

# BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM SOLO CULTIVADO COM ARROZ IRRIGADO (*Oryza sativa* L.)

## DIAZOTROPHIC BACTERIA IN WETLAND RICE CULTIVATED SOIL (*Oryza sativa* L.)

SILVA, Danni M. da<sup>1</sup>; FRIES, Marcos R. (*in memorian*); ANTONIOLLI, Zaida I.<sup>2</sup>; AITA, Celso<sup>3</sup>; VOSS, Márcio<sup>4</sup>; JACQUES, Rodrigo<sup>5</sup>; SEMINOTTI, Josemar<sup>6</sup>; CARVALHO, Christiano A. de<sup>7</sup>

### RESUMO

A associação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e as raízes de gramíneas, como o arroz irrigado, pode ser uma alternativa viável à sustentabilidade destas lavouras. Neste experimento avaliou-se a população de bactérias diazotróficas presentes nas raízes do arroz irrigado, assim como no solo utilizado para o seu cultivo. Foram realizadas quatro coletas, em diferentes épocas do ciclo da cultura, nas cultivares IRGA-419, moderna, e EEA-406, tradicional, nas condições com e sem nitrogênio mineral. As populações bacterianas variaram significativamente, conforme a fração analisada. A época de coleta e a adubação nitrogenada influenciaram a população de diazotróficas em algumas frações. A cultivar tradicional apresentou, em geral, maiores populações de bactérias fixadoras de nitrogênio do que a cultivar moderna de arroz irrigado.

Palavras-chave: arroz irrigado, bactérias fixadoras de nitrogênio, cultivares.

### INTRODUÇÃO

A crescente demanda mundial por alimentos, em função da elevação dos índices populacionais, intensificou a utilização agrícola das lavouras com a finalidade de manutenção ou aumento da produtividade, especialmente da cultura do arroz. Este cereal é de importância fundamental no cenário agrícola, já que é o alimento básico de 40% da humanidade (FORNASIERI FILHO & FORNASIERI, 1993).

A alta produtividade do arroz irrigado geralmente está relacionada com a utilização, entre outros fatores, de doses elevadas de adubos nitrogenados. Estes por sua vez representam uma significativa parcela nos custos de produção da cultura, além de serem industrialmente obtido de fontes não-renováveis, e potencialmente poluentes ambientais.

As associações entre bactérias diazotróficas e as raízes de gramíneas, como o arroz irrigado, podem ser apontadas como uma alternativa sustentável e economicamente viável para a substituição total ou parcial das adubações nitrogenadas. Estas associações representam a interação entre bactérias fixadoras de Nitrogênio com as raízes das gramíneas, e não resultam na formação de estruturas especiais visíveis, como é o caso da simbiose *Rhizobium-leguminosas* (BALANDREAU, 1983; OKON, 1984).

As primeiras associações identificadas foram as de bactérias aeróbias do gênero *Beijerinckia* spp. com a cana-de-açúcar e *Azotobacter paspali* com a grama batatais (*Paspalum*

*notatum*) (DÖBEREINER, 1966 e 1992). Até então, várias destas associações já foram identificadas, sendo a maioria, em regiões de clima tropical e subtropical onde as temperaturas do solo são mais favoráveis aos processos microbiológicos durante todo o ano, sendo várias as culturas envolvidas, inclusive o arroz (BARRAQUIO et al., 1997).

Em estudos realizados por ROGER & LADHA (1992), foi demonstrado que a fixação biológica de nitrogênio (FBN) no arroz irrigado pode render até 50 Kg ha<sup>-1</sup> cultivo<sup>-1</sup> de N, sendo considerado que, provavelmente, a FBN realizada nestas plantas seja o resultado da atividade de várias espécies de microrganismos diazotróficos associados (NEVES & RUMJANEK, 1998; CRUZ et al.; 2001).

A cultivar de arroz irrigado pode interferir na FBN das bactérias associadas à cultura. APP et al. (1986) encontraram diferenças significativas entre cultivares na fixação do N, quando avaliaram o balanço do N em 83 cultivares de arroz. GUIMARÃES et al. (2000) avaliaram a capacidade de resposta de três cultivares de arroz irrigado à inoculação com diferentes estirpes de *Burkholderia* spp. e encontraram variações de 67 a 111% na massa seca produzida pelas plântulas de arroz avaliadas, em relação a testemunha. Atribuindo-se estas diferenças à especificidade entre estirpes bacterianas e cultivares utilizadas.

Além da cultivar, outro parâmetro que pode influenciar a população bacteriana associada ao arroz irrigado é o estágio de desenvolvimento da cultura. BARRAQUIO et al. (1982), encontraram populações de bactérias diazotróficas nas raízes da cultura do arroz irrigado, na ordem de 10<sup>8</sup> até 10<sup>9</sup> bactérias por grama de raiz seca, com as variações ocorrendo conforme a época de coleta das raízes analisadas. WATANABE & CABRERA (1979), avaliaram a população de bactérias nas raízes da cultura do arroz irrigado e demonstraram haver diferenças varietais na atividade das bactérias fixadoras de N associadas às raízes do arroz irrigado, além de diferenças populacionais em função do estágio de crescimento da cultura.

Com relação a resposta da população diazotrófica associada à cultura do arroz irrigado as adubações nitrogenadas, poucos dados foram obtidos, principalmente considerando-se o Sul do Brasil. Por sua vez, RODRIGUES et al. (2000), em trabalho realizado em Passo Fundo - RS, concluíram que o teor de N nos grãos de trigo, aumentou significativamente com a inoculação de duas estirpes de *Azospirillum brasiliense*, sem a adição de N mineral. Já em JACQUES et al. (1998b), em levantamento populacional de

<sup>1</sup> Engenheira Agônoma, Mestre em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria. Bolsista CAPES, E-mail: danni.maisa@bol.com.br

<sup>2</sup> Bióloga (Ph.D.), Prof. do Departamento de Solos, 97105-900, Santa Maria/RS. E-mail: zaida@ccr.ufsm.br

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo (Dr.), Prof. do Departamento de Solos, 97105-900, Santa Maria/RS.

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo (Dr.), Pesquisador da EMBRAPA/CNPT, Passo Fundo/RS

<sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestre em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa/MG.

<sup>6</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestre em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa/MG.

<sup>7</sup> Estudante do Curso de Agronomia da UFSM, Santa Maria/RS

bactérias diazotróficas no solo e na cultura do arroz irrigado, realizado em Santa Maria – RS, obtiveram como tendência a diminuição da população, conforme o aumento das doses de adubos nitrogenados.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de quantificar a população de bactérias diazotróficas associadas a duas cultivares de arroz irrigado e avaliar o efeito da adubação nitrogenada sobre estes organismos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Solos do Centro de Ciências Rurais na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria - RS. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo que as cultivares de arroz avaliadas foram EEA-406 e IRGA-419, com 0 e 90 Kg ha<sup>-1</sup> de N. O solo do experimento pertencia a Unidade de Mapeamento Vacacaí, sendo um Planossolo Hidromórfico Eutrófico arênico (EMBRAPA, 1999), fertilizado com 1 dose e ½ dos nutrientes fósforo e potássio, de acordo com ARROZ IRRIGADO: RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS DA PESQUISA PARA O SUL DO BRASIL (1999). Dessa forma, foram utilizados em cada vaso os correspondentes a 142,30 Kg ha<sup>-1</sup> de Super Fosfato Triplo (SFT) e 100 Kg ha<sup>-1</sup> de Cloreto de Potássio (KCl).

A semeadura do arroz foi realizada no sistema pré-germinado. A adubação nitrogenada, quando realizada, foi dividida em três aplicações, sendo a primeira com o equivalente a 10 Kg ha<sup>-1</sup> de N, realizada juntamente com a do fósforo e potássio, no momento do acondicionamento do solo nos vasos com capacidade para 7 litros, onde foram acondicionados o equivalente a 6,450 Kg de solo homogeneamente adubado. As outras duas, de 40 Kg ha<sup>-1</sup> de N, foram feitas em cobertura aos 38 e 53 dias após a semeadura.

Foram realizadas quatro coletas de solo e plantas para a determinação da população de bactérias diazotróficas. A primeira coleta ocorreu aos 39 dias, e as demais de 15 em 15 dias. Além do solo foram avaliadas as populações de bactérias das raízes da cultura. As raízes foram divididas em três frações: 1ª) rizoplano, correspondendo as bactérias diazotróficas da superfície radicular. Para a avaliação da população bacteriana desta fração as raízes foram lavadas com água destilada esterilizada até a remoção de todas as partículas de solo visíveis que se mantinham aderidas as raízes. Posteriormente, a amostra de raízes na concentração 1:10, foi submetida a agitação em solução salina por 30 minutos, e em seguida à diluição seriada; 2ª) controle-raízes, esta fração foi obtida a partir da desinfecção superficial das raízes, já submetidas ao processo acima descrito para a fração rizoplano, com NaOCl 5%, por dois minutos, lavagens com solução salina, agitação desta por 20 minutos e diluição seriada; A 3ª fração, a amostrizosfera, foi obtida a partir da maceração das raízes após a passagem destas pelos processos descritos para a fração rizoplano (lavagem externa e agitação em solução salina) e para a fração controle-raízes (desinfecção externa em NaOCl 5% e lavagens), sendo estas maceradas em solução salina seguindo-se a diluição seriada. Esta fração corresponde a população de bactérias colonizadoras do interior das raízes.

O meio de cultura utilizado para a determinação da população de bactérias diazotróficas foi o NFb Semi-sólido, descrito em DÖBEREINER *et al.* (1995), considerado seletivo para este grupo de microrganismos, sendo que, os tubos de ensaio inoculados, com 5 repetições por nível de diluição, em todas as frações, foram incubados em estufa a 30°C, por um período de 7 dias. Após procedeu-se a contagem dos tubos negativos e positivos, sendo considerados os tubos com crescimento positivo aqueles que apresentavam a película característica de crescimento de bactérias diazotróficas (na condição microaerofílica). Os dados foram analisados estatisticamente com base na metodologia do Número Mais Provável (NMP), a 5% de probabilidade de erro, com o Fator de Confiança (FC): 3,30 (WOOMER, 1994).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população de bactérias diazotróficas no solo obtida neste levantamento é apresentada na Figura 1. Quanto às épocas de coleta de solo realizadas, dentro de cada cultivar, e de cada dose de N avaliada (0 e 90 Kg ha<sup>-1</sup> de N), mostrando diferenças significativas na população de bactérias diazotróficas (Figura 1). Por outro lado, considerando-se os dados médios obtidos para as 4 coletas durante o período experimental, não foram constatadas diferenças significativas na população de bactérias diazotróficas no solo da cultura do arroz irrigado entre as doses de N utilizadas. Estes resultados sugerem que a população de bactérias no solo não foi sensível ao N mineral ou que a dose aplicada no experimento não foi suficientemente alta para inibir o processo de FBN. Considerando-se o solo como um meio bastante dinâmico, e que o elemento pode ter vários destinos como lixiviação e volatilização de modo que manteve-se o solo que recebeu adubação nitrogenada com os mesmos índices populacionais de bactérias diazotróficas. Esta avaliação está de acordo com TATE (1995), que informa ser a população de bactérias diazotróficas numericamente significativa no solo, quando neste não houver N disponível suficiente para a população bacteriana total, já que a capacidade de competição das diazotróficas é geralmente menor em relação as demais bactérias do solo, se destacando esta população em solos que apresentam baixa disponibilidade de N. Em trabalho realizado por BALDANI *et al.* (1987) a maior eficiência para o sistema planta-bactéria foi quando houve aplicação de doses menores de N.

Na análise da população de bactérias aeróbias de vida livre nos sistemas de plantio direto e convencional, em diferentes rotações de cultura BORDIN (1995) obteve resultados similares aos aqui apresentados. Não registrou diferença significativa da população de bactérias fixadoras de N de vida livre nas rotações que receberam adubação nitrogenada. DONZELI *et al.* (2000), realizaram estudo semelhante, utilizando as doses 0, 90 e 120 Kg ha<sup>-1</sup> de N, para três diferentes genótipos de milho, e também não encontraram diferenças significativas entre as doses utilizadas na população de diazotróficas determinada nas raízes da cultura, nem entre os genótipos avaliados. Do mesmo modo, REIS JUNIOR *et al.* (2000), também não encontraram diferenças genotípicas quanto a população de bactérias diazotróficas, quando avaliaram a cultura da cana-de-açúcar.

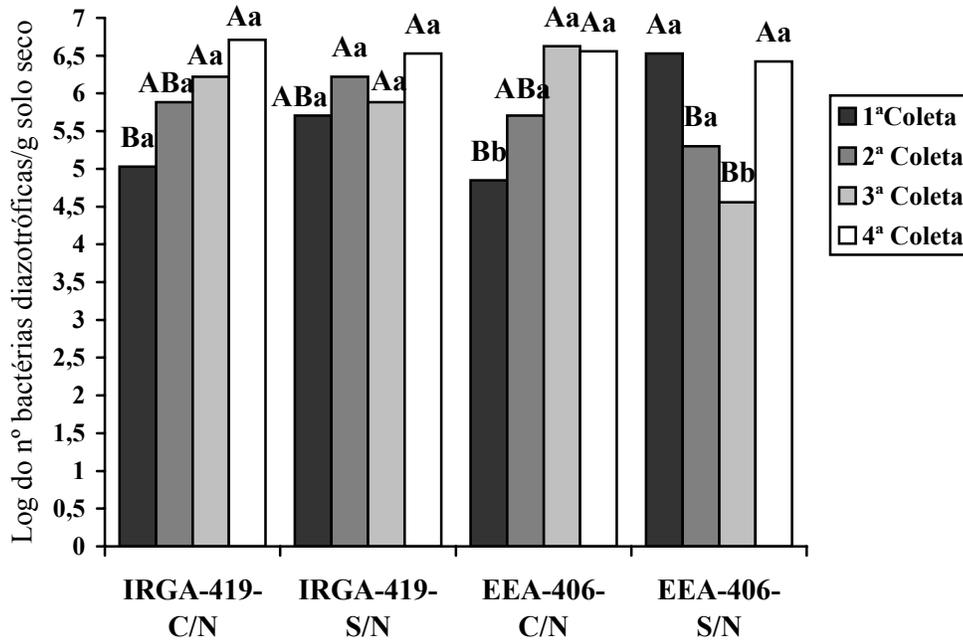


Figura 1 – Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas no solo cultivado com arroz irrigado, com (C/N) e sem nitrogênio (S/N), em duas cultivares. \* Épocas de coleta não seguidas pela mesma letra maiúscula diferem entre si, dentro de cada cultivar e dose de nitrogênio; Letras minúsculas diferentes dentro de cada dose de nitrogênio aplicada (0 e 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>), na mesma época de coleta, indicam diferença significativa ( $p = 0.05\%$ , FC: 3,30) entre as cultivares avaliadas, conforme o método do NMP.

Com relação as duas cultivares de arroz irrigado somente na terceira época de coleta, para as frações sem adubação nitrogenada e primeira época de coleta para as frações com adubação nitrogenada, houve diferença significativa na população de bactérias diazotróficas, tendo o solo da cultivar IRGA-419 apresentado uma maior população de bactérias diazotróficas em ambas as situações. A população registrada foi de  $7,68 \times 10^5$  bactérias g de solo seco<sup>-1</sup> (log 5,88) para a cultivar IRGA-419, e  $3,6 \times 10^4$  bactérias g de solo seco<sup>-1</sup> (log 4,56) para a EEA-406, na terceira época de coleta, nas frações sem adubação nitrogenada e de  $1,07 \times 10^5$  bactérias. g de solo seco<sup>-1</sup> (log 5,02) para a cultivar IRGA-419 e  $7,07 \times 10^4$  bactérias. g de solo seco<sup>-1</sup> (log 4,85) para a cultivar EEA-406 na primeira época de coleta, nas frações com adubação nitrogenada (Figura 1). Entretanto, em qualquer outra situação não houve diferença significativa na população do solo de bactérias diazotróficas entre cultivares, sendo esta a condição registrada na média experimental.

Os dados obtidos a partir da realização do levantamento populacional de bactérias diazotróficas, no rizoplano da cultura do arroz irrigado, indicaram haver diferenças entre as

populações conforme a cultivar utilizada (Figura 2). Independentemente da adubação nitrogenada utilizada, as cultivares EEA-406 e IRGA-419 diferiram significativamente em quase todas as épocas de coleta avaliadas, sendo que, em geral, a população de bactérias diazotróficas da fração rizoplano foi significativamente maior na cultivar EEA-406 (Figuras 2, 3 e 4). Assim, a hipótese sugerida de que as cultivares tradicionais de arroz irrigado apresentariam uma maior população de bactérias diazotróficas, em relação às cultivares modernas, mais favoráveis à adubação mineral nitrogenada, mostrou-se verdadeira no presente caso, para a fração rizoplano.

Entretanto, para uma afirmação generalizada sobre este efeito, seria necessário a realização de vários estudos com várias cultivares tradicionais e modernas de arroz irrigado recomendadas, verificando-se a população de bactérias diazotróficas, na fração rizoplano. A interação microrganismo-cultivar pode existir, de modo que uma cultivar poderá, mesmo apresentando as mesmas características de outra, responder de forma diferenciada à colonização superficial das raízes pelas bactérias diazotróficas.

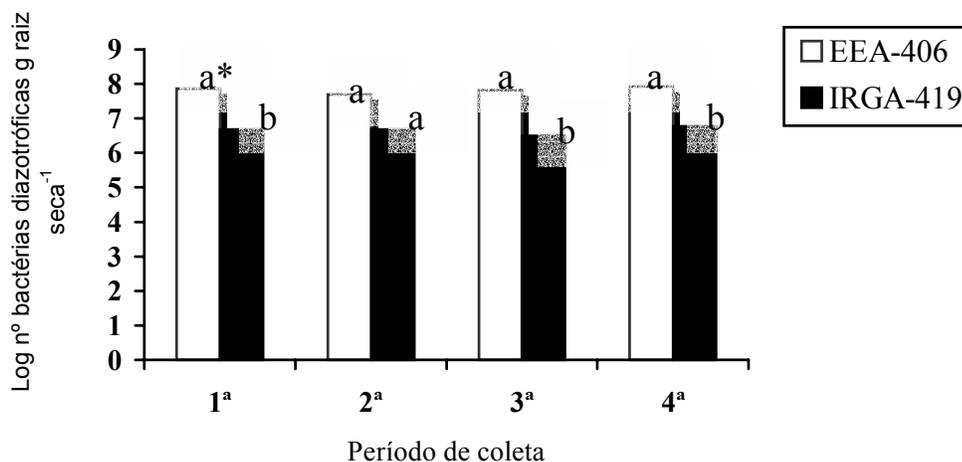


Figura 2 - Logaritmo do número de bactérias diazotróficas no rizoplano da cultura do arroz irrigado sem adubação nitrogenada (1ª época = 03/01/00; 2ª = 17/01/00; 3ª = 31/01/00; 4ª = 14/02/00). \* Cultivares não seguidas pela mesma letra dentro de cada época de coleta, diferem entre si ( $p = 0.05\%$ ), com base no FC: 3,30, conforme o método NMP.

Pode-se, todavia, afirmar que o rizoplano da cultivar tradicional de arroz irrigado, EEA-406 é colonizado, na maior parte do ciclo de desenvolvimento da cultura, por uma maior população de bactérias fixadoras de N, em relação à cultivar moderna IRGA-419 (Figuras 2 e 3), nas condições deste estudo.

SALOMÉ & DÖBEREINER (1996), encontraram diferenças significativas entre genótipos de milho avaliados quanto ao efeito da inoculação de plantas com *Azospirillum* spp., cujos resultados mostraram uma grande interação entre a bactéria e a planta.

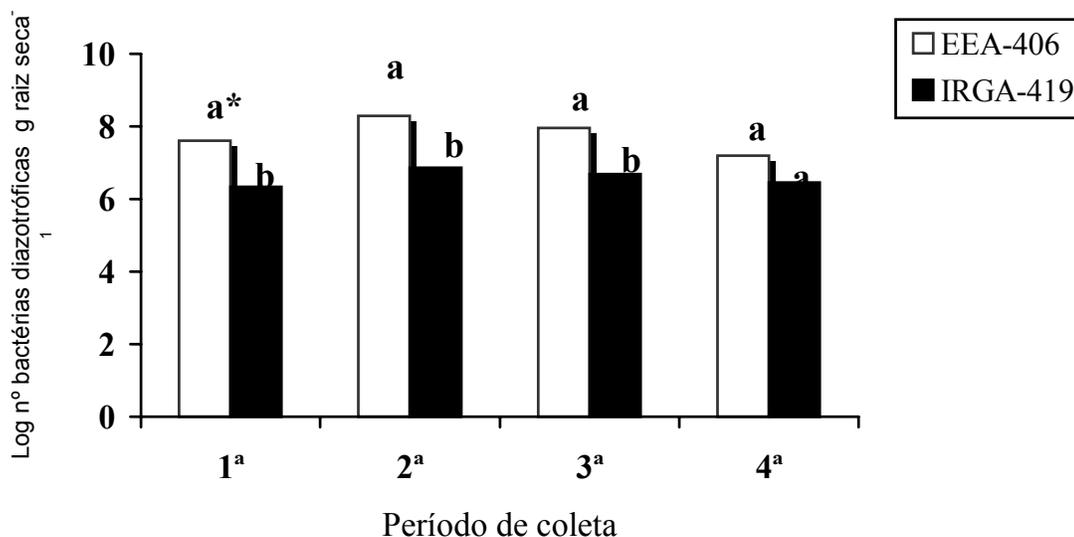


Figura 3 - Logaritmo do número de bactérias diazotróficas no rizoplano da cultura do arroz irrigado com o equivalente a 90 Kg de N.ha<sup>-1</sup>. \* Cultivares não seguidas pela mesma letra dentro de cada época de coleta, diferem entre si ( $p = 0.05\%$ ), com base FC: 3,30, conforme o método NMP; 1ª época = 03/01/00; 2ª = 17/01/00; 3ª = 31/01/00; 4ª = 14/02/00.

Resultados semelhantes, já foram encontrados por WATANABE & CABRERA (1979), quando avaliaram a população de diazotróficas no rizoplano de diferentes cultivares de arroz irrigado em diferentes estágios de crescimento. As populações de bactérias diazotróficas ficaram em torno de 10<sup>6</sup> a 10<sup>7</sup> bactérias por grama de raiz fresca. Os

autores encontraram diferenças varietais na população de diazotróficas e concluíram que estas diferenças nas populações de bactérias fixadoras de nitrogênio, associadas com o arroz irrigado, podiam ser dependentes do estágio de desenvolvimento da cultura. Já ROESH (2000), avaliou a dinâmica populacional de bactérias diazotróficas associadas à

cultura do milho, e, conforme os dados obtidos não encontrou diferenças significativas entre as populações de bactérias diazotróficas nos diferentes estágios de desenvolvimento da cultura. O autor ressalta que apesar de ter constatado que durante as primeiras semanas de desenvolvimento das plantas a colonização radicular foi mais intensa, diminuindo com o desenvolvimento da cultura. Estes dados corroboram com os aqui apresentados.

Quanto aos efeitos das doses de N utilizadas neste experimento sobre a população de bactérias diazotróficas colonizadoras do rizoplane da cultura do arroz irrigado, não houve diferença significativa (Figura 4), sendo diferenças apenas entre as cultivares analisadas.

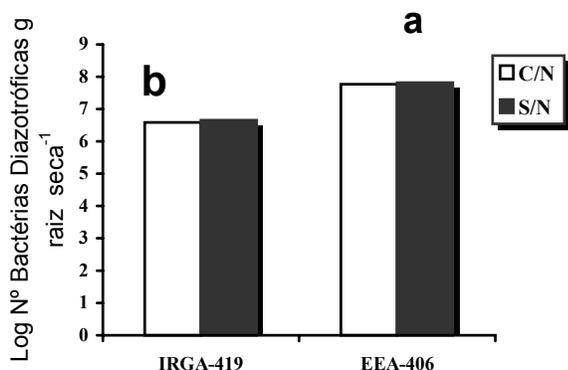


Figura 4 - Logaritmo do número de bactérias diazotróficas no rizoplane da cultura do arroz irrigado com (C/N = 90 Kg de N ha<sup>-1</sup>) e sem nitrogênio (S/N = 0 Kg de N ha<sup>-1</sup>). \* Cultivares não seguidas pela mesma letra diferem entre si com  $p = 0,05$ , com base no FC: 3,30, conforme o método NMP.

Quanto a fração endorizosfera, (interior das raízes do arroz irrigado), a população de bactérias diazotróficas foi na ordem de 10<sup>5</sup> bactérias por grama de raiz seca. Esta população é menor do que os valores registrados na literatura para a cultura do arroz, em torno de 10<sup>7</sup> (SILVA et al., 1998; JACQUES et al., 1998 a e b) e até 10<sup>9</sup> bactérias por grama de raiz seca (BARRAQUIO et al., 1982). Entretanto, os próprios fatores avaliados neste estudo, como as cultivares de arroz irrigado utilizadas, épocas de coleta no ciclo da cultura e aplicação de N mineral, podem ter influenciado a população de bactérias diazotróficas. Neste sentido, WEBER et al. (2000a) e PFÜLLER (2000), respectivamente, encontraram populações de bactérias diazotróficas radiculares endofíticas que variaram de 10<sup>3</sup> até 10<sup>6</sup>, na cultura do abacaxizeiro, em função do genótipo avaliado e em várias culturas, em diferentes sistemas de cultivo, demonstrando-se que os genótipos também podem influenciar esta população.

Observando-se a dinâmica da população de bactérias diazotróficas nas condições com e sem N, no decorrer do ciclo da cultura do arroz irrigado (Figura 5), verifica-se diferenças acentuadas no valor numérico da população entre as épocas

de coleta. Não houve, como para as demais frações, uma tendência mais definida a respeito de qual seria o comportamento destas bactérias durante o ciclo da cultura. Cada cultivar, em cada dose de N e época de coleta, apresentou uma definida população bacteriana. Isto ocorreu diferentemente do que foi determinado por BARRAQUIO et al. (1997), que encontraram para a cultura do arroz irrigado, a maior população de diazotróficas, da endorizosfera, na fase de emborrachamento (enchimento de grãos) da cultura do arroz.

Por outro lado, em quase todas as épocas de coleta, para ambas as cultivares, houve diferença significativa na população determinada, entre as doses de N avaliadas. Esta condição confirma a observação feita por vários outros autores, de que a adubação nitrogenada pode interferir na população de bactérias diazotróficas (PEREIRA et al., 1978; JACQUES et al., 1998 a e b) e levanta a possibilidade da influência da adubação nitrogenada na população de diazotróficas estar relacionada com a fração avaliada, já que poucos foram os registros de diferenças significativas desta população para as frações solo e rizoplane, quanto a adubação nitrogenada. Em geral, as populações encontradas na endorizosfera das plantas de arroz irrigado sem N mineral foram significativamente maior do que as que receberam N (Figura 5). Assim, pode-se dizer que a população endofítica de bactérias diazotróficas na cultura do arroz irrigado, nas condições deste experimento, foi afetada negativamente pela adubação mineral nitrogenada.

Dados semelhantes foram encontrados por JACQUES et al. (1998b), para a cultura do arroz irrigado cultivar IRGA-417, onde a população de bactérias da endorizosfera da cultura variou de 10<sup>7</sup>, para os tratamentos sem N e com 50 Kg ha<sup>-1</sup> de N, até 10<sup>6</sup> bactérias g de raiz seca<sup>-1</sup> para a condição de 60 Kg ha<sup>-1</sup> de N (Figura 5).

A população de bactérias diazotróficas na endorizosfera diferiram significativamente, quanto as cultivares de arroz irrigado avaliadas, com a maior população colonizando a cultivar tradicional EEA-406 (Figuras 6 e 7). Conforme dados da literatura, os resultados dependem da resposta genotípica da cultura avaliada e dos procedimentos experimentais utilizados. WEBER et al. (2000b), por exemplo, não encontraram diferenças significativas na ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes partes de diferentes genótipos da cultura da bananeira. Entretanto, REIS et al. (1999), analisaram a população de *Acetobacter diazotrophicus* na endorizosfera, de diferentes genótipos da cana-de-açúcar, e registraram diferenças de 10<sup>4</sup> até 10<sup>6</sup> bactérias por grama de raiz seca. CARVALHO et al. (1998), avaliaram a população de bactérias diazotróficas em diferentes ecótipos de dendezeiro, no Estado da Bahia, Brasil, e encontraram diferenças de 35 até 57% entre as populações destas bactérias nos diferentes ecótipos analisados. MARRIEL & CARDOSO (1998), encontraram diferenças significativas na colonização de *Azospirillum lipoferum* na seiva de plantas de milho, conforme o genótipo analisado, sendo este efeito genotípico explicado, em parte, como função das variações observadas nos valores de pH e na composição mineral das seivas avaliadas.

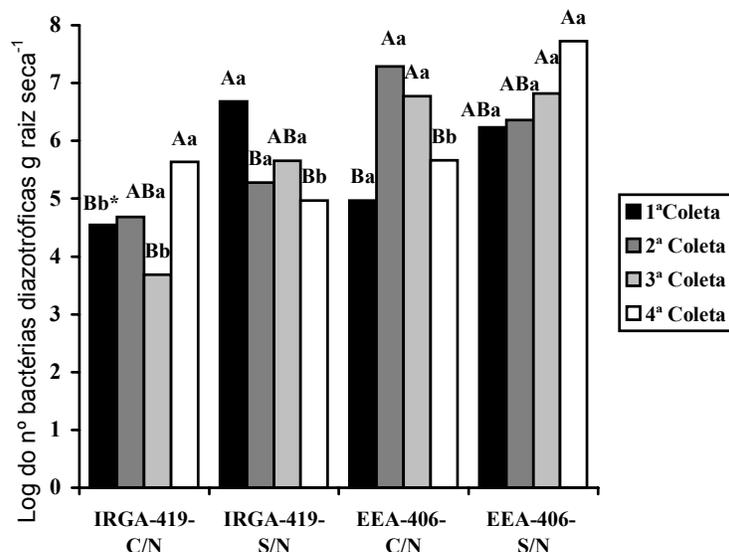


Figura 5 – População de bactérias diazotróficas da endorizosfera, ao longo do ciclo da cultura do arroz irrigado, com e sem adubação nitrogenada. \* Épocas não seguidas pela mesma letra maiúscula e doses de N não seguidas pela mesma letra minúscula, dentro de cada cultivar, diferem entre si com  $p = 0.05$ , com base no FC: 3,30, conforme o método NMP.

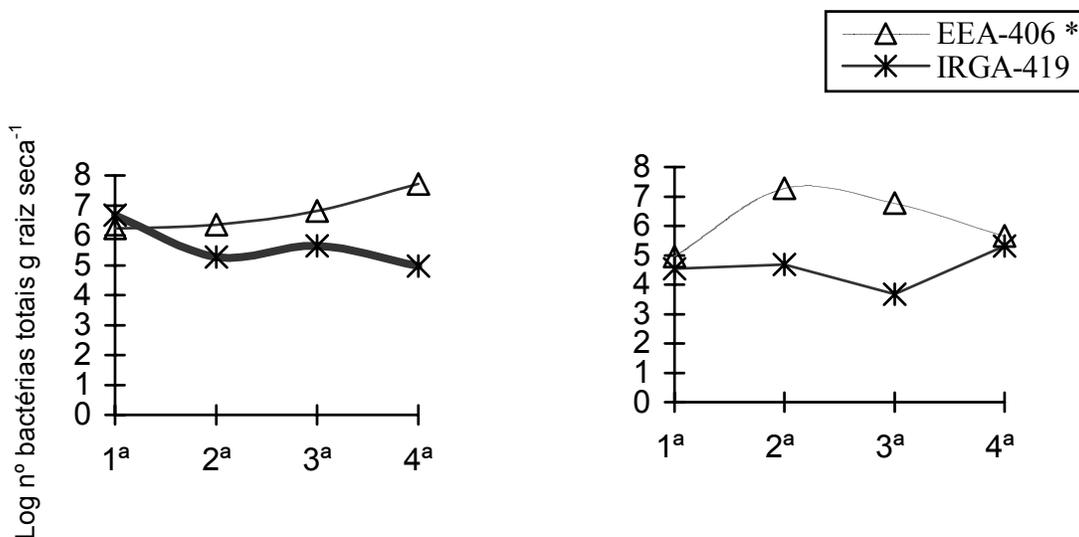


Figura 6 - Bactérias diazotróficas na endorizosfera da cultura do arroz irrigado, em duas cultivares: **A**: sem adubação nitrogenada; **B**: com 90 Kg ha<sup>-1</sup> de N. 1ª época = 03/01/00; 2ª = 17/01/00; 3ª = 31/01/00; 4ª = 14/02/00. **A\***: 2ª, 3ª e 4ª épocas de coleta diferem entre si, **B\***: 2ª e 3ª épocas diferem entre si quanto a cultivar analisada com  $p = 0.05$ , com base no FC: 3,30, conforme o método NMP.

Com relação à cultura do arroz irrigado, CAMPOS et al. (1998) avaliaram a ocorrência de bactérias diazotróficas em 10 diferentes genótipos, sendo que houve presença das mesmas em todos os genótipos avaliados. Contudo, GUIMARÃES et al. (1999), avaliaram o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas na cultura do arroz sob condições de campo. Estes autores encontraram respostas no aumento de peso da matéria fresca da parte aérea das plantas de 45 até 79%, conforme o genótipo analisado. ELBETAGY et al. (2001), em estudo realizado sobre a colonização endofítica de plantas de arroz pela bactéria fixadora de N *Herbaspirillum* spp., registraram populações significativamente maiores

colonizando as espécies selvagens de arroz, em relação as variedades cultivadas.

### CONCLUSÕES

Bactérias diazotróficas colonizam o solo e as raízes das plantas de arroz irrigado, sendo a população geralmente maior na superfície radicular (rizoplano) em relação ao solo e interior das raízes (endorizosfera). A cultivar de arroz irrigado influenciou a população de bactérias diazotróficas, sendo esta significativamente maior na cultivar tradicional EEA 406 em relação a cultivar moderna IRGA 419. Além disso, a adubação

nitrogenada reduziu a população de bactérias diazotróficas associadas ao interior das raízes de arroz irrigado, especialmente na cultivar moderna.

#### ABSTRACT

*The association between nitrogen fixation bacteria and grass roots, as in wetland rice, can be a viable alternative to the sustainability of these fields. In this experiment the population of diazotrophs was evaluated in the roots of wetland rice, as well as in the soil used for its cultivation. Four samplings were accomplished, in different times during the culture cycle, with two varieties of rice, a modern (IRGA-419) and a traditional type (EEA-406) in the conditions with and without mineral nitrogen. The bacterial populations varied significantly, according to the analyzed fraction. The sampling time and nitrogen fertilization influenced the diazotrophs population in some fraction. In general, the traditional presented larger populations of bacteria than the modern wetland rice variety.*

*Key words: wetland rice, nitrogen-fixing, fertilization, varieties.*

#### REFERÊNCIAS

- APP, A. A.; WATANABE, I.; VENTURA, T. S. et al. The effect of cultivated and wild rice varieties on the nitrogen balance of flooded soil. **Soil Science**, v. 141, p. 448-452, 1986.
- ARROZ IRRIGADO: RECOMENDAÇÃO TÉCNICAS DA PESQUISA PARA O SUL DO BRASIL, Pelotas. Documento n. 57, Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado/EPAGRI/IRGA, 124 p., 1999.
- BALANDREAU, J. Microbiology of the association. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, p. 851-859, 1983.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. & DOBEREINER, J.. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. In Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 4, p.37-40, 1987.
- BARRAQUIO, W. L.; DE GUZMAN, M. R.; BARRION, M. et al. Population of aerobic heterotrophic nitrogen-fixing bacteria associated with wetland and dryland rice. **Applied Environmental Microbiology**, 43: 124-128, 1982.
- BARRAQUIO, W. L.; REVILLA, L.; LADHA, J. K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. **Plant and Soil**, v. 194, p. 15-24, 1997.
- BORDIN, S. S. **Estudo de bactérias aeróbias de vida livre, fixadoras de N<sub>2</sub>, em solo sob sistemas de plantio direto e convencional**. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1995.
- CAMPOS, D. T. S.; BERNARDO, J. T.; BALDANI, V. L. D. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas na cultura de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu-MG. **Anais...Caxambu:UFL**, p. 623, 1998.
- CARVALHO, A. R. V.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M. et al. Bactérias diazotróficas em diferentes ecótipos de dendezeiro. In: XXVIII REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu-MG. **Anais...Caxambu:UFL**, p. 199, 1998.
- CRUZ, L. M.; SOUZA, E. M.; WEBER, O. B. et al. 16 S ribosomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from banana (*Musa* spp.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merril). **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 2375-2379, 2001.
- DOBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p. 357-365, 1966.
- DOBEREINER, J.. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v. 13, p. 1-13, 1992a.
- DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: EMBRAPA- SPI: Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 60p., 1995.
- DONZELI, V. P.; FREITAS, S. S.; SILVEIRA, A. P. D. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas em diferentes genótipos de milho sob três doses de N. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 24., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 3., 2000, Santa Maria. **Anais...Santa Maria: UFSM**, p. 146, 2000.
- EMBRAPA. CNPS. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa, 412p., 1999.
- ELBETAGY, A.; NISHIOKA, K.; SATO, T. et al. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. Isolated from wild rice species. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n. 11, p. 5285-5293, 2001.
- FORNASIERI FILHO, D. ; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal: FUNEP SP, 221 p., 1993.
- GUIMARÃES, E. P. & SANT'ANA. Sistemas de cultivo. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, cap. 1, p. 17-35, 1999.
- GUIMARÃES, S. L.; SABINO, D. C. C.; FERREIRA, J. S. et al. Efeito da inoculação de estirpes de *Burkholderia* spp em 3 cultivares de arroz inundado crescidas em condições gnotóbicas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 24., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 3., 2000. Santa Maria. **Anais...Santa Maria: UFSM**, p. 146., 2000.
- JACQUES, R. J. S.; FRIES, M. R.; AITA, C. et al. Caracterização morfológica e bioquímica de bactérias diazotróficas associadas ao solo e a raiz do arroz irrigado. In: JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 13., 1998, Santa Maria. **Anais... Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria**, p. 451., 1998a.
- JACQUES, R. J. S.; SILVA, D. M.; FRIES, M. R. et al. Avaliação do nível populacional de bactérias diazotróficas no solo, no rizoplane e na endorizosfera na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) sob diferentes doses de nitrogênio. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu-MG. **Anais...Caxambu: UFL**, p. 607, 1998b.
- MARRIEL, I. E.; CARDOSO, E. J. B. N. Colonização natural seletiva de *Azospirillum lipoferum* em seiva de plantas de milho cultivadas no campo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPÓSIO

- BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., Caxambu-MG. **Anais...**Caxambu: UFL, p. 423., 1998.
- NEVES, M. C. P.; RUMJANEKN. G. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, cap. 1, p. 15-60, 1998.
- OKON, Y. Response of cereal and forage grasses to inoculation with N<sub>2</sub> – fixing bacteria. In: VEEGER, C. & NEWTON, W.E. **Advances in nitrogen fixation research**. The Netherlands: Junk Publishers, p. 303-309, 1984.
- PEREIRA, P. A. A.; VON BULOW, J. F. W.; NEYRA, C. A. Atividade da nitrogenase, nitrato redutase e acumulação de nitrogênio em milho braquítico *Zea mays* L. (cv. Piranão) em dois níveis de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Brasília, v. 2, p. 28-33, 1978.
- PFÜLLER, E. E. **População microbiana de um solo sob dois sistemas de plantio e dois sistemas de rotação de culturas**. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.
- REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, L. G.; REIS, V. M. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. Brasília. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 985-994, 2000.
- REIS, V. M.; PAULA, M. A.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. Brasília. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1933-1941, 1999.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; GOUVEIA, J. A. et al. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* and fertilized with nitrogen. Brasília. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1473-1481, 2000.
- ROESH, L. F. W. Ocorrência e isolamento de bactérias diazotróficas associadas à plantas de milho cultivadas em sistema de semeadura direta. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 24., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 3., 2000, Santa Maria.
- Anais...**Santa Maria: UFSM, p. 117., 2000.
- ROGER, P. & LADHA, J.K. Biological N<sub>2</sub> fixation in wetland rice fields: Estimation and contribution to nitrogen balance. **Plant and Soil**, v.141, p. 41-55, 1992.
- SALOMÉ, I. G. & DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertility of Soils**, v. 21, p. 193-196, 1996.
- SILVA, D. M.; JACQUES, R. J. S.; FRIES, M. R. et al. Diversidade de bactérias diazotróficas no solo, no rizoplaneo e na endorizosfera na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu-MG. **Anais...**Caxambu: UFL, p. 608., 1998.
- TATE, R. L. **Soil microbiology**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 1995. 395p.
- WATANABE, I. & CABRERA, D. R. Nitrogen fixation associated with the rice plant grown in water culture. **Applied Environmental Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 373-378, 1979.
- WEBER, O. B.; LIMA, R. N.; HAPONIK, C. A. V. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas em abacaxizeiro no nordeste do Brasil. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 24., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 3., 2000, Santa Maria. **Anais...**Santa Maria: UFSM, p. 143., 2000a.
- WEBER, O., B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2277-2285, 2000b.
- WOOMER, P. L. Most probable number counts. In: Weaver, R. W.; Angle, S.; Bottomley, P.; Bezdiecek, D.; Smith, S.; Tabatabai, A.; Wollum, A. **Methods of soil analysis**. Wisconsin: Soil Science Society American, cap. 2, p. 59-79, 1994.