

Minimização dos efeitos do alagamento sobre soja por bactérias supressoras de etileno

CATTELAN, A.J.¹; FANTINATO, G.G.P.¹; OLIVEIRA, M.C.N. de¹

¹Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, Distrito de Warta, C.P. 231, CEP 86001-970, Londrina-PR, alexandre.cattelan@embrapa.br.

Introdução

O alagamento restringe as trocas gasosas no solo, promovendo deficiência de O₂, acúmulo de CO₂, metano, etileno, gás sulfídrico (H₂S), H e redução da respiração aeróbica (Costa, 1996). Um dos efeitos mais imediatos e perceptíveis é o acúmulo do etileno volátil (Sasidharan, 2015). Essas condições são limitantes para o desenvolvimento e morfologia das raízes e para nodulação e fixação simbiótica do N, sendo o etileno uma das principais substâncias inibidoras (Jackson, 1985). Esses efeitos podem ser mais ou menos pronunciados de acordo com o genótipo em questão (Pires et al., 2002).

Durante o encharcamento, o precursor de etileno, 1-aminociclopropano-1-carboxylato – ACC, produzido na raiz é transportado através da corrente do xilema para a parte aérea (Jackson, 2002). Ali, a conversão de ACC mediada por oxigênio em etileno desencadeia as mudanças adaptativas tipicamente observadas em plantas submetidas a essas condições (Jackson, 2002).

Assim, bactérias rizosféricas que possuam a capacidade de degradar o ACC, produtoras da enzima ACC deaminase, potencialmente têm capacidade de diminuir o teor de etileno nas raízes e, dessa forma, diminuir os efeitos deletérios do alagamento (Glick et al., 1995).

Para testar essa hipótese, foram conduzidos testes em casa de vegetação para verificar o efeito de bactérias promotoras do crescimento vegetal e produtoras de ACC deaminase sobre o desenvolvimento de plantas de soja em condições de solo alagado.

Material e Métodos

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado com parcelas subdivididas: em parcelas, foram testados onze isolados de bactérias promotoras do crescimento selecionadas anteriormente: GS 1206, GN 1201, GN 1212, GN 2214, GW 2306, LN 3212, LW 2301 (todas positivas para ACC deaminase, Cattelan et al., 1998 e 1999) e P 07, P 21, P 22 e P 43 (sem caracterização, Cattelan, 1994 e 2002) e uma testemunha; nas subparcelas, as bactérias foram testadas em duas situações: solo em capacidade de campo e solo alagado. O solo utilizado foi um Latossolo Roxo provindo de área adubada e corrigida. O solo foi acondicionado em vasos de plástico com 3 kg cada. A distribuição dos vasos em casa de vegetação foi feita de forma completamente casualizada.

As bactérias foram crescidas em meio tripticaseína de soja-ágar diluído dez vezes (1/10 TSA), a 28°C por 24 h. As células bacterianas foram colhidas, suspensas em 0,1 M MgSO₄ (pH 7,0) e a densidade ótica foi ajustada para uma absorvância de 0,55 a 600 nm.

No primeiro ensaio, foram usadas sementes de soja BRS 284 (sensível ao alagamento). As sementes foram inoculadas com as suspensões de bactérias e semeadas 4 sementes por vaso. Para o tratamento testemunha, as sementes foram mergulhadas em solução tampão, sem bactéria. Após a colocação das sementes nos vasos, foram aplicados 10 ml da suspensão de inoculante com *Bradyrhizobium* na

superfície do solo de todos os vasos (equivale a uma dose de 500 g ou 500 ml de inoculante por 50 kg de semente). Logo após emergência, as plântulas foram desbastadas deixando-se apenas uma por vaso.

Durante 30 dias após a emergência, os vasos foram irrigados normalmente. Após esse período, foram divididos em dois grupos: com e sem alagamento (seis repetições por tratamento). O solo permaneceu encharcado por 15 dias, com uma lâmina de água de 2 cm acima da superfície. Os vasos com solo sem alagamento continuaram a ser irrigados normalmente.

Foi conduzido um segundo ensaio, essencialmente semelhante ao primeiro com exceção que foi utilizada a cultivar de soja BRS 6203RR (tolerante ao alagamento) e foram utilizadas 7 repetições em vez de 6 como no ensaio anterior. Nesse ensaio, o alagamento durou 30 dias.

Após o período de estresse de alagamento, as plantas foram colhidas, secas em estufa até peso constante e foram avaliados: altura de plantas, massa das raízes, número e massa dos nódulos e massa da parte aérea. Para todas as variáveis respostas, foram avaliados os testes de independência (Parente, 1984) e normalidade dos resíduos (Shapiro; Wilk, 1965), homogeneidade de variâncias para os tratamentos (Burr, Foster, 1972) e não-aditividade do modelo (Tukey, 1949) e em seguida submetidas à análise de variância e a comparação múltiplas de médias pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

No ensaio 1, onde foi utilizada a BRS 284, suscetível ao alagamento, observa-se um efeito negativo do alagamento sobre o desenvolvimento da parte aérea (Tabela 1). Esse efeito também foi muito pronunciado sobre a nodulação. Quanto às raízes, houve maior massa na condição alagada do que na condição sem alagamento. Nessa condição, nenhuma bactéria aumentou significativamente o desenvolvimento da parte aérea em relação à testemunha, seja em massa ou em altura de plantas e nem quanto à massa das raízes. Já os isolados LN3212 e P07 aumentaram significativamente a massa de nódulos. Na condição do solo alagado, vários isolados melhoraram significativamente o desenvolvimento das plantas, com destaque para os isolados GW2306 e LW2301. É importante observar que esses dois isolados são produtores de ACC deaminase. Quanto à nodulação, nenhum isolado afetou significativamente a mesma.

No ensaio 2, onde foi utilizada a BRS 6203RR, tolerante ao alagamento, não houve efeito significativo das bactérias sobre o desenvolvimento das plantas ou nodulação em nenhuma das condições (alagamento e sem alagamento), conforme pode ser observado na Tabela 2. No entanto, mesmo a cultivar sendo tolerante ao alagamento, essa condição afetou significativamente o desenvolvimento da parte aérea e da nodulação. Já as raízes não foram afetadas significativamente por essa condição.

Conclusão

Bactérias promotoras do crescimento vegetal e produtoras da ACC deaminase podem contribuir para o desenvolvimento de plantas de soja em condições de solo alagado. O efeito parece ser cultivar dependente.

Referências

- BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 26p. 1972. (Mimeo series, 282).
- CATTELAN, A. J. Antagonismo de *Pseudomonas* do grupo fluorescente a fungos fitopatogênicos de solo e de sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, n. 1, p.37-42, 1994.

- CATTELAN, A. J.; COLOMBANO, L. P.; BETTI, A. F. F.; CUNHA, F. E. I. D.; FERRACIN, L. M. Controle da podridão vermelha da raiz de soja causada por *Fusarium solani*, através da inoculação com bactérias antagonistas, em casa de vegetação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2.; MERCOSOJA 2002, 2002, Foz do Iguaçu. **Perspectivas do agronegócio da soja: resumos**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 40. (Embrapa Soja. Documentos, 181).
- CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Bacterial composition in the rhizobium of nodulating and non-nodulating soybean. **Soil Science Society of America Journal**, v. 62, p.1549-1555, 1998.
- CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, p.1670-1680, 1999.
- COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: Evangraf, 1996. 233 p.
- GLICK, B. R.; KARATUROVÍC, D. M.; NEWELL, P. C. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 533-536, 1995.
- JACKSON, M. B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 36, p. 145-174, 1985.
- JACKSON, M. B. Long-distance signalling from roots to shoots assessed: the flooding story. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 175-181, 2002.
- PARENTE, R. C. P. **Aspectos da análise de resíduos**. 1984. 118 f. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agrônômica) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba.
- PIRES, J. L. F.; SOPRANO, E.; CASSOL, B. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 41-50, 2002.
- SAS Institute Inc. **System for Microsoft Windows**. Release 9.4. Cary: SAS Institute, 2012.
- SASIDHARAN, R.; VOESENEK, L.A.C.J. Ethylene-mediated acclimations to flooding stress. **Plant Physiology**, v. 169, n. 1, p. 3-12, 2015.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.
- TUKEY, J. W. One degree of freedom for non-additivity. **Biometrics**, v. 5, p. 232-242, 1949.

Tabela 1. Efeito da inoculação com bactérias rizosféricas inoculadas em soja BRS 284 cultivada em solo encharcado – Ensaio 1

Bactérias	Massa P. Aérea	Massa Raiz	Nº Nódulos	Massa Nódulos	Altura Plantas
	g/planta	g/planta	Nº/planta	mg/planta	cm
Não Alagado					
1- GS1206	2,54 e*	1,23ab*	18,8 d*	069 f*	34,0 cd*
2- GN1201	3,83abcd	1,42 ab	78,0ab	362 b	43,3ab
3- GN1212	3,34abcde	1,26ab	60,8 bc	235 cde	42,7ab
4- GN2214	3,25 bcde	1,28ab	89,2a	283 bcd	40,2abc
5- GW2306	2,94 cde	1,18ab	47,0 c	184 e	38,2 bc
6- LN3212	4,35ab	1,60a	88,8a	563a	45,0ab

7- LW2301	3,28 bcde	1,08 b	47,8 c	193 de	41,3abc
8- P07	4,45a	1,41ab	84,2ab	496a	48,2a
9- P21	2,75 de	1,06 b	52,8 c	149 ef	29,7 d
10- P22	4,06abc	1,27ab	86,0a	298 bc	43,5ab
11- P43	3,02 cde	1,01 b	62,2 bc	194 de	38,8 bc
12- Testem	3,60abcde	1,34ab	77,7ab	298 bc	43,0ab
Média	3,45A**	1,26 B**	67,4A**	266A**	40,5A**

Alagado

1- GS1206	2,26 de	1,55 bc	15,8a	40a	33,6 cd
2- GN1201	2,24 de	1,37 c	14,3a	30a	33,5 cd
3- GN1212	3,05abcd	1,87 b	27,3a	58a	40,3abc
4- GN2214	2,57 bcde	1,44 bc	19,7a	38a	36,7 bcd
5- GW2306	3,64ab	2,47a	17,2a	51a	42,8ab
6- LN3212	2,50 bcde	1,58 bc	22,8a	47a	33,7 cd
7- LW2301	4,07a	1,52 bc	25,3a	78a	47,0a
8- P07	2,47 cde	1,58 bc	19,8a	50a	37,2 bcd
9- P21	3,30abcd	1,66 bc	21,4a	93a	41,0abc
10- P22	1,87 e	1,22 c	10,0a	23a	31,7 d
11- P43	3,42abc	1,64 bc	21,5a	60a	42,8ab
12- Testem	1,70 e	1,43 bc	17,5a	40a	33,5 cd
Média	2,73 B	1,60A	19,4 B	50 B	37,7 B

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna, para cada regime de irrigação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

** Médias de cada regime de irrigação seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito da inoculação com bactérias rizosféricas inoculadas em soja BRS 6203RR cultivada em solo encharcado – Ensaio 2

Bactérias	Peso P.	Peso Raiz	Nº Nódulos	Peso Nódulos	Altura Plantas
	Aérea Total				
	g/planta	g/planta	Nº/planta	mg/planta	cm
Não Alagado					
1- GS1206	13,99a*	3,55a	107,3a	886a	49,4a
2- GN1201	14,22a	3,14a	111,0a	752a	47,4a
3- GN1212	16,55a	3,91a	90,6a	653a	50,1a
4- GN2214	15,33a	3,27a	91,8a	677a	48,4a
5- GW2306	14,09a	3,45a	117,7a	820a	44,1a
6- LN3212	15,93a	4,02a	89,0a	599a	46,0a
7- LW2301	15,67a	3,54a	101,8a	821a	47,3a
8- P07	14,59a	4,03a	98,1a	755a	47,4a
9- P21	13,28a	3,72a	99,6a	689a	44,1a
10- P22	15,83a	3,69a	107,4a	740a	47,3a
11- P43	14,66a	3,36a	109,1a	833a	47,1a
12- Testem	15,87a	4,20a	99,4a	755a	47,5a
Média	15,08A**	3,66A**	102,0A**	749A**	47,2A**
Alagado					
1- GS1206	9,53a	4,35a	57,9a	333a	42,4a
2- GN1201	10,50a	3,99a	72,0a	646a	45,9a
3- GN1212	9,15a	3,71a	83,7a	531a	43,2a
4- GN2214	9,59a	3,81a	75,7a	461a	43,7a
5- GW2306	10,28a	3,62a	73,8a	503a	43,1a

6- LN3212	9,33a	3,44a	72,6a	572a	41,3a
7- LW2301	10,64a	3,53a	81,9a	641a	44,3a
8- P07	11,12a	4,14a	90,6a	554a	43,6a
9- P21	11,27a	4,31a	84,9a	574a	45,6a
10- P22	11,36a	4,20a	103,9a	594a	46,4a
11- P43	9,59a	3,98a	98,9a	513a	46,5a
12- Testem	10,46a	3,70a	72,6a	579a	43,7a
Média	10,22B	3,90A	81,1B	542B	44,1B

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada coluna, para cada regime de irrigação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

** Médias de cada regime de irrigação seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.