

136

Circular
Técnica

Pelotas, RS
Dezembro, 2012

Autores

Paulo Ricardo Reis Fagundes
Engenheiro-agrônomo, D.Sc.
em Melhoramento Genético,
pesquisador da Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS,
paulo.fagundes@cpact.embrapa.br

Maria Laura Turino Mattos
Engenheira-agrônoma,
D.Sc. em Ciência do Solo,
pesquisadora da Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS,
maria.laura@cpact.embrapa.br

Ariano Martins de Magalhães Jr.
Engenheiro-agrônomo,
D.Sc. em Melhoramento Genético,
pesquisador da Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS,
ariano.magalhaes@cpact.embrapa.br

Alcides Cristiano Morais Severo
Técnico agrícola
da Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS,
Alcides.severo@cpact.embrapa.br

Morjana Luisa Pereira Facio
Graduanda em Química Ambiental,
bolsista da Embrapa Clima Temperado,
Universidade Católica de Pelotas,
Pelotas, RS
morjana_facio@yahoo.com.br

Resposta de Genótipos de Arroz Irrigado à Fixação Biológica de Nitrogênio

Introdução

O nitrogênio (N) é elemento indispensável ao metabolismo vegetal com vistas à síntese de proteínas e enzimas fundamentais para a vida das plantas. A forma mineral do nitrogênio participa de inúmeros processos bioquímicos no sistema solo-planta. Além de ter alto custo sob o ponto de vista econômico e ambiental, este elemento pode ser facilmente perdido por lixiviação na forma de nitrato (NO_3^-), por volatilização, na forma de amônio (NH_3) ou por desnitrificação. Há uma tendência mundial pela substituição de insumos químicos por biológicos que favoreçam o estabelecimento de uma agricultura sustentável, com menor custo de produção e conservação dos recursos naturais. Assim, a utilização de microrganismos capazes de fixar o nitrogênio atmosférico como as bactérias diazotróficas apresenta-se como uma alternativa natural para fornecer parcialmente o N requerido pelos vegetais e reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos em leguminosas, cereais e forrageiras. Nas últimas décadas, um volume considerável de informações foram publicadas sobre bactérias diazotróficas, indicando a possibilidade de utilizá-las como insumo biológico.

Estudos sobre a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em plantas não leguminosas como arroz, trigo, milho e sorgo, e outras gramíneas como a cana-de-açúcar, capim-elefante, têm demonstrado potencial significativo para FBN quando estas são inoculadas com bactérias diazotróficas. Entretanto, a FBN nas diferentes culturas é dependente de uma interação complexa entre as plantas, os microrganismos e os ecossistemas.

A capacidade de bactérias para colonizar, fixar e transferir nitrogênio, em simbiose com plantas de arroz (UEDA et al. 1995a; BALDANI, 1996; BALDANI.; DÖBEREINER, 2000; CANUTO et al., 2003), bem como a ocorrência e a compreensão dos mecanismos envolvidos na interação planta/microrganismo/ambiente (ROGER; LADHA, 1992; MALARVIZHI; LADHA, 1999) e a existência de variabilidade genética tanto nos microrganismo potencialmente fixadores de nitrogênio como nos genótipos de arroz, têm sido amplamente demonstrada e discutida nas duas últimas décadas (SHRESTHA; LADHA, 1996).

Para gramíneas, microrganismos dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia* apresentam potencial para FBN e produção de substâncias promotoras de crescimento (KUSS, 2006). No mesmo trabalho, o autor verificou um incremento no rendimento em grãos do arroz de 26,91% quando inoculados com *Azospirillum brasilense* e 17,78% quando inoculado com o isolado I-31, ambos sem o emprego de adubo nitrogenado. Na dose de N recomendada para o arroz, de 120 kg ha⁻¹, o rendimento do arroz inoculado com *A. brasilense* aumentou 12,84% e o isolado I-31 aumentou 31,85% sobre o tratamento sem inoculação e sem adubação nitrogenada. Os dados obtidos indicam que há possibilidades da utilização de bactérias diazotróficas endofíticas isoladas de cultivares da região e avaliadas in vitro como microrganismos para inoculantes, permitindo a redução dos custos de adubação nitrogenada e a manutenção da produção de arroz.

Trabalhos, conduzidos em ambiente controlado, indicam que a bactéria *Herbaspirillum seropedicae* associada à planta de arroz pode fixar de 31% a 54% do nitrogênio total acumulado pelo vegetal (BALDANI; BALDANI; DOBEREINER, 2000; MIRZA et al., 2000).

Nas várzeas subtropicais, no Rio Grande do Sul (RS), duas cultivares de arroz irrigado por inundação, BRS-7 Taim e BRS Pelota, já foram avaliadas quanto à sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio. Dezessete colônias de bactérias endofíticas diazotróficas aeróbias, com potencial para FBN já foram isoladas de folhas, colmos e raízes da cultivar BRS-7 Taim (MATTOS et al., 2006). Dezenove isolados obtidos na

cultivar BRS Pelota apresentaram capacidade para crescer em meio NFb (Novo Fábio Pedrosa), sendo, portanto, considerados diazotróficos endofíticos aeróbios. Um dos isolados, porém, apresentou pigmentação fluorescente característica de *Pseudomonas fluorescens*, bactéria promotora de crescimento de plantas (MATTOS et al., 2008). Os isolamentos permitiram a caracterização e identificação de bactérias diazotróficas associativas aos genótipos de arroz irrigado e à ampliação da possibilidade de exploração biotecnológica desses microrganismos (MATTOS et al., 2010).

A seleção de genótipos de plantas responsivos à FBN é fundamental para a redução do uso de fertilizantes nitrogenados em diversas culturas de importância econômica (URQUIAGA et al., 1992; BALDANI et al., 1997; REIS et al., 2000). Normalmente, o melhoramento genético de espécies vegetais prioriza características como produtividade, eficiência no uso de fertilizantes e a resistência a doenças, deixando, via de regra, de considerar as interações entre plantas e microrganismos associativos benéficos, alguns dos quais com a capacidade de fixar nitrogênio através do processo de FBN (MONTANEZ et al., 2009), característica esta que pode ser selecionada nos programas de melhoramento.

Em estudo realizado com genótipos de arroz irrigado considerados promissores para alta FBN, selecionados para solos pobres, foram identificadas diferenças significativas entre os genótipos em relação ao rendimento de grãos, acúmulo de matéria seca total e índice de colheita de grãos. O acúmulo de matéria seca total acompanhou o rendimento de grãos e, com base no índice de colheita de

grãos (IC), observou-se que os genótipos em estudo diferiram na eficiência de produção de grãos (REIS JÚNIOR et al., 1998).

O objetivo deste documento é relatar os resultados obtidos na avaliação de genótipos de arroz irrigado da Embrapa responsivos à FBN.

Metodologia

O estudo foi conduzido, na safra 2010/11, na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, localizada no município de Capão do Leão, RS. O experimento seguiu o delineamento fatorial (2 x 36), com três repetições, onde o fator A foi tratamento (com e sem inoculação) e o fator B genótipos de arroz (48). A implantação do experimento foi no sistema de cultivo convencional, sobre um Planossolo Háplico, classe textural 4,0; 17% de argila, 1,6% de M.O; 1,9 e 43,0 mg dm⁻³ de P e K, respectivamente; CTC igual a 3,1 e pH em água de 5,2. Para a correção do solo e a adubação foram usados corretivos e fertilizantes nas doses e épocas recomendadas pela pesquisa (SOSBAI ... , 2010).

Cada parcela foi composta de uma linha de cinco metros de comprimento, espaçada em 0,20 m, uma da outra (parcela). Foram semeadas 60 sementes por metro linear, sendo que este número foi corrigido conforme o poder germinativo das sementes. As plantas foram inoculadas com um consórcio de acessos preservados na Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Clima Temperado: C06, C10, C18, isolados do colmo da cultivar BRS Pelota. Foram avaliadas as seguintes variáveis: Índice

Relativo de Clorofila (IRC) das folhas, na folha bandeira de cada planta uma de seis plantas (seis amostras), utilizando-se Clorofilômetro SPAD 502; número de colmos/m e matéria seca da parte aérea. Considerando-se, que cada genótipo apresenta valores distintos para a característica perfilhamento (n° de colmos/m), optou-se por gerar a variável matéria seca/colmo (MS/C). Para fins de comparação entre os dois tratamentos (com e sem inoculação) foi gerada a variável resposta "diferencial de resposta (Äd)" para estabelecer o grau de variação de resposta entre os tratamentos com e sem inoculação. Empregou-se a análise de variância (SAS, 1985) e aplicou-se o teste de Duncan (P < 0,05) para a comparação das médias.

Resultados

A semeadura ocorreu em 03/01/2011, tendo a emergência das plântulas ocorrido em 10/01/2011. Não foi possível obter dados sobre algumas variáveis como ciclo, matéria seca total, rendimento de grãos e índice de colheita de grãos (IC), devido a ocorrências climáticas que prejudicaram a floração e o enchimento de grãos.

Os resultados obtidos, para as condições em que foi conduzido o experimento, indicam que houve efeito dos tratamento (T) - com e sem inoculação e dos genótipos (G) e não houve efeito de interação T X G para IRC e MS/C (Tabelas 1 e 4). A inoculação dos genótipos promoveu o aumento (P > 0,0001) no IRC mostrando uma tendência de aumentar o teor de clorofila quando o arroz é inoculado com os acessos de bactérias endofíticas diazotróficas (BED) utilizadas

(Tabela 2). Também, ocorreu aumento ($P > 0,0003$) de 24 mg de matéria seca por colmo em função da inoculação do arroz (Tabela 4).

Houve diferença entre os genótipos para as variáveis IRC e MS/C (Tabelas 1 e 4), embora estas não possam ser atribuídas, com segurança, ao efeito da inoculação, pois ambos os caracteres estão associados à constituição genética das linhagens.

Verificou-se tendência positiva para o diferencial de resposta ($\bar{\Delta}d$) entre os genótipos, variando de 0,6 a 13,4 para o IRC (Tabela 3) e de 50 a 137 mg de MS/C. Em alguns genótipos o $\bar{\Delta}d$ foi negativo para pelo menos uma das variáveis, o que pode ser atribuído ao erro experimental, pois é de se supor que os valores deveriam ser, no mínimo, iguais.

Entre os genótipos avaliados destacaram-se, com base no diferencial de resposta, quanto ao IRC, as linhagens AB09007, AB10005, AB09025, AB09021, AB09006, AB09002, AB09044, AB09010 e a cultivar BRS-7 Taim. Para o MS/C destacaram-se as linhagens AB09052, AB10009, AB09044, AB08055, AB10005, AB10010, AB09021, AB09003, AB09006, AB08066, AB10005, AB10007, AB09044, AB10065, AB10007, AB10002, AB09002 e AB09028 e a cultivar IRGA 417.

Considerações Finais

Os resultados obtidos no experimento são válidos para as condições em que o mesmo foi conduzido, na safra 2010/11, sendo possível fazer as seguintes inferências: o arroz irrigado realiza simbiose com bactérias diazotróficas endofíticas, ocasionando

alterações no Índice Relativo de Clorofila (IRC), sendo um indicativo de que estes microrganismos simbióticos podem promover a fixação simbiótica de nitrogênio (FBN) na cultura; a inoculação com bactérias diazotróficas endofíticas promove o aumento de matéria seca nas plantas de arroz irrigado; não foi possível identificar diferenças significativas dentro de cada linhagem para o efeito da inoculação, mas considerando-se o diferencial de resposta para as variáveis avaliadas, nota-se uma tendência de variação positiva na maioria dos genótipos, com destaque para as linhagens AB10005, AB09021, AB09006, AB09002 e AB09044, nas quais o $\bar{\Delta}d$ foi superior à melhor testemunha tanto para o IRC como MS/C.

Tabela 1. Índice Relativo de Clorofila (IRC) e diferencial de resposta (Δd), média de 48 genótipos de arroz irrigado com e sem inoculação com bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2010/11

Tratamento	IRC	Δd
Com inoculante	32,60 a	11,7
Sem inoculante	29,17 b	-
Média	30,82	
CV	11,5	

Tabela 2. Índice Relativo de Clorofila (IRC) em 48 genótipos de arroz irrigado com e sem inoculação com bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2010/11.

Genótipo	Origem	Com inoculação	Sem inoculação	Média ^{ns}	Δd
AB09007	CNAx 11207-B-8-B-B-6-B	36,6	23,2	29,9	13,4
AB10005	LTB 09014	36,9	27,3	32,1	9,6
AB09025	CNAx12076-B-B-18-B	35,6	26,6	31,1	9,0
AB09021	CNAx12076-B-B-1-B	32,6	23,7	28,2	8,9
AB09006	CNAx 11207-B-8-B-B-4-B	36,9	28,0	32,5	8,9
AB09002	CNAx 11191-B-3-B-B-2-B	31,5	23,2	27,3	8,2
AB09044	CNAx12087-19-B-B-3-B	35,1	27,1	31,1	8,0
AB09010	CNAx12078-2-B-B-3-B	32,7	24,8	28,8	7,9
BRS-7 Taim	Testemunha	34,4	26,6	30,5	7,8
AB10002	LTB 07034	32,9	26,3	29,6	6,7
AB09009	CNAx 11208-B-15-B-B-6-B	36,2	29,7	33,0	6,5
AB09043	CNAx12087-19-B-B-2-B	33,5	27,6	30,5	6,0
AB10004	LTB 08025	30,6	24,6	27,6	6,0
AB08150	CNAx 8470-4-11-4-1-2-B	31,6	25,9	28,8	5,7
AB08141	CNA-B9801-B-5-B-5-B	31,2	25,8	28,5	5,5
AB09064	CNAx12087-19-B-B-3-B	31,1	25,8	28,5	5,3
AB09052	CNAx12087-43-B-B-13-B	30,9	25,6	28,3	5,3
AB10006	LTB 09026	33,0	28,1	30,6	4,9
AB10008	LTB 08039	32,6	27,8	30,2	4,8
AB09023	CNAx12076-B-B-9-B	32,1	27,3	29,7	4,7
AB10007	LTB 09034	36,2	31,5	33,9	4,7
AB08140	CNA-B9801-B-5-B-4-B	33,4	28,9	31,1	4,6
AB10010	LTB 08017	33,9	29,4	31,6	4,5
AB08134	CNA-B9797-B-14-B-3-B	33,3	28,8	31,1	4,5

AB08076	CNAx12078-14-B-B-15	31,7	28,1	29,9	3,6
AB08055	CNAx 11191-B-8-B-B-2	29,9	26,4	28,2	3,5
AB10063	LTB 07035	31,2	27,9	29,6	3,3
AB09062	CNAx12087-43-B-B-13-B	30,6	27,6	29,1	3,0
AB10009	LTB 08048	33,0	30,1	31,5	2,9
AB09026	CNAx12076-8-B-B-3-B	30,4	27,6	29,0	2,8
AB10066	LTB 09026	29,5	26,7	28,1	2,7
AB10067	LTB 09034	29,4	26,9	28,2	2,5
AB09003	CNAx 11191-B-3-B-B-4-B	34,8	32,4	33,6	2,5
AB10068	LTB 08039	29,3	26,8	28,0	2,5
AB10022	LTB 07034	29,8	27,9	28,8	1,9
AB10064	LTB 08025	30,5	28,6	29,6	1,9
AB10065	LTB 09014	32,7	30,9	31,8	1,8
AB08139	CNA-B9797-B-14-B-10-B	26,2	25,5	25,9	0,6
AB10061	LTB 07025	30,2	30,5	30,3	-0,2
AB10069	LTB 08048	31,7	32,5	32,1	-0,9
AB10060	LTB 08017	31,4	32,6	32,0	-1,2
IRGA 417	Testemunha	30,3	31,7	31,0	-1,5
AB09024	CNAx12076-B-B-17-B	30,2	32,7	31,5	-2,4
AB09028	CNAx12076-19-B-B-5-B	28,9	32,1	30,5	-3,2
Média		32,6	29,1	30,8	3,4

Tabela 3. Teor de matéria seca por colmo e diferencial de resposta (Δd), média de 48 genótipos de arroz irrigado, com e sem inoculação por bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2010/11.

Tratamento	MS (g colmo ⁻¹)	Δd
Com inoculante	1,85 a	14,9
Sem inoculante	1,61 b	0
Média	1,74	
CV	24,22	

Tabela 4. Matéria seca/colmo (MS/C) em 48 genótipos de arroz irrigado com e sem inoculação de bactérias endofíticas diazotróficas. Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, safra 2010/11

Genótipo	Origem	MS/C			
		C/INOCUL	S/INOCUL	MÉDIA	Δd
AB09052	CNAx12087-43-B-B-13-B	2,76	1,38	1,88	1,37
AB10009	LTB 08048	2,66	1,55	1,99	1,11
AB09044	CNAx12087-19-B-B-3-B	2,47	1,45	1,92	1,02
AB08055	CNAx 11191-B-8-B-B-2	1,44	1,35	1,40	0,82
AB10005	LTB 09014	1,82	1,13	1,42	0,69
AB10010	LTB 08017	2,36	1,68	2,02	0,68
AB09021	CNAx12076-B-B-1-B	2,07	1,44	1,68	0,63
AB09003	CNAx 11191-B-3-B-B-4-B	1,48	0,85	1,12	0,63
AB09006	CNAx 11207-B-8-B-B-4-B	2,56	2,00	2,27	0,56
AB08066	CNAx 11208-B-8-B-B-18	2,14	1,59	1,84	0,55
AB10065	LTB 09014	2,06	1,55	1,77	0,51
AB10007	LTB 09034	1,66	1,16	1,37	0,50
AB09064	CNAx12087-19-B-B-3-B	1,69	1,19	1,41	0,50
AB10007	LTB 09034	2,18	1,71	1,92	0,47
AB10002	LTB 07034	2,38	1,92	2,15	0,46
AB09002	CNAx 11191-B-3-B-B-2-B	1,88	1,54	1,71	0,34
AB09028	CNAx12076-19-B-B-5-B	1,48	1,18	1,31	0,30
IRGA 417	Testemunha	1,91	1,64	1,75	0,27
AB09007	CNAx 11207-B-8-B-B-6-B	1,72	1,47	1,58	0,25
AB10061	LTB 07025	1,82	1,59	1,70	0,23
AB09062	CNAx12087-43-B-B-13-B	2,01	1,78	1,89	0,23
AB10008	LTB 08039	1,71	1,49	1,61	0,22
AB10068	LTB 08039	1,88	1,66	1,76	0,22
AB08139	CNA-B9797-B-14-B-10-B	1,71	1,50	1,58	0,21
AB09024	CNAx12076-B-B-17-B	2,03	1,84	1,92	0,19
AB10009	LTB 08048	1,39	1,20	1,30	0,19
AB08134	CNA-B9797-B-14-B-3-B	1,74	1,57	1,64	0,16
AB10064	LTB 08025	1,91	1,75	1,83	0,16
AB10070	LTB 08017	1,46	1,31	1,38	0,15
AB10001	LTB 07025	1,72	1,58	1,64	0,14
AB09010	CNAx12078-2-B-B-3-B	1,79	1,65	1,72	0,14
AB09025	CNAx12076-B-B-18-B	1,78	1,65	1,72	0,12
AB10063	LTB 07035	1,75	1,65	1,70	0,10
AB09043	CNAx12087-19-B-B-2-B	1,87	1,79	1,83	0,08
AB08150	CNAx 8470-4-11-4-1-2-B	1,35	1,29	1,32	0,06
AB09011	CNAx12078-2-B-B-4-B	1,76	1,71	1,73	0,05
AB10003	LTB 07035	1,71	1,72	1,72	-0,01

AB10066	LTB 09026	1,16	1,19	1,18	-0,03
AB09026	CNAx12076-8-B-B-3-B	1,96	2,02	1,99	-0,06
AB09069	CNAx 11208-B-15-B-B-6-B	2,10	2,22	2,16	-0,12
BRS 7 Taim	Testemunha	1,87	2,05	1,94	-0,18
AB08076	CNAx12078-14-B-B-15	1,48	1,68	1,59	-0,20
AB10004	LTB 08025	1,70	1,93	1,81	-0,24
AB08141	CNA-B9801-B-5-B-5-B	1,85	2,13	1,98	-0,28
AB09023	CNAx12076-B-B-9-B	1,38	1,71	1,56	-0,33
AB10062	LTB 07034	1,31	1,65	1,46	-0,34
AB10006	LTB 09026	1,36	1,85	1,61	-0,49
AB08140	CNA-B9801-B-5-B-4-B	1,57	2,15	1,85	-0,58
Média		1,85	1,61	1,70	0,22

Referências

- BALDANI, V. L. D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica seropédica.** 1996. 238 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- BALDANI, V. L. D. ; BALDANI, J. I. ; DÖBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 30, p. 485-491, 2000.
- CANUTO, E. L.; OLIVEIRA, A. L. M.; REIS, V. M.; et al. Evaluation of the biological nitrogen fixation contribution in sugarcane plants originated from seeds and inoculated with nitrogen-fixing endophytes. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, p. 62-64, 2003.
- KUSS, A. V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado.** 2006. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- MALARVIZHI, P.; LADHA, J. K. Influence of available nitrogen and rice genotype on associative nitrogen fixation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63 p. 93-99, 1999.
- MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SANTOS, I. M. B.; ALMEIDA, B. M **Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação. Parte I: bactérias endofíticas diazotróficas isoladas das cultivares BRS 7 Taim e BRS Pelota.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 303).
- MATTOS, M. L. T.; GOMES, A.; SANTOS, I. M. B. Isolamento e caracterização de bactérias endofíticas do colmo da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E

NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28 . ; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7., 2008, Londrina.

Desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental: anais. Londrina: Embrapa Soja: SBCS: IAPAR: UEL, 2008. CD-ROM. FERTBIO.

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R.; SANTOS, I. M. B. Ocorrência de bactérias endofíticas diazotróficas na folha, colmo e raiz da cultivar BRS Taim de arroz irrigado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. **A busca das raízes:** anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD-ROM. FERTBIO.

MIRZA, M. S.; RASUL, G.; MEHNAZ, S.; et al. Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. In: LADHA, J.K., REDDY, P.M. (Ed.). **The quest for nitrogen fixation in rice.** Los Baños: International Rice Research Institute, 2000. p. 191–204.

MONTANEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v 45, p. 253-263, 2009.

REIS, V. M., BALDANI, J. I., BALDANI, V. L. D., DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical**

Reviews in Plant Sciences, Boca Raton, v. 19, p. 227–247, 2000.

REIS JÚNIOR, F. B. dos; DÖBEREINER, J. ; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; MACHADO, A. T. **Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N₂.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1998. 24 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 73).

ROGER, P. A.; LADHA, J. K. Biological N₂ fixation in wetland rice fiels: estimations and contribution to nitrogen balance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 141, p. 41-55, 1992.

SAS INSTITUTE. **User´s guide:** statistics. Cary, 1985, 956 p.

SHRESTHA, R. K. ; J. K. LADHA. Genotypic variation in promotion of rice nitrogen fixation as determined by ¹⁵N dilution. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 60, p. 1815-1821, 1996

SOCIEDADE SUL BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado:** recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Porto Alegre: SOSBAI, 2010.188 p.

UEDA, T.; SUGA, Y. ; YAHIRO N.; et al. Genetic diversity of N₂- fixing bactéria associated with rice roots by molecular evolutionary analysis of a nifD library. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, p. 235-240, 1995.

URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-¹⁵ and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society of American Journal**, Madison v. 56, p. 105–114, 1992.

Circular

Técnica, 136

*Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento*

**GOVERNO
FEDERAL**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392, Km 78, Caixa Postal 403
Pelotas, RS - CEP 96010-971

Fone: (0xx53)3275-8100

Fax: (0xx53) 3275-8221

E-mail: www.cpact.embrapa.br
sac@cpact.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2011) 30 cópias

**Comitê de
publicações**

Presidente: Ariano Martins de Magalhães
Júnior

Secretária- Executiva: Joseane Mary Lopes
Garcia

Membros: Márcia Vizzotto, Ana Paula Schneid
Afonso, Giovani Theisen, Luis Antônio Suíta de
Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane
Rodrigues Congro Bertoldi, Regina das Graças
Vasconcelos dos Santos, Isabel Helena Vernetti
Azambuja, Beatriz Marti Emygdio.

Expediente

Supervisor editorial: *Antônio Luiz Oliveira Heberlé*

Revisão de texto: *Bárbara Chevallier Cosenza*

Editoração eletrônica: *Juliane Nachtigall (estagiária)*