

Sementes: Ciência, Tecnologia e Inovação

Igor Luiz Vieira de Lima Santos
(Organizador)



Atena
Editora
Ano 2019

Igor Luiz Vieira de Lima Santos

(Organizador)

Sementes: Ciência, Tecnologia e Inovação

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Karine de Lima
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
S471	Sementes [recurso eletrônico] : ciência, tecnologia e inovação / Organizador Igor Luiz Vieira de Lima Santos. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-597-6 DOI 10.22533/at.ed.976190309 1. Alimentos – Exportação – Brasil. 2. Sementes – Produção – Brasil. I. Santos, Igor Luiz Vieira de Lima. CDD 631.5
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Sementes: Ciência, Tecnologia e Inovação, surge em meio a uma necessidade humana iminente e notória por alimentos em abundância. A escassez, as guerras, a necessidade por combustível, o deplorável espírito humano infelizmente estão propiciando cenas lamentáveis de fome e pobreza nos confins do mundo, principalmente nos países subdesenvolvidos, onde os latifúndios são uma grande atividade agrícola direcionada para a produção de combustíveis, gado ou para exportação.

Sim, existe a produção de hortaliças, de ervas, de arbustos, leguminosas, frutíferas entre tantas outras variedades, porém a atenção dada a essa produção para direcioná-la para a fome do povo brasileiro ainda está relegada a uma pequena minoria dos grandes empresários. Terras vastas e potencial biotecnológico ilimitado compõem nosso País, mas os investimentos em ciência e tecnologia não condizem com a imensidão do nosso Brasil.

A expectativa da melhoria da qualidade dos alimentos produzidos mundo afora passa primeiramente pela Ciência, Pesquisa e Inovação estas três bases podem otimizar a produção e suprir a constante demanda crescente mundial por alimentos. Tudo isso começa pela semente, pela semente que a sociedade planta na expectativa de colher um bom fruto um dia talvez, quem sabe, possivelmente, se olharmos mais para o que está nas nossas mãos, ao nosso alcance a nossa semente, e menos a que está na mão dos outros.

As sementes são o princípio da vida desde que deixamos de ser nômades, para começar a cultivar nosso próprio alimento. Elas representam a origem da civilização como a conhecemos, por seu intermédio fomos capazes de nos instalar em ambientes antes inexplorados. As sementes representam ainda a capacidade inventiva dos humanos, selecionando, melhorando, cultivando, propiciando o surgimento de novas linhagens de novas cultivares, fazendo com que as plantas mostrem seu maior potencial e que possam, em verdade e por excelência, servir a sociedade, alimentar os indivíduos, vesti-los, reconforta-los, e suprir a necessidade fisiológica de sobrevivência.

A biotecnologia, seja clássica ou molecular, tem buscado otimizar todos os processos envolvidos na produção e qualidade das sementes para que as mesmas sirvam ao seu principal propósito, que é a utilização pela sociedade nos mais variados ramos agropecuários. Atualmente esforços tem sido empreendidos para a manutenção dos bancos genéticos de sementes selvagens ou melhoradas, conhecidos como bancos de germoplasma. É sempre importante ter acesso a esses bancos na busca pela manutenção do potencial genético das espécies e a possível utilização dos mesmos futuramente para testes de melhoramento, sejam clássicos ou moleculares, pelos cientistas.

Por falar neles, nós, você e eu, leitores e escritores que tanto lutamos pela ciência que tanto tentamos, apesar das imensas dificuldades, desenvolver trabalhos de excelência que possam ser de algum modo aproveitados pela sociedade, aplicados para o bem-estar humano.

É nesse contexto que se insere os trabalhos apresentados neste livro.

Começando assim, pela tentativa de entender o mundo com a análise de bactérias fixadoras de nitrogênio em cultura de soja, uma das grandes commodities brasileiras, pelo trabalho intitulado: DISCRIMINAÇÃO ISOTÓPICA DO ^{15}N EM N_2 FIXADO NA SOJA EM FUNÇÃO DE CULTIVARES E ESTIRPES DE BRADYRHIZOBIUM SPP. Em seguida o livro nos traz discussões sobre a Grápia ou Garapeira, uma planta com uma infinidade de usos comerciais ou medicinais, analisando seus aspectos biométricos para a aplicação na seleção de linhagens com maior eficiência produtiva BIOMETRIA E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE DIFERENTES MATRIZES DE APULEIA LEIOCARPA (VOGEL) J.F.MACBR. A qualidade da semente do roxinho, planta endêmica amazonense, é analisada no próximo trabalho só que em diferentes substratos procurando melhores formas para sua produção CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES E CRESCIMENTO INICIAL DE PELTOGYNE GRACILIPES EM DIFERENTES SUBSTRATOS. O vigor das sementes é essencial para o seu sucesso e é disso que trata o Capítulo 4, onde a soja e seu armazenamento são o foco do estudo influenciando a capacidade germinativa DESEMPENHO DE SEMENTES DE SOJA EM FUNÇÃO DO TAMANHO E PERÍODO DE ARMAZENAMENTO. O trabalho seguinte lida com uma espécie pioneira que pode ser utilizada para reflorestamento, mas que o conhecimento a respeito do seu potencial germinativo ainda é escasso, sendo assim foi realizado o trabalho intitulado MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SENEGALIA POLYPHYLLA (DC.) BRITTON & ROSE na expectativa de trazer respostas para essas questões. E para concluir a EMBRAPA mostra seu know-how tratando do tema germinação em dois artigos utilizando soja e em seguida a canela do ceilão, duas variedades de interesse comercial que podem apresentar dificuldades de manejo germinativo, este sendo favorecido e entendido por estudos como os aqui descritos: TÉCNICAS DE UNIFORMIZAÇÃO DE GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES NA QUALIDADE DE PLÂNTULAS DE SOJA BRS; TRATAMENTOS DE SEMENTES, EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM COM SOLUÇÃO NUTRITIVA, assim é possível entender como melhorar a germinação de espécies comercialmente estabelecidas, bem como melhorar a produção e a perspectiva de espécies ainda desconhecidas, porém bastante utilizadas.

Com essa breve apresentação esperamos situar o leitor a respeito da obra, além de fazer o mesmo pensar um pouco na problemática mundial, que muitas vezes envolve uma coisa tão pequena que não damos nem valor, como são as sementes. Porém sem elas, sem ciência, sem tecnologia e sem inovação não seremos capazes de mudar o mundo para melhor.

Meus agradecimentos a cada leitor que acessar esse trabalho e que por um momento se faça pensar, saia do conforto, realize reflexões significativas e usufrua este trabalho para todos os seus objetivos. Que todos tenham uma boa leitura.

Igor Luiz Vieira de Lima Santos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
DISCRIMINAÇÃO ISOTÓPICA DO ¹⁵ N EM N ₂ FIXADO NA SOJA EM FUNÇÃO DE CULTIVARES E ESTIRPES DE <i>BRADYRHIZOBIUM SPP</i>	
Karla Emanuelle Campos Araujo Carlos Vergara Robert Michael Boddey Segundo Urquiaga	
DOI 10.22533/at.ed.9761903091	
CAPÍTULO 2	16
BIOMETRIA E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE DIFERENTES MATRIZES DE <i>APULEIA LEIOCARPA</i> (VOGEL) J.F.MACBR	
Queli Cristina Lovatel Renata Diane Menegatti Mariane Pereira de Oliveira Márcio Carlos Navroski Oscar José Smiderle Aline das Graças Souza Luciana Magda de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.9761903092	
CAPÍTULO 3	27
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMENTES E CRESCIMENTO INICIAL DE <i>PELTOGYNE GRACILIPES</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS	
Oscar José Smiderle Aline das Graças Souza Dalton Roberto Schwengber Jane Maria Franco de Oliveira Rosiere Fonteles de Araújo Bárbara Crysthina Lucas da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.9761903093	
CAPÍTULO 4	41
DESEMPENHO DE SEMENTES DE SOJA EM FUNÇÃO DO TAMANHO E PERÍODO DE ARMAZENAMENTO	
Leticia Delavalentina Zanachi Cristina Fernanda Schneider	
DOI 10.22533/at.ed.9761903094	
CAPÍTULO 5	53
MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE <i>SENEGALIA POLYPHYLLA</i> (DC.) BRITTON & ROSE	
Patrícia Gibbert Kelly Thais Canello Marlene de Matos Malavasi Ubirajara Contro Malavasi	
DOI 10.22533/at.ed.9761903095	

CAPÍTULO 6 66

TÉCNICAS DE UNIFORMIZAÇÃO DE GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES NA QUALIDADE DE PLÂNTULAS DE SOJA BRS

Oscar José Smiderle
Aline das Graças Souza
Renata Diane Menegatti
Hananda Hellen da Silva Gomes
Vicente Gianluppi
Daniel Gianluppi

DOI 10.22533/at.ed.9761903096

CAPÍTULO 7 76

TRATAMENTOS DE SEMENTES, EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE *CINNAMOMUM ZEYLANICUM* COM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Oscar Jose Smiderle
Aline das Graças Souza

DOI 10.22533/at.ed.9761903097

SOBRE O ORGANIZADOR..... 84

ÍNDICE REMISSIVO 85

DISCRIMINAÇÃO ISOTÓPICA DO ^{15}N EM N_2 FIXADO NA SOJA EM FUNÇÃO DE CULTIVARES E ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM SPP*

Karla Emanuelle Campos Araujo

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Fitotecnia, Seropédica – Rio de
Janeiro

Carlos Vergara

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Solos, Seropédica – Rio de
Janeiro

Robert Michael Boddey

Embrapa Agrobiologia, Seropédica – Rio de
Janeiro

Segundo Urquiaga

Embrapa Agrobiologia, Seropédica – Rio de
Janeiro

RESUMO: A técnica mais utilizada para a quantificação da contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas é a abundância natural de ^{15}N . Quando se faz o uso dessa técnica, é necessário determinar o valor 'B', que é o valor da abundância natural do ^{15}N do N na leguminosa derivada da FBN. Essa determinação se torna importante para a cultura da soja, que obtém altas proporções do seu N, a partir do processo da FBN, em solos com baixos teores de N. O objetivo do experimento foi de conferir a fixação de N_2 de duas estirpes de *B. diazoefficiens*, uma estirpe de *B. japonicum* e seis estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* e a abundância natural de ^{15}N do N_2 fixado pelas

estirpes em simbiose com três cultivares de soja. Para avaliar o valor 'B' da FBN resultante da simbiose entre as cultivares (cv) de soja BRS 133, BRS 184, MONSOY9144 e nove estirpes de *Bradyrhizobium*, o cultivo da soja foi realizado em vasos Leonard, utilizando substrato de areia e perlita na proporção 1:1 (v/v). Quarenta e sete dias após o plantio, as plantas foram colhidas e calculou-se o valor 'B'. As cultivares não diferiram entre si no valor 'B' da parte aérea (B_{pa}). Mas os B_{pa} das plantas inoculadas com *B. elkanii* mostraram uma tendência de abundância de ^{15}N ser menos negativa do que no caso da inoculação com *B. diazoefficiens* e *B. japonicum*. Os valores 'B' da planta inteira da inoculação com *B. elkanii* foram muito semelhantes aos dos *B. diazoefficiens* e *B. japonicum*; e em todos os casos menos de 1 delta (‰) diferente de zero para abundância natural. Este estudo não apoia a hipótese de que há um fracionamento isotópico no processo da fixação de N_2 pela simbiose soja/*Bradyrhizobium*.

PALAVRAS-CHAVE: Abundância natural de ^{15}N ; valor 'B'; fracionamento isotópico.

ISOTOPIC DISCRIMINATION OF ^{15}N OF N_2 FIXED IN SOYBEAN IN THE FUNCTION OF CULTIVARS AND STYLES OF *BRADYRHIZOBIUM SPP*

ABSTRACT: The most used technique for the quantification of the contribution of biological nitrogen fixation (BNF) in legumes is the natural abundance of ^{15}N . When using this technique, it is necessary to determine the value 'B', which is the natural abundance value of ^{15}N of N in the legume derived from the BNF. This determination becomes important for the soybean crop, which obtains high proportions of its N, from the BNF process, in soils with low N contents. The objective of the experiment was to check the N_2 fixation of two *B. diazoefficiens* strains, one *B. japonicum* strain and six *B. elkanii* strains, and the natural ^{15}N abundance of N_2 fixed by the strains symbiosis with three soybean cultivars. To evaluate the 'B' value of the BNF resulting from the symbiosis between cultivars (cv) soybean BRS 133, BRS 184, MONSOY9144 and nine strains of *Bradyrhizobium*. Soybean plants for all treatments were grown under equal conditions, soybean cultivation was carried out in Leonard pots using sand substrate and perlite in the proportion 1: 1 (v / v). Forty days after planting, the plants were harvested and a 'B' value was calculated. The cultivars did not differ in the 'B' value of the aerial part (B_{pa}). But the B_{pa} of plants inoculated with *B. elkanii* showed a tendency of abundance of ^{15}N to be less negative than in the case of inoculation with *B. diazoefficiens* and *B. japonicum*. The 'B' values of the whole plant of *B. elkanii* inoculation were very similar to those of *B. diazoefficiens* and *B. japonicum*; and in all cases less than 1 delta (‰) other than zero for natural abundance. This study does not support the hypothesis that there is isotopic fractionation in the N_2 fixation process by soybean/*Bradyrhizobium* symbiosis.

KEYWORDS: ^{15}N natural abundance; 'B' value; Isotopic fractionation.

1 | INTRODUÇÃO

Na safra 2017/2018, no Brasil, um total de 35 milhões de hectares de soja foi colhido com um rendimento total de 119 milhões de toneladas (Tg), uma média de 3.300 Mg ha⁻¹ (IBGE-LSPA 2018). A soja é favorecida como commodity devido ao seu alto teor de proteína de 37 a 40% (~ 6,5% N). Assim, em média, 215 kg de N são exportados de cada ha de soja na colheita no Brasil. A proporção de N em toda a cultura (grãos, resíduos da parte aérea e raízes) derivada da fixação biológica de nitrogênio (FBN) determina se a cultura faz uma contribuição total ou perda do solo. Assim, é extremamente importante quantificar os insumos da FBN ao julgar a sustentabilidade da cultura da soja, seja em monocultura seguida de pousio ou seguida por outras culturas em um ciclo anual.

Atualmente, a técnica mais comumente usada para quantificar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas cultivadas em campo é a técnica da abundância natural de ^{15}N , originalmente desenvolvida por Shearer e Kohl (1986). Descobriu-se frequentemente que o N disponível nas plantas nos solos é ligeiramente

enriquecido em ^{15}N em comparação com a atmosfera devido ao fracionamento do isótopo N durante muitas transformações diferentes do solo N e transformações dos compostos N nas plantas e simbioses microbianas acompanhantes (HÖGBERG 1997; BODDEY et al 2000; HOBBIE e OUIMETTE 2009). Plantas que dependem totalmente da FBN apresentam valores de ^{15}N de abundância ($\delta^{15}\text{N}$) próximos ao N_2 de ar, o qual é definido internacionalmente como unidades delta zero (0,00 ‰).

Assume-se que plantas de referência não fixadoras de N_2 crescendo no mesmo local acumularão N do solo de tal forma que a diferença na abundância de ^{15}N entre as plantas de leguminosas noduladas e as plantas de referência pode ser interpretada quantitativamente para avaliar a contribuição da FBN.

Na maioria dos casos, verificou-se que nos sistemas agrícolas, ao contrário dos ecossistemas naturais, as plantas de referência apresentam variações relativamente pequenas em sua abundância natural de ^{15}N (UNKOVICH et al. 1994; BODDEY et al. 2000). Isto deve ser confirmado para cada local por amostragem de diferentes espécies de referência, então é razoável supor que a abundância de ^{15}N do N derivado do solo pela leguminosa será próxima que o enriquecimento médio das diferentes plantas de referência (UNKOVICH et al. 2008).

Um outro problema na aplicação da técnica da abundância natural de ^{15}N é que nas plantas de leguminosas existe um fracionamento isotópico entre os tecidos vegetais, de modo que os brotos das plantas são geralmente depletados em ^{15}N e nódulos enriquecidos (BODDEY et al. 2000; UNKOVICH et al. 2008). Raízes podem ser ligeiramente enriquecidas ou esgotadas. A diferença entre a abundância de ^{15}N das plantas leguminosas e a do N_2 atmosférico (0,00 ‰) é conhecida como o valor “B”. Em trabalhos anteriores, chamamos os valores de “B” para o tecido da parte aérea como “B_{pa}” e para a planta inteira como “B_p” (OKITO et al. 2004). Para avaliar o N total acumulado ao longo de todo o ciclo da cultura é desejável colher plantas na fase de enchimento da vagem média quando a acumulação de N é máxima (BERGERSEN et al. 1988; BODDEY et al. 1995), entretanto, nesta fase muitos nódulos são senescentes e impossíveis de recuperar completamente. Em tais estudos de campo é impossível recuperar todas as raízes e nódulos, então, para calcular a contribuição da BNF para a leguminosa, os brotos inteiros das leguminosas e plantas de referência são colhidas ao mesmo tempo e a proporção de N derivada do ar via a FBN (% N_{dfa}) no tecido da parte aérea pode ser calculado a partir da equação (SHEARER e KOHL 1986):

$$\% \text{N}_{\text{dfa}} = 100 \times [(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{leg}}) / (\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - B_s)]$$

onde $\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ e $\delta^{15}\text{N}_{\text{leg}}$ são a abundância de ^{15}N do tecido da parte aérea das plantas de referência (valor médio) e da leguminosa, respectivamente.

Quando o % N_{dfa} é alto, o valor de N_{leg} é próximo de zero, de modo que qualquer erro na estimativa do valor de ‘B_s’ resultará em um grande erro na estimativa

de% Ndfa, especialmente se a abundância de ^{15}N das plantas de referência indicam que o $\delta^{15}\text{N}$ de N disponível na planta no solo é baixo. A safra de soja brasileira tem se mostrado altamente dependente dos insumos da FBN e tem sido estimado que geralmente a % N derivada do ar via FBN (% Ndfa) pode ser superior a 70 ou 80% (HUNGRIA et al. 2006; ZOTARELLI et al. 2012).

Vários estudos para determinar o valor 'B' da soja (OKITO et al. 2004; GUIMARÃES et al. 2008; PAUFERRO et al. 2010) e outras leguminosas anuais (STEELE et al. 1983; BERGERSEN et al. 1986; YONEYAMA et al. 1986, CADISCH et al., 2000) mostraram que o valor de 'BS' pode ser significativamente diferente quando o mesmo genótipo de leguminosa é nodulado por diferentes estirpes de rizóbio. Apenas alguns estudos foram feitos sobre o efeito da ontogenia da planta sobre os valores de "BS" e os resultados sugerem que o valor de "BS" diminui à medida que as plantas amadurecem (BERGERSEN et al. 1988; UNKOVICH et al. 1994). Diante dessas questões, o objetivo do experimento foi de conferir a fixação de N_2 de duas estirpes *B. diazoefficiens*, uma estirpe de *B. japonicum* e seis estirpes de *B. elkanii* e a abundância natural de ^{15}N do N_2 fixado pelas estirpes em simbiose com três cultivares de soja.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia, Seropédica- RJ, foi instalado em 28 de Maio de 2013. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram de plantas de soja cultivadas com adição de inoculante turfoso e sem inoculação (controle) de estirpes de *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* (Tabela 1), em cinco repetições. Foram utilizadas sementes do cultivar BRS 133, BRS 184, MONSOY 9144 que foram imersas por 30 segundos em álcool etílico (92.8° I.N.P.M.), por dois minutos no peróxido de hidrogênio (30%) seguida de 10 lavagens sucessivas com água destilada autoclavada, para desinfestação. Foram semeadas cinco sementes por vaso, o desbaste foi aos oito dias após a emergência, deixando-se apenas duas plantas por vaso.

Estirpe	Outras nomenclaturas	Origem
<i>B. diazoefficiens</i>		
CPAC 7	BR 85, SEMIA 5080	Brasileira
USDA 110*	BR 116	USA (originalmente Ásia)
<i>B. japonicum</i>		
USDA 06*	BR 114	USA (originalmente Ásia)
<i>B. elkanii</i>		
29 W	BR 29, SEMIA 5019	Brasileira
USDA 130	BR 122	USA (originalmente Ásia)
USDA 94	BR 121	USA (originalmente Ásia)
USDA 76*	BR 113	USA (originalmente Ásia)

USDA 31	BR 123	USA (originalmente Ásia)
USDA 46	BR 120	USA (originalmente Ásia)

Tabela 1. Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* utilizadas no experimento.

*= estirpes padrão “type strains”

O cultivo das sementes de soja foi realizado em vasos Leonard (VINCENT, 1970), utilizando substrato de areia e perlita na proporção 1:1 (v/v) os quais foram previamente autoclavados por duas vezes (120 °C por 1 h com um intervalo de 24 h), no plantio foi colocada 300 mL de água autoclavada nos vasos. Decorridos oito dias, após a germinação a água contida nos vasos foi substituída pela solução nutritiva isenta de N, solução de Norris (NORRIS e DATTE, 1976) com um quarto da concentração recomendada. Após sete dias, substituiu-se essa solução por outra com metade da concentração recomendada. Seguido-se sete dias a solução foi trocada por outra com a concentração recomendada. Depois desse procedimento, a troca da solução com a concentração recomendada foi realizada a cada sete dias.

A coleta foi realizada aos 47 dias após o plantio, no estágio R5, na floração plena. Separou-se a parte aérea, a raiz e os nódulos (quando presentes). Em seguida, procedeu-se à secagem da parte aérea e da raiz em estufa a 65°C por um período de quatro dias e dos nódulos em sílica gel até estabilização do peso para a determinação da proporção de matéria seca (MS). Passados esse período determinou-se o peso seco do material. Após esse procedimento, as amostras foram processadas em moinho tipo Wiley (peneiras de 2 mm), e posteriormente em moinho de rolo similar ao descrito por Arnold e Schepers (2004) até formar pó.

Em seguida, pesaram-se sub-amostras da parte aérea, da raiz e dos nódulos, para determinação do N total, e para análises da razão isotópica de ¹⁵N nos tecidos da planta e da semente pelo método de Dumas (BODDEY et al., 1994) em um analisador elementar CHNS-O (Modelo ECS 4010, CostechAnalytical Technologies Inc., Valencia, USA), acoplado a um espectrômetro de massas de razão isotópica (Modelo Delta V, Thermo Scientific, Bremen, Alemanha), conforme descrito por RAMOS et al. (2001).

Valor ‘B’: é o valor da abundância natural de ¹⁵N do N na leguminosa derivada da FBN. Para a determinação do valor ‘B’ para a planta inteira, utilizando-se a técnica de abundância natural de ¹⁵N usou-se a seguinte fórmula seguinte:

$$B_{pi} = \frac{(N_{Tnod} \times \delta^{15}N_{nod}) + (N_{TPA} \times \delta^{15}N_{PA}) + (N_{TR} \times \delta^{15}N_{R}) - (N_{TS} \times \delta^{15}N_{S})}{(N_{Tnod} + N_{TPA} + N_{TR} - N_{TS})}$$

Como as plantas foram cultivadas em areia lavada / vermiculita e com solução nutritiva isenta de N, as únicas fontes de N para as plantas devem ser as sementes e a FBN. O valor ‘B’ do tecido da parte aérea ‘B_{pa}’ foi assim calculado Como as plantas

foram cultivadas em areia lavada / perlita e irrigadas com solução nutritiva isenta de N, as únicas fontes de N para as plantas devem ser as sementes e a BNF. O valor 'B' do tecido da parte aérea 'Bs' foi assim calculado assumindo que 50% da semente N foi translocada para a parte aérea, sendo o restante encontrado nas raízes e nódulos (OKITO et al. 2004). Isso foi calculado de acordo com a equação: assumindo que 50% da semente N foi translocada para a parte aérea, sendo o restante encontrado nas raízes e nódulos (OKITO et al. 2004). Isso foi calculado de acordo com a equação:

$$B_{pa}' = \frac{(N_{TPA} \times \delta^{15}NPA) - (0.5 \times N_{TS} \times \delta^{15}NS)}{N_{TPA} - (0.5 \times N_{TS})}$$

Onde:

B_{pi}' : valor 'B' da planta inteira

B_{pa}' : valor 'B' da parte aérea

N_{Tnod} : N total dos nódulos;

N_{TPA} : N total da parte aérea;

N_{TR} : N total da raiz;

N_{TS} : N total da semente;

$\delta^{15}N_{nod}$: delta ^{15}N dos nódulos;

$\delta^{15}N_{PA}$: delta ^{15}N da parte aérea;

$\delta^{15}N_R$: delta ^{15}N da raiz.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posteriormente para separar as médias ao teste de Student, por meio do software Sisvar (FERREIRA, 2003).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Massa seca da parte aérea, raiz, nódulos e planta inteira

A ausência de nódulos nas plantas não inoculadas mostra que não houve contaminação deste tratamento com bactérias derivadas dos outros inoculantes e indica que não houve contaminação cruzada de um tratamento com outro. A produção de massa seca pelas plantas de soja inoculadas com as diferentes estirpes de *B. diazoefficiens*, *B. japonicum* e *B. elkanii* foram muito superiores as plantas controle, não inoculada confirmando a contribuição da FBN das simbioses formadas por todas as estirpes de *B. diazoefficiens*, *B. japonicum* e seis das nove estirpes de *B. elkanii* (Tabela 2). As estirpes USDA 76, USDA 94 e USDA 130 testadas neste experimento foram as únicas exceções, apresentaram baixa eficiência, não promoveram nodulação significativa e os resultados de massa seca foram muito próximos ao do controle. Desta observação concluímos que estas estirpes não são capazes de formar simbioses

efetivas com a cultivares de soja utilizada (BRS 133, BRS 184, Monsoy 9144), ou como estas estirpes foram estocadas (liofilizadas) há muitos anos na coleção da Embrapa Agrobiologia, perderam sua efetividade.

No acúmulo de MS na parte aérea, das raízes e dos nódulos não houve diferenças significativas entre as três cultivares de soja (Tabela 2). As estirpes que mais acumulou MS da parte aérea foram as duas estirpes de *B. diazoefficiens*, a estirpe de *B. japonicum* destacando a estirpe CPAC 7 (*B. diazoefficiens*) recomendada para a fabricação de inoculantes no Brasil, desde 1992 e a estirpe 29 W de *B. elkanii* também uma estirpe recomendada, desde 1979 (Tabelas 2 e 3). As outras estirpes recomendadas hoje (SEMIA 587 e CPAC 15) não foram incluídas neste experimento. Os mesmos resultados foram encontrados para a MS da planta inteira (Tabela 3). Com isso observou-se que a estirpe USDA 6 estabelece simbiose eficiente, quando comparada as estirpes atualmente recomendadas pelo ministério da agricultura (CPAC 7, CPAC 15, 29 W, SEMIA 587). Okito et al. (2004) em trabalho realizado, usando a cv de soja Celeste e coletando as plantas aos 82 dias após o plantio não encontrou diferença significativa para acúmulo de MS na parte aérea e na planta inteira usando as estirpes CPAC 7 e 29 W.

Maiores acúmulos de MS de raiz, foram vistos quando as plantas foram inoculadas com as estirpes CPAC 7, USDA 6, USDA 110, 29 W, USDA 46 e USDA 76.

Com relação ao peso dos nódulos, a estirpe que apresentou maior acúmulo de MS foi a estirpe 29 W, seguida das estirpes CPAC 7, USDA 46 e USDA 110. Estudo realizado por Okito et al. (2004), mostrou que a estirpe 29 W apresentou maior acúmulo de massa seca de nódulos, enquanto a estirpe CPAC 7 apresentou um menor acúmulo de massa seca de nódulos. Pauferro et al. (2010) e Guimarães et al. (2008), em trabalho conduzido em vasos no campo com solo, mostrou que os tratamentos de inoculação com as estirpes 29 W e SEMIA 587 apresentou maiores valores de massa seca de nódulos do que estirpes CPAC 7 e CPAC 15.

A nodulação USDA 76, a estirpe padrão de *B. elkanii*, formou poucos nódulos nas três cultivares de soja. Porém, concluímos que a estirpe estocada há muitos anos na coleção de Embrapa Agrobiologia perdeu sua capacidade de nodular eficientemente com soja.

Tratamento	Parte Aérea				Raiz				Nódulo															
	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média..	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média..	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média												
g massa seca.vaso ⁻¹																								
CPAC 7 ¹	3,44	a	3,10	a	3,58	a	3,37	a	0,69	a	0,60	a	0,67	a	0,65	a	0,31	b	0,20	b	0,25	b	0,25	bc
USDA 110 ¹	3,01	ab	2,65	a	2,59	bc	2,75	b	0,65	ab	0,54	a	0,55	abcd	0,58	ab	0,27	bc	0,25	b	0,26	b	0,26	b
USDA 6 ²	2,57	b	2,63	a	2,15	cd	2,45	c	0,60	abc	0,51	a	0,41	de	0,51	bc	0,19	cd	0,19	b	0,15	c	0,18	d
29 W ³	2,85	b	2,71	a	2,77	b	2,78	b	0,67	ab	0,52	a	0,58	ab	0,59	ab	0,47	a	0,41	a	0,35	a	0,41	a
USDA 31 ³	1,45	cd	1,93	b	1,32	e	1,57	e	0,54	bc	0,54	a	0,48	bcde	0,52	bc	0,18	cd	0,25	b	0,18	bc	0,20	cd
USDA 46 ³	1,92	c	2,00	b	1,86	d	1,93	d	0,61	abc	0,54	a	0,57	abc	0,58	ab	0,30	b	0,34	a	0,23	bc	0,29	b

USDA 76 ³	0,84	e	1,27	c	1,16	e	1,09	f	0,57	abc	0,51	a	0,51	bcd	0,53	bc	0,02	f	0,03	c	0,04	d	0,03	f
USDA 94 ³	0,97	de	1,02	c	0,90	e	0,96	f	0,48	c	0,51	a	0,43	cde	0,48	c	0,05	ef	0,04	c	0,03	d	0,04	ef
USDA 130 ³	1,04	de	0,82	c	1,00	e	0,95	f	0,48	c	0,32	b	0,35	e	0,38	d	0,12	de	0,06	c	0,06	d	0,08	e
Média	2,01		2,01		1,92				0,59		0,51		0,50				0,21		0,20		0,17			
Não Inoculado	0,27		0,43		0,69		0,46		0,39		0,50		0,47		0,46		0,00		0,00		0,00		0,00	
CV (%)			18								19										32			

Tabela 2. Acúmulo de matéria seca em plantas de soja cv BRS 133, BRS 184, Monsoy 9144 e inoculadas com as estirpes *Bradyrhizobium*, colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. ¹*Bradyrhizobium diazoefficiens*; ²*Bradyrhizobium japonicum*; ³*Bradyrhizobium elkanii*.

Eficiência nodular

A eficiência nodular, foi calculado por (mg Ntotal da planta inteira – Ntotal da semente por g de MS dos nódulos) (Tabela 3). Como a nodulação das estirpes USDA 76, USDA 94 e USDA 130 foi muito baixa e talvez os nódulos não foram efetivos, a eficiência nodular para estas estirpes não foram tabuladas. Neste experimento a diferença em eficiência nodular entre as plantas inoculadas por estirpes de *B. diazoefficiens*, *B. japonicum* e *B. elkanii* foi grande, sendo este parâmetro maior para as estirpes de *B. diazoefficiens* e *B. japonicum* conforme relatada anteriormente pelas equipes trabalhando na Embrapa Agrobiologia desde 1970 (DOBEREINER et al., 1970; NEVES et al., 1985; SANTOS et al., 1996; SANTOS et al., 1997; OKITO et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2008 e PAUFERRO et al., 2010). Dobereiner et al. (1970) mostraram que a estirpe CB 1809 (subsequentemente Rumjanek et al. [1993] mostrou que CPAC 7 é uma re-isolada de CB 1809) foi muito mais eficiente na fixação de N₂ quando comparada a estirpe 29 W. Neste caso a eficiência nodular é definida como a quantidade de N fixado (acumulado na planta inteira) por mg de massa seca de nódulo. Neves et al. (1985) também mostrou que a concentração ureídios na seiva em plantas de soja inoculadas com CB 1809 foi maior do que para as plantas inoculadas com 29 W.

Tratamentos	Planta Inteira (g massa seca.vaso ⁻¹)				Eficiência Nodular (mg Nt PI-Ntsem)/(MS nódulo ⁻¹)											
	BRS 133 ^{ns}	BRS 184	Monsoy 9144	Média...	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média...								
CPAC 7 ¹	4,43	a	3,90	a	4,50	a	4,28	a	494	b	697	a	580	a	590	a
USDA 110 ¹	3,93	ab	3,44	ab	3,39	b	3,59	b	486	b	411	b	395	b	430	b
USDA 6 ²	3,35	bc	3,33	bc	2,71	c	3,13	c	580	a	589	b	500	a	556	a
29 W ³	3,99	a	3,64	a	3,69	b	3,77	b	254	c	245	c	344	b	281	c
USDA 31 ³	2,18	d	2,71	c	1,98	d	2,29	d	210	c	256	c	178	c	214	c
USDA 46 ³	2,83	c	2,89	bc	2,66	c	2,79	c	252	c	230	c	276	c	252	c
USDA 76 ³	1,43	e	1,80	d	1,71	d	1,65	e	nd		nd		nd		nd	

USDA 94 ³	1,50	e	1,58	d	1,36	d	1,48	e	nd	nd	nd	nd
USDA 130 ³	1,64	de	1,20	d	1,41	d	1,42	e	nd	nd	nd	nd
Média	2,81		2,72		2,60				499	526	523	
Não Inoculado	0,66		0,93		1,16							
CV (%)					17					86		

Tabela 3. Acúmulo de matéria seca em plantas inteiras de soja e eficiência nodular nas cv BRS 133, BRS 184, Monsoy 9144 e inoculadas com as estirpes *Bradyrhizobium*, colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. nd – não determinada devido ao baixo peso de nódulos (<0.05 g). ¹*Bradyrhizobium diazoefficiens*; ²*Bradyrhizobium japonicum*; ³*Bradyrhizobium elkanii*.

Acúmulo de N total na parte aérea, raiz, nódulo e planta inteira

Da mesma maneira que não houve diferenças significativas entre variedades da soja referente à sua acumulação de MS na parte aérea, raízes ou nos nódulos, também não houve diferenças no acúmulo de N total entre as cultivares (Tabela 9). Houve uma forte influência das estirpes de *Bradyrhizobium* no acúmulo de N total nas plantas, conforme observado para acúmulo de MS. A estirpe CPAC 7 destacou-se como aquela que mais promoveu o acúmulo de N da FBN, seguidas pelas outras duas estirpes de *B. diazoefficiens* e *B. japonicum* (USDA 06 e USDA 110) e a estirpes 29 W de *B. elkanii*.

Tratando-se do N total acumulado nas plantas de soja, as que apresentaram maior acúmulo na parte aérea e na planta inteira, foram as plantas inoculadas com as estirpes CPAC 7, USDA 110 USDA 6 e 29 W (Tabela 4 e 5). As estirpes que apresentaram maior acúmulo de MS da parte aérea e planta inteira, foram as mesmas que apresentaram maior N total acumulado, resultado semelhante foi observado por Nishi et al. (1996) com soja, onde observou que as plantas com maiores quantidades de matéria seca apresentaram também maior acúmulo de N.

Quanto ao acúmulo de N total nas raízes e nos nódulos, as estirpes que apresentaram maiores médias quando comparadas ao tratamento controle foram CPAC 7, USDA 110 (*B. diazoefficiens*), USDA 6 (*B. japonicum*), 29W e USDA 46 (*B. elkanii*), isso mostra que estas estirpes não apresentaram diferenças quanto ao N acumulado nas raízes e nos nódulos, mesmo pertencendo a espécies diferentes. Okito et al. (2004) observou que a estirpe 29 W apresentou maior acúmulo de N total, comparando com a estirpe CPAC 7, porém apesar dessa constatação, a média de MS da parte aérea foram iguais para as duas estirpes.

As menores médias de acúmulo de N total foram para as estirpes USDA 76, USDA 94, USDA 130. Este fato provavelmente ocorreu devido à baixa nodulação, o que foi visto também no acúmulo de matéria seca. Esse fato pode ser ocasionado por dois

motivos, sendo eles, a incapacidade dessas estirpes formar simbioses efetivas com essas cultivares de soja, e/ou essas estirpes terem perdido sua efetividade, já que foram estocadas a muitos anos, na coleção da embrapa Agrobiologia.

Tratamentos	Parte Aérea								Raiz								Nódulo							
	BRS 133		BRS 184		Monsoy 9144		Média		BRS 133		BRS 184		Monsoy 9144		Média		BRS 133		BRS 184		Monsoy 9144		Média	
mg N.vaso⁻¹																								
CPAC 7 ¹	134	a	115	a	134	a	128	a	24	a	20	a	23	a	22	a	20	b	14	c	17	ab	17	b
USDA 110 ¹	122	a	99	ab	92	bc	104	b	19	bc	18	abc	15	b	17	b	16	bc	17	abc	17	ab	17	b
USDA 6 ²	101	b	110	ab	80	cd	97	b	21	ab	17	abc	13	bc	17	b	13	cd	15	bc	10	c	13	c
29 W ³	101	b	95	b	107	b	101	b	18	bc	15	bc	15	b	16	bc	28	a	21	a	23	a	24	a
USDA 46 ³	68	c	69	c	62	c	66	c	19	b	19	ab	15	b	18	b	16	bc	20	ab	14	bc	17	b
USDA 76 ³	9	f	15	d	18	f	14	f	11	de	9	d	10	cd	10	d	1	g	1	d	2	d	1	d
USDA 94 ³	14	ef	19	d	12	f	15	f	9	e	9	d	9	d	9	d	2	fg	2	d	1	d	2	d
USDA 130 ³	31	de	27	d	29	ef	29	f	11	de	7	d	8	d	9	d	7	ef	3	d	3	d	4	d
Média	71		73		71				17		14		14				13		12		11			
Controle	3		5		9				10		10		8				0		0		0			
CV (%)	21								23				36											

Tabela 4. Acúmulo de nitrogênio total por vaso (2 plantas por vaso) de soja cv BRS 133, BRS 184, Monsoy 9144 inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* e colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. ¹Bradyrhizobium diazoefficiens; ²Bradyrhizobium japonicum; ³Bradyrhizobium elkanii.

Tratamentos	Planta Inteira (mg N.vaso ⁻¹)							
	BRS 133		BRS 184		Monsoy 9144		Média	
CPAC 7 ¹	179	a	148	a	174	a	167	a
USDA 110 ¹	157	ab	133	ab	124	bc	138	b
USDA 6 ²	136	b	142	a	104	cd	127	b
29 W ³	148	b	130	ab	145	b	141	b
USDA 31 ³	68	d	92	c	60	e	73	d
USDA 46 ³	104	c	108	bc	91	c	101	c
USDA 76 ³	21	f	25	d	29	f	25	f
USDA 94 ³	26	ef	30	d	22	f	26	f
USDA 130 ³	49	de	38	d	41	ef	42	e
Média	99		94		88			
CV (%)					19			
Não Inoculado	13		15		17		15	

Tabela 5. Acúmulo de nitrogênio total por vaso (2 plantas por vaso) de soja cv BRS 133, BRS 184, Monsoy 9144 inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* e colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. ¹*Bradyrhizobium diazoefficiens*; ²*Bradyrhizobium japonicum*; ³*Bradyrhizobium elkanii*

Abundância natural de ¹⁵N na parte aérea, raiz, nódulo e planta inteira

Não houve diferenças significativas para os valores de abundância natural de ¹⁵N ($d^{15}N$) da parte aérea, nódulos e planta inteira entre as diferentes variedades da soja, mas houve diferenças entre as plantas noduladas pelas diferentes estirpes (Tabela 6). Excluindo as três estirpes de *B. elkanii* (USDA 76, USDA 94, USDA 130), onde a nodulação foi menos de 0,05 g nódulos por vaso. A parte aérea das plantas noduladas com estirpes de *B. elkanii*, foram mais negativos em $d^{15}N$, quando comparadas com os valores de $d^{15}N$ das plantas noduladas com *B. diazoefficiens*, *B. japonicum*. Este resultado é consistente com os estudos anteriores, conduzidos pela equipe de Embrapa Agrobiologia anteriormente (OKITO et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2008; PAUFERRO et al., 2010, ARAUJO et al, 2018).

Mais uma vez, excluindo as três estirpes de *B. elkanii* onde a nodulação foi menos de 0,05 g nódulos, o enriquecimento dos nódulos foi maior nos tratamentos inoculados com *B. diazoefficiens*, *B. japonicum*, do que com *B. elkanii*. Este resultado também está em consonância com os quatro trabalhos da equipe da Embrapa Agrobiologia (*op. cit.*).

Os valores $\delta^{15}N$ das raízes, independente do tratamento de inoculação apresentaram - se todos positivos, igual ao encontrado em trabalhos realizados por Okito et al. (2004); Guimarães et al. (2008), Pauferro et al. (2010), e diferente do encontrado por Araujo et al. (2018), que encontrou valores de $\delta^{15}N$ das raízes negativos.

Todas as estirpes, de uma maneira geral, apresentaram valores de $\delta^{15}N$ altos nos nódulos, se destacando, as plantas inoculadas com as estirpes CPAC 7, USDA 110 e USDA 6 resultados semelhantes foram encontrados por Okito et al. (2004); Guimarães et al.(2008); Pauferro et al. (2010), quando testaram as estirpes 29 W e CPAC 7. Araujo et al. (2018) também encontrou resultados semelhantes quando usou as estirpes CPAC 7, 29 W e USDA 46 em plantas de soja.

O valor 'B' da parte aérea (denominada ' B_{pa} ' em paralelo da nomenclatura utilizada por Okito et al. [2004] que usou ' B_s ' - 'B' "shoot") é o valor 'B' útil para calcular contribuições da FBN às leguminosas noduladas em campo onde a coleta total das raízes é impossível ou extremamente difícil. Os valores médios de ' B_{pa} ' neste experimento foram aproximadamente da mesma magnitude, negativo entre -1,21 e -4,31 ‰ daqueles valores encontrados anteriormente pela equipe da Embrapa Agrobiologia (OKITO et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2008; PAUFERRO et al., 2010). Entretanto, nestes trabalhos anteriores encontram se valores para estirpes 29 W e/ou SEMIA 587 (ambas *B. elkanii*) significativamente mais negativo dos valores de plantas

noduladas com as estirpes CPAC 7 (*B. diazoefficiens*) e/ou CPAC 15 (*B. japonicum*). Os valores 'B' da parte aérea (B_{pa}) reflete os da parte aérea, sendo mais negativo no caso de *B. elkanii* do que nos tratamentos inoculados com *B. diazoefficiens* e *B. japonicum*.

Para estimativas do valor 'B' para a planta inteira (B_{pi}) de plantas noduladas com estirpes de *B. elkanii* foram muito semelhante os da *B. diazoefficiens* e *B. japonicum* e em todos os casos menos de 1 unidade de delta (‰) diferente de zero, a abundância natural de ^{15}N do N_2 do ar, sugerindo que as simbioses tem pouco tendência de mostrar fracionamento isotópico significativo conforme alegado por Unkovich et al (2013). Este resultado foi em contraste dos trabalhos anteriores da equipe da Embrapa Agrobiologia (op. cit.) que encontraram valores mais negativo quando utilizou a estirpe 29 W e valor menos negativo quando usou a estirpe CPAC 7.

Se o valor de B_{pi} é significativamente menor do que zero, significa que o processo da fixação de N_2 pela simbiose soja/*Bradyrhizobium* promove um fracionamento isotópico na transformação de N_2 para o N fixado. Unkovich (2013) alegou que não existe evidência com os estudos feitos até agora de apoiar a existência de um fracionamento neste processo, principalmente porque a medição do valor absoluto da abundância de ^{15}N é cercada com fontes de erro. Os resultados dos trabalhos anteriores de Okito et al., (2004), Guimarães et al., (2008) e Pauferro et al., (2010) mostraram valores negativos e de maior magnitude do que neste presente estudo. Como nos trabalhos anteriores os valores de B_{pi} para as simbioses formadas com soja pelas estirpes de *B. elkanii* foram significativamente mais negativos dos valores daqueles formadas pelas estirpes de *B. japonicum*, um dos valores tem para ser significativamente diferente do zero ‰ (o valor do N_2 do ar).

Tratamentos	Parte Aérea				Raiz				Nódulo															
	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média	BRS 133	BRS 184	Monsoy 9144	Média												
CPAC 7 ¹	-1,24	c	-1,12	abc	-1,13	abc	-1,16	bc	0,83	c	1,15	d	1,22	d	1,07	d	6,56	a	6,60	a	6,36	ab	6,51	ab
USDA 110 ¹	-1,15	c	-0,92	ab	-1,00	a	-1,02	ab	0,67	c	1,25	cd	1,32	cd	1,08	d	6,28	a	6,40	a	5,90	b	6,19	b
USDA 6 ²	-1,32	bc	-1,20	bc	-1,16	abcd	-1,23	cd	0,59	c	0,71	e	0,59	f	0,63	e	6,38	a	7,07	a	6,92	a	6,79	a
29 W ³	-1,69	d	-1,62	d	-1,44	cde	-1,58	ef	1,77	a	0,66	e	0,90	e	1,11	d	4,92	b	4,72	b	4,70	c	4,78	c
USDA 31 ³	-1,46	cd	-1,39	cd	-1,37	bcd	-1,41	de	1,47	d	1,55	ab	2,36	a	1,79	a	4,15	c	4,20	b	3,80	d	4,05	d
USDA 46 ³	-1,31	c	-1,41	cd	-1,49	de	-1,40	de	0,74	c	0,68	e	1,60	b	1,01	d	3,98	c	4,49	b	4,48	cd	4,32	d
USDA 76 ³	-0,85	ab	-0,78	a	-1,04	ab	-0,89	a	1,28	d	1,36	bcd	1,28	cd	1,31	c	2,24	d	1,46	d	1,73	ef	1,81	f
USDA 94 ³	-0,77	a	-0,80	a	-0,92	a	-0,83	a	1,36	d	1,45	bc	1,51	bc	1,44	bc	1,49	e	1,51	d	1,45	f	1,48	f
USDA 130 ³	-1,73	d	-1,65	d	-1,72	e	-1,70	f	1,51	d	1,76	a	1,51	bc	1,59	b	2,24	d	2,34	c	2,37	e	2,32	e
Média	-1,29		-1,25		-1,28				1,14		1,23		1,46				4,48		4,53		4,45			
DMS	0,34		0,34		0,34		0,20		0,28		0,28		0,28		0,16		0,70		0,70		0,70		0,41	
Não Inoculado	0,62		0,98		1,56				0,38		0,86		1,04											

Tabela 6. Abundância natural de ^{15}N (‰) em diferentes variedades de soja inoculadas com estirpes de *B. diazoefficiens*, *B. japonicum* ou *B. elkanii* e colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. ¹*Bradyrhizobium diazoefficiens*; ²*Bradyrhizobium japonicum*; ³*Bradyrhizobium elkanii*.

Tratamentos	Valor 'B' (‰)															
	Parte Aérea†						Planta Inteira‡									
	BRS 133	BRS 184	Monsoy9144	Média	BRS 133	BRS 184	Monsoy9144	Média								
CPAC 7 ¹	-1,40	a	-1,30	ab	-1,29	a	-1,31	a	-0,09	bc	-0,11	cd	-0,10	bc	-0,10	c
USDA 110 ¹	-1,33	a	-1,10	a	-1,21	a	-1,21	a	-0,18	bcd	-0,29	cd	-0,19	bc	-0,22	cd
USDA 6 ²	-1,57	ab	-1,41	ab	-1,45	ab	-1,51	ab	-0,32	cd	-0,14	de	-0,16	cd	-0,21	cd
29 W ³	-2,00	bc	-1,95	b	-1,69	abc	-1,88	b	0,02	bc	-0,39	bc	-0,23	b	0,20	bc
USDA 31 ³	-1,68	b	-1,88	b	-3,67	cd	-1,94	bc	0,03	bc	0,05	bc	-0,28	bc	0,07	bc
USDA 46 ³	-1,71	b	-1,82	b	-2,04	bc	-1,85	b	-0,14	b	-0,01	cd	-0,10	bc	-0,08	c
USDA 76 ³	-3,50	c	-4,08	c	-3,23	c	-3,60	c	0,33	a	0,34	a	0,57	a	0,41	a
USDA 94 ³	-4,17	d	-4,02	c	-3,76	cd	-3,98	c	0,16	ab	0,31	b	0,13	b	0,20	b
USDA 130 ³	-3,49	c	-5,94	d	-4,31	d	-4,58	d	-0,46	d	-0,58	e	-0,59	d	-0,54	e
Média	-2,27		-2,61		-2,51				-0,07		-0,09		-0,10			
DMS	0,47		0,47		0,47		0,27		0,34		0,34		0,34		0,19	

Tabela 7. Valor 'B' em diferentes variedades de soja inoculadas com estirpes de *B. diazoefficiens*, *B. japonicum* ou *B. elkanii* e colhidas aos 47 dias após o plantio.

Valores médios de 5 repetições. Letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de t (LSD) a 5% de probabilidade. ¹*Bradyrhizobium diazoefficiens*; ²*Bradyrhizobium japonicum*; ³*Bradyrhizobium elkanii*. †Corrigido para $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ e teor de N total de sementes. ‡Média ponderada corrigido para $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ e teor de N total de sementes.

4 | CONCLUSÕES

Não há fracionamento isotópico no processo da fixação de N_2 em cultivares de soja BRS 133, BRS 184, MONSOY9144 inoculadas com estirpes de *B. diazoefficiens*, de *B. japonicum* e de *Bradyrhizobium elkanii*.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, K. E. C.; VERGARA, C; GUIMARÃES, A.P.; ROUWS, J. R. C.; JANTALIA, C. P; URQUIAGA, S; ALVES, B. J. R; BODDEY, R. M. Changes in ^{15}N natural abundance of biologically fixed N_2 in soybean due to shading, rhizobium strain and plant growth stage. **Plant an soil**, 426:413–428, 2018.

BERGERSEN, F; PEOPLES, M; TURNER, G. Isotopic discriminations during the accumulation of nitrogen by soybeans. **Australian journal plant physiology**, 15:407-420, 1988.

BERGERSEN, F; TURNER, G; AMARGER, N; MARIOTTI, F; MARIOTTI, A. Strain of Rhizobium lupini determines natural abundance of ^{15}N in root nodules of Lupinus spp. **Soil Biology & Biochemistry**,

18:97-101, 1986.

BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo ^{15}N . In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos em estudo de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA/SPI, 1994. p. 471-494.

BODDEY, R. M; MÜLLER, S. H; ALVES, B. J. Estimation of the contribution of biological N_2 fixation to two *Phaseolus vulgaris* genotypes using simulation of plant nitrogen uptake from ^{15}N -labelled soil. **Fertilizer research**, 45:169-185, 1995.

BODDEY, R. M; Peoples, M. B; Palmer, B; Dart. P. J. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **nutrition cycle agroecosystem**, 57:235-270, 2000

CADISCH, G; HAIRIAH, K; GILLER, K. Applicability of the natural ^{15}N abundance technique to measure N_2 fixation in *Arachis hypogaea* grown on an Ultisol NJAS-Wageningen. **Journal of Life Sciences**, 48:31-45, 2000.

DÖBEREINER, J.; FRANCO, A. A.; GUZMAN, I. Estirpes de *Rhizobium japonicum* de excepcional eficiência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 5: 55-161, 1970.

FERREIRA, D. F. **Sistema para análise de variância para dados balanceados (SISVAR)**. Versão 4.3. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2003.

GUIMARÃES, A.P.; DE MORAIS, R.F.; URQUIAGA S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. *Bradyrhizobium* strain and the ^{15}N natural abundance quantification of biological N_2 fixation in soybean. **Scientia Agricola**, v. 65, p.516-524, 2008.

HOBBIE, E. A; OUIMETTE, A. P. Controls of nitrogen isotope patterns in soil profiles. **Biogeochemistry** 95:355-371, 2009.

HÖGBERG, P. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. Tansley review n° 95. **New Phytologist**, v.137, p.179-203, 1997.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, Z. J.; SIBALDELLI, R. N. "R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N_2 fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian journal of plant science**, P. 227-239, 2006.

IBGE-LSPA Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: setembro 2018 <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Accessed 30 março 2019

OKITO, A.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Isotopic fractionation during N_2 fixation by four tropical legumes. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.36, p.1179-1190, 2004.

NEVES, M. C. P.; DIDONET, A. D.; DUQUE, F. F.; DÖBEREINER, J. *Rizobium* strain effects on nitrogen transport and distribution in soybeans. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 36, p. 1179-1192, 1985.

NISHI, C. Y. M.; HUNGRIA, M. Efeito da reinoculação na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em um solo com população estabelecida de *Bradyrhizobium* com as estirpes SEMIA 566, 587, 5019, 5079 e 5080. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 5, p. 359-368, 1996.

NORRIS, D; DATE, R. **Legume bacteriology Tropical Pastures Research Principles and Methods** p:134-174, 1976.

PAUFERRO, N.; GUIMARÃES, A. P.; JANTALIA, C. P.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY,

R. M.; ¹⁵N natural abundance of biologically fixed N₂ in soybean is controlled more by the *Bradyrhizobium* strain than by the variety of the host plant. **Soil Biology & Biochemistry**, 42 : 1694-1700, 2010.

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ¹⁵N-isotope techniques. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, p. 105-115, 2001.

RUMJANEK, N. G.; DOBERT, R. C.; VAN BERKUN, P.; TRIPLETT, E. W. Common soybean inoculant strains in Brazil are member of *B. Elkanii*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, p. 4371-4371, 1993.

SHEAER G. E.; KOHL D.H. N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance, **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v,13, p,699-756, 1986.

STEELE, K.; BONISH, P.; DANIEL; R.M; O'HARA, G. Effect of rhizobial strain and host plant on nitrogen isotopic fractionation in legumes. **Plant Physiology**,72:1001-1004, 1983.

UNKOVICH, M J. Isotope discrimination provides new insight into biological nitrogen fixation. **New Phytologist**, v.198, n.3, p.643-646, 2013.

UNKOVICH, M. J.; HERRIDGE, D.F.; PEOPLES, M. B.; CADISCH, G.; BODDEY, R. M.; GILLER, K. E.; ALVES, B. J. R.; CHALK, P. M. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems**. ACIAR Monograph N° 136, Canberra, p 258, 2008.

UNKOVICH, M. J.; PATE, J.S.; SANFORD, P. ARMSTRONG, E. L. Potential precision of the δ¹⁵N natural abundance method in field estimates of nitrogen fixation by crop and pasture legumes in south-west. **Australian Journal of Plant Physiology**, 45:119-132, 1994.

VINCENT, G.M. **Manual of the practical study of root nodule bacteria**. (International Biology Program, 15), Oxford: Blackwell p.163, 1970.

YONEYAMA, T.; FUJITA, K.; YOSHIDA, T.; MATSUMOTO. T.; KAMBAYASHI, I.; YAZAKI, J. Variation in natural abundance of ¹⁵N among plant parts and in ¹⁵N/¹⁴N fractionation during N₂ fixation in the legume-rhizobia symbiotic system. **Plant Cell Physiol** 27:791-799, 1986.

Zotarelli, L.; Zatorre, N. P.; Boddey, R. M.,; Urquiaga, S; Jantalia, C. P.; Franchini, J. C.; Alves, B. J. R. Influence of no-tillage and frequency of a green manure legume in crop rotations for balancing N outputs and preserving soil organic C stocks. **Field Crop Res** 132:185-195, .2012.

SOBRE O ORGANIZADOR

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos: Possui Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2003) apresentando monografia na área de genética microbiologia clínica e Mestrado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2006) com dissertação na área de genética e microbiologia ambiental. Doutor em Biotecnologia pela RENORBIO (Rede Nordeste de Biotecnologia (2013), Área de Concentração Biotecnologia em Saúde atuando principalmente com tema relacionado ao câncer de mama. Participou como Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível 3 de relevantes projetos tais como: Projeto Genoma *Anopheles darlingi* (de 02/2008 a 02/2009); e Isolamento de genes de interesse biotecnológico para a agricultura (de 08/2009 a 12/2009). Atualmente é Professor Adjunto da Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, do Centro de Educação e Saúde onde é Líder do Grupo de Pesquisa BASE (Biotecnologia Aplicada à Saúde e Educação) e colaborador em ensino e pesquisa da UFRPE, UFRN e EMBRAPA-CNPA. Tem experiência nas diversas áreas da Genética, Microbiologia e Bioquímica com ênfase em Genética Molecular e de Microrganismos, Plantas e Animais, Biologia Molecular e Biotecnologia. Atua em projetos versando principalmente sobre temas relacionados a saúde e educação nas áreas de: Nutrigenômica e Farmacogenômica, Genômica Humana Comparada, Metagenômica, Carcinogênese, Monitoramento Ambiental e Identificação Genética Molecular, Marcadores Moleculares Genéticos, Polimorfismos Genéticos, Bioinformática, Biodegradação, Biotecnologia Industrial e Aplicada a Saúde e Educação.



ÍNDICE REMISSIVO

A

Agricultura 7, 25, 38, 51, 64, 75, 84
Apuleia leiocarpa 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25
Armazenamento 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52
Árvores 16, 17, 18, 19, 22, 24, 25, 26, 30, 65, 77

B

Biometria 21, 25, 27, 29, 30, 32, 33, 34
Bradyrhizobium spp 1
BRS 7880 66, 67, 68, 71, 72, 74, 75

C

Casca de arroz 27, 31, 35, 37, 38, 66, 69, 72, 73, 74
Cinnamomum Zeylanicum 76, 77, 80, 81, 82, 83
Condutividade elétrica 41, 43, 44, 48, 49, 51, 52
Crescimento 27, 29, 31, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 60, 64, 68, 75, 76, 79, 82
Cultivar 4, 41, 43, 44, 68, 74, 75

E

Eficiência 6, 8, 9, 14, 18, 23, 60
Embrapa 1, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 29, 30, 31, 39, 42, 51, 64, 68, 78
Emergência 4, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 40, 53, 56, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 78, 80, 81, 82
Experimento 1, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 29, 31, 35, 66, 68, 69, 70, 72, 73

F

Fisiológicas 16, 17, 25, 60, 77
Fixação 1, 2, 4, 8, 12, 13, 14
Fracionamento Isotópico 1, 3, 12, 13

G

Germinação 5, 16, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 28, 29, 31, 32, 34, 41, 42, 43, 44, 47, 48, 50, 53, 55, 59, 60, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 76, 78
Glycine Max 14, 41, 42, 43, 66, 67
Grápia 16, 17, 18, 22, 23, 24, 25

L

Leguminosas 1, 2, 3, 4

M

Massa seca 6, 7, 8, 32, 35, 53, 55, 56, 58, 59, 60, 64, 70, 71, 72, 73, 74, 76, 80, 81, 82

Matrizes 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 58, 59, 61, 62, 63, 65, 77

Mudas 16, 18, 23, 24, 27, 28, 29, 31, 32, 34, 39, 55, 56, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82

N

Nódulos 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11

P

Peltogyne Gracilipes 27, 28, 29, 33, 34, 35, 36, 38, 40

Peroxidase 41, 42, 44, 50, 52

Plântula 29, 31, 35, 55, 60, 62, 64, 71, 72, 81

S

Sementes 4, 5, 6, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 80, 81, 83

Senegalia Polyphylla 53, 54, 56, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 64

Soja 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 66, 67, 68, 72, 73, 74, 75

Solução 5, 6, 43, 44, 48, 76, 78, 79, 81, 82

Substrato 1, 5, 20, 27, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 55, 56, 62, 64, 67, 69, 72, 73, 74, 75, 79

T

Tratamento 6, 7, 9, 11, 32, 33, 43, 51, 68, 74, 81, 82

U

Uniformidade 30, 42, 64, 66, 67, 72, 73, 74, 75

V

Vigor 16, 17, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 41, 42, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 60, 64, 65, 66, 67, 68, 71, 76, 77

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-597-6

