéria, variando em função do nível de concentração do inóculo e do tipo de inoculação.

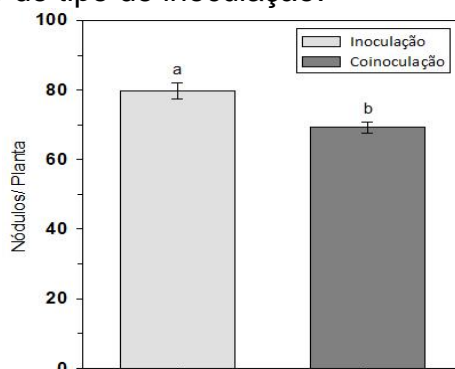


Figura 1: Número total de nódulos em raízes de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium* e coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Médias seguidas por letras diferentes indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os dois tratamentos. Valores representam a média \pm desvio padrão (DP) ($n=4$).

As variáveis número de nódulos de acordo com o seu tamanho (>2 mm) e o número de nódulos na coroa diferiram significativamente entre os tratamentos inoculado e coinoculado. Avaliando o teor de proteína presente na raiz, ocorreu um aumento da concentração de proteínas em plantas coinoculadas, o que pode ser um indicativo de melhorias no metabolismo nitrogenado. Segundo WESTBY (1987) o nitrogênio fixado pelo *Azospirillum* é disponibilizado para as plantas na forma de NH_4^+ , assim aumentando a produção e disponibilidade de aminoácidos e proteínas para a planta. Essas diferenças podem ser explicadas por REMANS (2008), em que os níveis de auxina aumentados no sistema radicular pela presença do *Azospirillum*, influenciaram diretamente na formação dos nódulos e corroboram com os resultados encontrados por SCHIMIDT (1988) que também obteve um maior número de nódulos quando cultivando plantas coinoculadas ou ainda quando estas eram tratadas com auxina exógena.

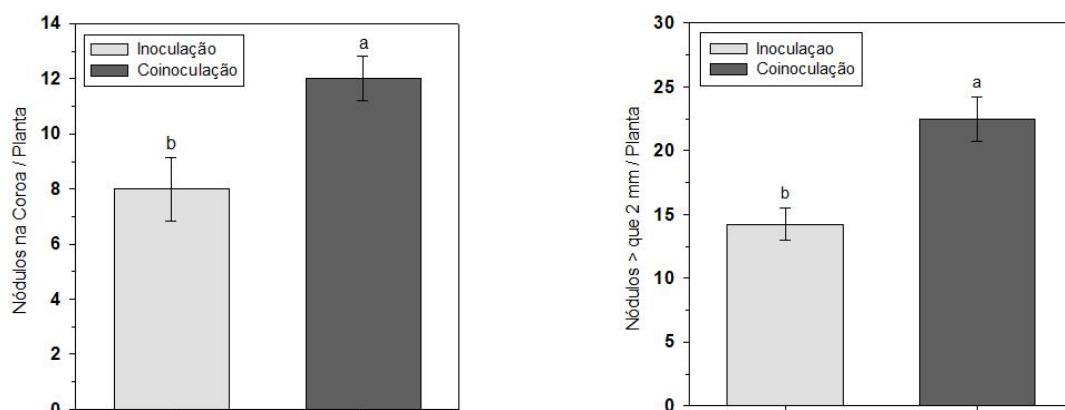


Figura 2: Número de nódulos na coroa e número de nódulos > que 2 mm em plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium* e coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Médias seguidas por letras diferentes indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os dois tratamentos. Valores representam a média \pm desvio padrão (DP) (n=4).

Os resultados para a massa seca total de nódulos mostraram um aumento significativo no tratamento de coinoculação (Figura 3). O aumento da massa de nódulos em função do seu tamanho é de suma importância para a fixação do nitrogênio pois conforme PULDEKO (2004), plantas com uma baixa massa de nódulos pode diminuir em até 25% o acúmulo de nitrogênio. Avaliando o teor de proteína presente na raiz, ocorreu um aumento da concentração de proteínas em plantas coinoculadas, sendo um indicativo de melhorias no metabolismo nitrogenado. Segundo WESTBY (1987) o nitrogênio fixado pelo *Azospirillum* é disponibilizado para as plantas na forma de NH_4^+ , assim aumentando a produção e disponibilidade de aminoácidos e proteínas para a planta.

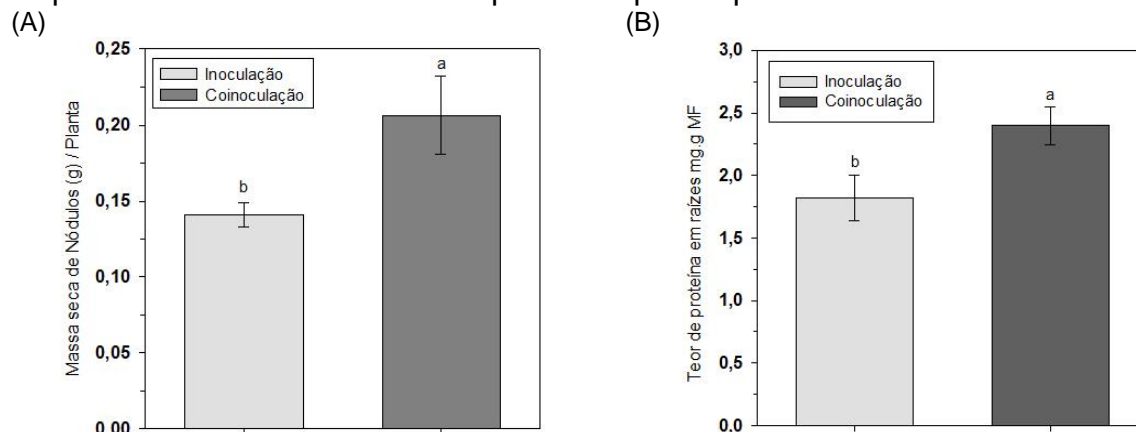


Figura 3: (A) Massa total de nódulos e (B) Teores de proteínas em raízes de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium* e coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Médias seguidas por letras diferentes indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os dois tratamentos. Valores representam a média \pm desvio padrão (DP) (n=4).

4. CONCLUSÕES

Os resultados preliminares sugerem que a presença do *Azospirillum* na associação *Bradyrhizobium* e plantas de soja proporciona uma melhora significativa dos parâmetros de nodulação avaliados. Estudos mais aprofundados são necessários para a comprovação de uma melhor eficiência do metabolismo nitrogenado em plantas coinoculadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÁRBARO, I. M.; BRANCALIAO, S. R.; da **Técnica alternativa: coinoculação soja com Azospirillum e Bradyrhizobium visando incremento de produtividade.** Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm>. Acesso em: 23/10/2018

BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

CONAB | **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos | V. 5 - Safra 2018/19, N.13 - Décimo Segundo Levantamento, agosto 2019.** Disponível Em: [Www.Conab. Gov.Br](http://www.conab.gov.br); Dia 14/09/2019.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development.** Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report 80).

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glicyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*.** Artículos Técnicos – Agricultura. 2006. Disponível: em <http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glicyne_s_articulos_800_AGR.htm> . Acesso: 14 setem. 2019.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: **California Agriculture Experimental Station**, 347 p. (Circular, 347), 1950.

HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M. A; ARAUJO, R.S. Co-Inoculation of Soybeans and Common Beans with Rhizobia and Azospirilla: Strategies to Improve Sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, 49, 791-801.

HUNGRIA, M; A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. – Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, (Documentos, 290) 2007.

MOLLA, A.H., SHAMSUDDIN, Z.H., HALIMI, M.S., MORZIAH, M., PUTEH, A.B., 2001. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with Azospirillum and Bradyrhizobium in laboratory systems. **Soil Biol. Biochem.** 33, 457–463.

REMANS, R., BEEBE, S., BLAIR, M., MANRIQUE, G., TOVAR, E., RAO, I., CROONENBORGH, A., TORRES-GUTIERREZ, R., EL-HWEITY, M., MICHIELS, J., VANDERLEYDEN, J., 2008. Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth-promoting bacteria in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Soil** 302, 149–161.

SCHMIDT W, MARTIN P, OMAI H, BANGERTH F (1988) Influence of Azospirillum brasilense on nodulation of legumes. In: Klingmu "ller W (ed) Azospirillum IV. Genetics, physiology, ecology. **Springer**, Heidelberg, pp 92–100

WESTBY, C.A., ENDERLIN, C.S., STEINBERG, N.A., JOSEPH, C.M. AND MEEKS, J.C. (1987) Assimilation of ¹³NH₄ by Azospirillum brasilense grown under nitrogen limitation and excess. **Journal. Bacteriol.** 169, 4211^4214.