

## ASSIMILAÇÃO DE CARBONO EM PLANTAS DE SOJA COINOCULADAS COM *AZOSPIRILLUM* E SUBMETIDAS AO ALAGAMENTO E ELEVADO CO<sub>2</sub>

KIMBERLY DOS SANTOS ALVES<sup>1</sup>; ADRIANO UDICHI BESTER<sup>2</sup>; CRISTIANE JOVELINA DA SILVA<sup>2</sup>; DOUGLAS ANTONIO POSSO<sup>2</sup>; EDUARDO PEREIRA SHIMOIA<sup>2</sup>; LUCIANO DO AMARANTE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – kim\_santos2010@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – eduardopshimoia@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – lucianoamarante@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas, como temperatura, pluviosidade dentre outros, que ocorreriam de forma natural, foram intensificadas devido à ação antrópica no último século. Um dos fatores mais alterados, responsáveis por essas alterações no clima, é a emissão de gases de efeito estufa, principalmente o CO<sub>2</sub>. Estimativas indicam que os níveis atuais de CO<sub>2</sub> (415 ppm) (Observatório Mauna Loa – EUA) dobrem até o final deste século (JACKSON et al., 2017). Concomitante a isso, estudos mostram um substancial aumento das áreas e frequência (42%) do alagamento em todo o planeta (VOESENEK et al 2013; IPCC 2014).

O Brasil, maior produtor mundial de soja, utiliza como principal fonte de nitrogênio o N<sub>2</sub> atmosférico, o qual é fixado por meio da associação da cultura com bactérias diazotróficas. No Rio Grande do Sul, grande parte da produção de soja é oriunda de aéreas em rotação com a cultura do arroz irrigado, cultivado em regiões sujeitas a alagamentos recorrentes (IRGA 2022). Ao passo que altos níveis de CO<sub>2</sub> melhoram a fixação de carbono e nitrogênio, principalmente em plantas classificadas fotosinteticamente como C3, o alagamento atua em sentido contrário, diminuindo a taxa fotossintética, devido à redução da condutância estomática e disponibilidades de energia, tanto para sustentar o metabolismo quanto a fixação de nitrogênio pelas bactérias do diazotróficas (DO AMARANTE et al., 2006).

Recentemente a prática de coinoculação da cultura com bactérias promotoras do crescimento como o *Azospirillum brasilense*, vem se tornando frequente na agricultura brasileira. A associação com *Azospirillum* permite às plantas uma maior taxa fotossintética (DE FREITAS, et al., 2022) e maior crescimento e desenvolvimento (DE OLIVEIRA, et al., 2022), respostas que são fortemente reduzidas durante o alagamento. Assim o objetivo do trabalho foi avaliar a assimilação de carbono e o crescimento de plantas de soja quando coinoculadas com *Azospirillum* e cultivadas em ambientes alagados sob alto nível de CO<sub>2</sub>.

### 2. METODOLOGIA

Sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar sensível ao alagamento (PEL BRS 15-7060), fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) foram inoculadas e coinoculadas com os seguintes diazotróficos, *Bradyrhizobium japonicum* (estirpes SEMIA 5079 e 5080, com 8x10<sup>9</sup> UFC/g) e *Azospirillum brasilense* (cepas Ab-v5 e Ab-v6 com 2 x 10<sup>9</sup> UFC/mL). A germinação e cultivo ocorreu em vasos com volume de um litro contendo planossolo háplico. Os vasos foram dispostos em duas OTC (câmara de topo aberto) diferenciadas por suas concentrações de CO<sub>2</sub>, 400 e 700 ppm. Quando as plantas atingiram o estágio fenológico V5 (Fehr et al., 1971) foram alagadas colocando os vasos dentro de recipientes sem furos e preenchidos com água. Aos sete dias de alagamento, foram

avaliados a taxa fotossintética líquida (**A**), condutância estomática (**gs**) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (**C<sub>i</sub>**) por meio de um analisador de gás infravermelho – IRGA e o acúmulo da massa seca de parte aérea (**MSPA**) após secagem das amostras em estufa de ventilação forçada até atingirem massa constante. O experimento foi conduzido em esquema trifatorial condição de estresse, tratamento microbiológico e níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico) utilizando delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições e a unidade experimental foi constituída duas plantas, conforme (Quadro 1). Os dados foram analisados por ANOVA e nos casos de interação significativa entre os fatores, as médias foram comparadas pelo teste t de Student ( $P < 0,05$ ). As análises estatísticas e figuras foram realizadas utilizando os softwares RBio e Excel 365, respectivamente.

Quadro 1: Descrição dos tratamentos:

Níveis de CO <sub>2</sub>	Tratamento microbiológico	Condição Hídrica
Nível de CO <sub>2</sub> 400 ppm	T1- <i>Bradyrhizobium</i>	Controle
	T2- <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	Controle
	T3- <i>Bradyrhizobium</i>	Alagamento
	T4- <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	Alagamento
Nível de CO <sub>2</sub> 700 ppm	T5- <i>Bradyrhizobium</i>	Controle
	T6- <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	Controle
	T7- <i>Bradyrhizobium</i>	Alagamento
	T8- <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	Alagamento

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas coinoculadas com *Azospirillum* apresentaram um aumento da MSPA em relação às plantas somente inoculadas com *Bradyrhizobium*, mesmo em plantas alagadas (Figura 1.A). A combinação de altos níveis de CO<sub>2</sub> (700 ppm) com alagamento, resultou em reduções na MSPA, independente do sistema simbiótico. A coinoculação com *Azospirillum* promoveu incremento de MSPA nas plantas alagadas em condições normais de CO<sub>2</sub> muito similar ao encontrado em plantas crescidas sob altos níveis de CO<sub>2</sub>. O aumento de massa seca de parte aérea em plantas com metabolismo C<sub>3</sub>, é descrito por Soares et al. (2022) quando as plantas são cultivadas em ambientes enriquecidos com CO<sub>2</sub>, o que também foi verificado para as plantas do tratamento com coinoculação, o qual promoveu aumentos na fotossíntese líquida (**A**) (Figura 1B), resultando no incremento de MSPA.

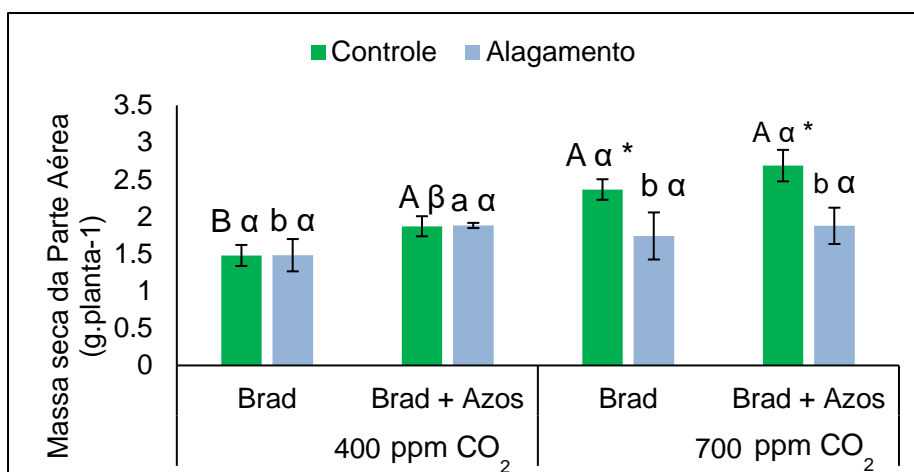
A **A** (Figura 1B) foi menor nas plantas controle coinoculadas e cultivadas na concentração de 400 µmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>, mesmo tendo resultado em maior acúmulo de massa em relação ao grupo de plantas inoculadas (Brad), caracterizando uma maior eficiência na assimilação do carbono. Entretanto, em condições de alagamento as plantas do tratamento com coinoculação mantiveram a fotossíntese em maior taxa que as plantas somente inoculadas com *Bradyrhizobium*, tanto em plantas cultivadas em 400 quanto 700 ppm de CO<sub>2</sub>.

Os aumentos de MSPA e **A**, foram sustentados por maior condutância estomática (**gs**) (Figura 1C) bem como altos níveis de concentração interna de CO<sub>2</sub> (**C<sub>i</sub>**) (Figura 1D). Plantas coinoculadas com *Azospirillum* apresentaram maior **gs** em condições normais de CO<sub>2</sub>, contudo no ambiente enriquecido com CO<sub>2</sub> a **gs** diminuiu significativamente em plantas alagadas, provavelmente devido à deficiência energética causada pela hipóxia (DA SILVA et al., 2020). Mesmo com taxas menores de **gs** e com a mesma **C<sub>i</sub>**, plantas coinoculadas foram mais eficientes em transformar o CO<sub>2</sub> atmosférico em estruturas para a planta, característica desejável, uma

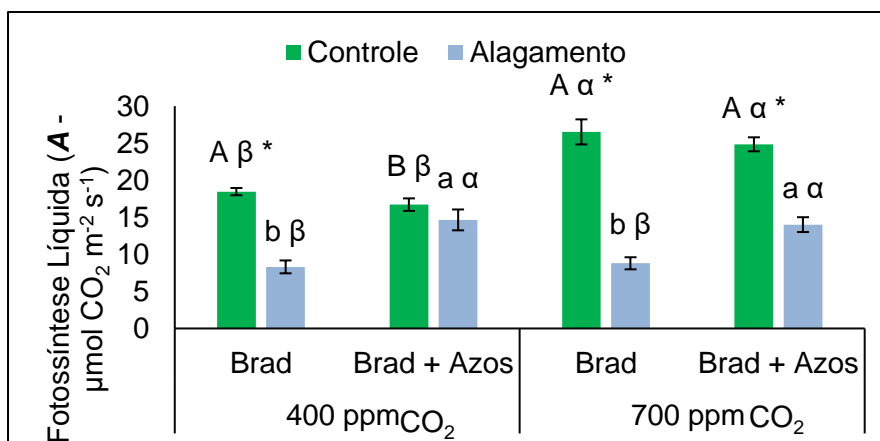
vez que a planta pode utilizar destas reservas de carbono para tolerar o alagamento.

Figura 1: Massa seca de parte aérea (MSPA) (A), fotossíntese líquida ( $A_c$ ) (B), condutância estomática ( $g_s$ ) (C) e concentração interna de  $CO_2$  (Ci) (D) em plantas de soja cultivadas em associação com *Bradyrhizobium* e em combinação com *Azospirillum* sob dois níveis de  $CO_2$  atmosférico (400 e 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) submetidas à condição de alagamento por sete dias. Asteriscos indicam diferença entre plantas alagadas e controles para cada condição simbiótica e concentração de  $CO_2$ , letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os controles e letras minúsculas indicam diferença entre os tratamentos para a condição de alagamento para cada concentração de  $CO_2$  e letras gregas diferentes indicam diferença entre os níveis de  $CO_2$  para cada associação simbiótica e condição de estresse (controle e alagamento). Valores representam a média  $\pm$  DP,  $n=4$ . (teste t;  $P < 0,05$ ) Brad - Inoculação com *Bradyrhizobium*; Brad + Azos - coinoculação com *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*.

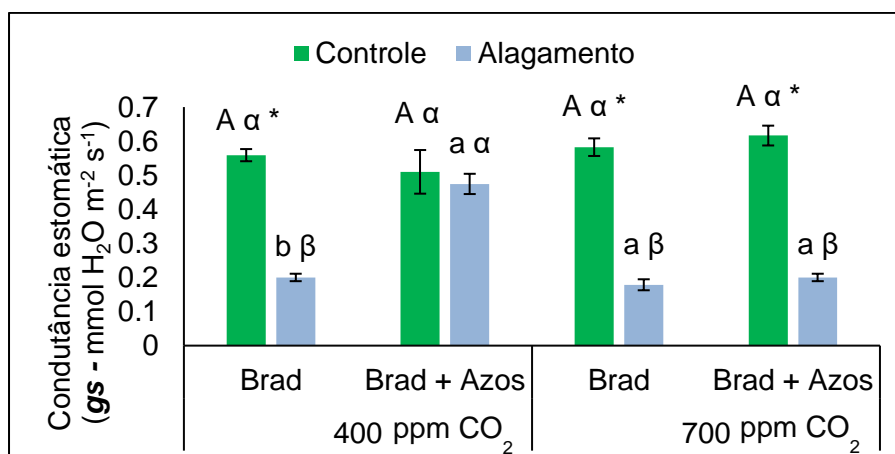
A)



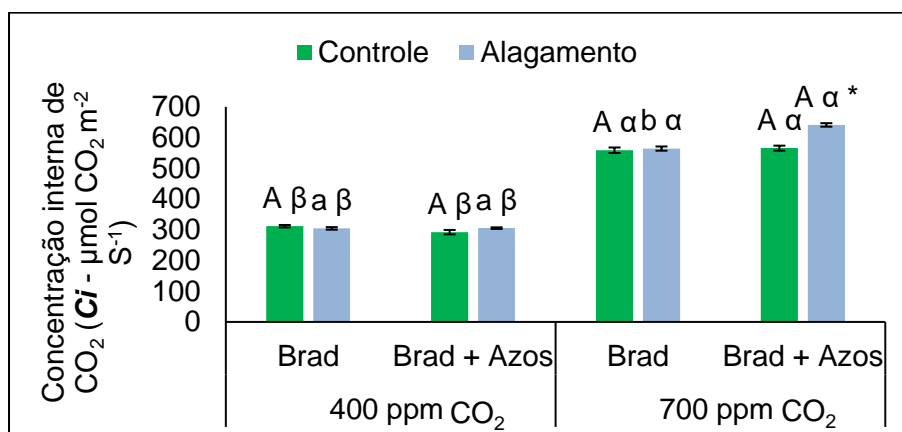
B)



C)



D)



#### 4. CONCLUSÃO

A coinoculação de plantas de soja com *Azospirillum* promove um aumento de massa seca da parte aérea, sustentada por maior assimilação de carbono e condutância estomática, mesmo em plantas submetidas ao alagamento, porém esse efeito é atenuado quando as plantas são cultivadas sob elevado CO<sub>2</sub>.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DA-SILVA, C. J., & DO AMARANTE, L. Short-term nitrate supply decreases fermentation and oxidative stress caused by waterlogging in soybean plants. **Environmental and Experimental Botany**, 176, 104078. (2020).
- DE FREITAS, V. F., CEREZINI, P., HUNGRIA, M., & NOGUEIRA, M. A. Strategies to deal with drought-stress in biological nitrogen fixation in soybean. **Applied Soil Ecology**, 172, 104352. (2022)
- DE OLIVEIRA LOPES, Á. L., SETUBAL, I. S., DA COSTA NETO, V. P., ZILLI, J. E., RODRIGUES, A. C., & BONIFACIO, A. Synergism of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* *bal-daniorum* improves growth and symbiotic performance in lima bean under salinity by positive modulations in leaf nitrogen compounds. **Applied Soil Ecology**, 180, 104603. (2022)
- DO AMARANTE, L.; LIMA, J. D.; SODEK, L. Growth and stress conditions cause similar changes in xylem amino acids for different legume species. **Environmental and experimental Botany**, v. 58, n. 1-3, p. 123-129, 2006.
- FEHR e CAVINESS, W.R. Fehr, C.E. Caviness Stages of Soybean Development Iowa State University, Ames, IA. (1977)
- JACKSON RB, LE QUÉRE C, ANDREW RM, CANADELL JG, PETERS GP, ROY J, WU L. Warning signs for stabilizing global CO2 emissions. **Environmental Research Letters** 12, 110202. (2017).
- SOARES, J. C., PINTADO, M., & VASCONCELOS, M. W. Short-term exposure to elevated CO2 stimulates growth and metabolic responses that alleviate early-stage iron deficiency symptoms in soybean. **Journal of Plant Interactions**, 17(1), 50-59. (2022)
- VOESENEK, L. A. C. J., & SASIDHARAN, R. Ethylene—and oxygen signalling—drive plant survival during flooding. **Plant Biology**, 15(3), 426-435, 2013
- Databyte via Freshwater Resources from the AR5 Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability Report. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC).2014 Available em: <https://www.publichealthpost.org/databyte/global-flood-risk-under-climate-change/>