

Foto: Elizabeth Uchôas



## Estirpes de bactérias selecionadas para otimização da fixação biológica de nitrogênio em leguminosas florestais<sup>1</sup>

Keila Caroline Dalle Laste<sup>2</sup>  
Sérgio Miana de Faria<sup>3</sup>

Leguminosas florestais vêm sendo empregadas na recuperação de áreas degradadas por possuírem características desejáveis, como crescimento rápido, sistema radicular profuso, tolerância à acidez do solo e a estresse por temperatura elevada (FRANCO e SOUTO, 1986). Sob o ponto de vista ecológico, destacam-se por sua ampla ocorrência e adaptação aos diversos biomas brasileiros, tanto em diversidade como em número de indivíduos.

O sucesso no uso de leguminosas em programas de reflorestamento é devido, em grande parte, à estratégia de nutrição dessas plantas. A maioria das leguminosas possui a capacidade de se associar com microrganismos capazes de incrementar o crescimento vegetal: as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos arbusculares. Com a formação dessa simbiose tripartite, surgem propriedades emergentes ou sistemas funcionais que antes da associação eram inexistentes (SOUZA e SILVA, 1996), tornando as plantas mais resistentes e aptas a

colonizar o ambiente (FRANCO e BALIERO, 2000). Ao se estabelecerem em uma região, as leguminosas enriquecem o solo com matéria orgânica e nutrientes, por meio de deposição de serrapilheira, condicionando o solo para a entrada de outras plantas e promovendo, assim, a recuperação ambiental (CHADA, CAMPELLO e FARIA, 2004).

Para otimizar a fixação biológica de nitrogênio, ensaios que selecionam estirpes de bactérias eficientes e competitivas para cada espécie vegetal são realizados há mais de 20 anos pela Embrapa Agrobiologia, para uso em programas de reflorestamento (FRANCO, CAMPELLO e DIAS, 1996). Dessa forma, é possível substituir, parcial ou totalmente o uso de nitrogênio mineral, diminuindo custos de reflorestamento.

As leguminosas capazes de nodular são identificadas e as bactérias presentes nos nódulos (Figura 1A) são isoladas (Figura 1B) e estocadas, formando uma coleção de culturas para serem posteriormente

<sup>1</sup> Parte deste projeto foi financiada pela Companhia Vale. Projeto nº 484910.

<sup>2</sup> Mestranda do programa de pós-graduação em Ciências Ambientais e Florestais da UFRRJ.

<sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Agrobiologia. Rod. BR 465, km 7, (Antiga Estrada Rio-São Paulo), Caixa Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica, RJ. E-mail: sdefaria@cnpab.embrapa.br.

Fotos: Elizabeth Uchôas e Sérgio M. Faria

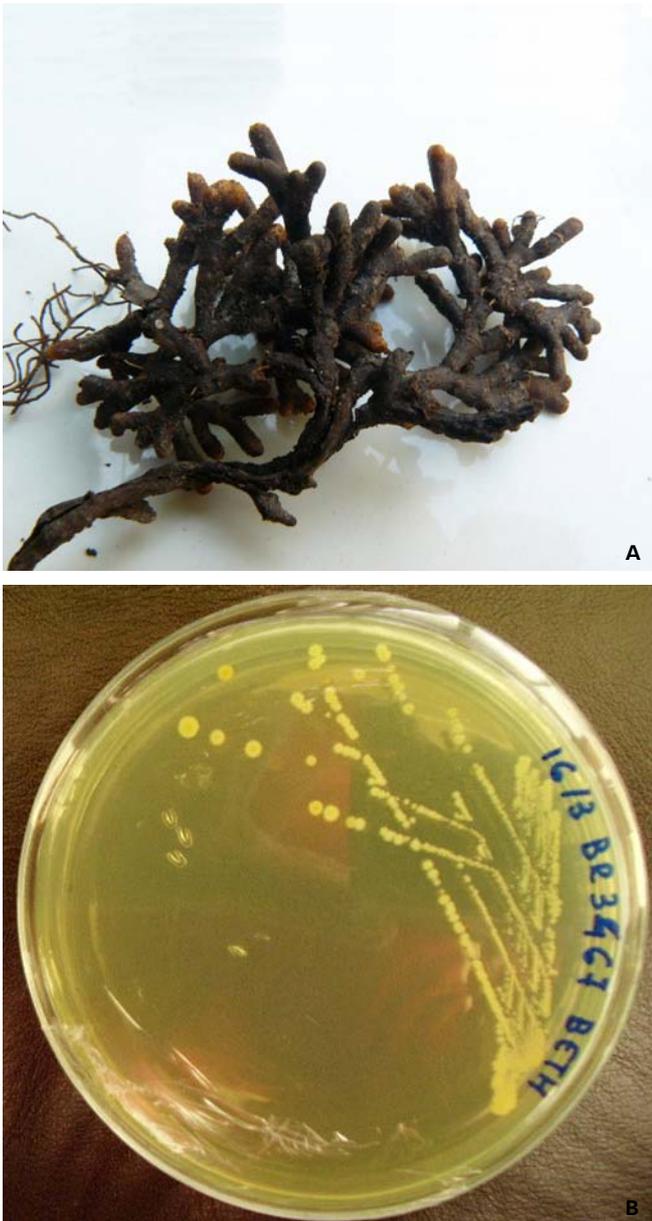


Fig. 1. (A) Nódulo radicular; (B) Bactérias isoladas do nódulo em meio 79 sólido.

utilizadas em programas de seleção de estirpes (FARIA e FRANCO, 2002).

O programa de seleção de estirpes é composto por quatro etapas: etapa 1 - em condições de laboratório; etapa 2 - em casa de vegetação, em ambiente esterilizado utilizando vasos de "Leonard" com substrato de areia e vermiculita (2:1v:v); etapa 3 - em vasos, com solo não estéril; etapa 4 - experimentos em condições de campo (FARIA, 2000).

Este comunicado técnico apresenta resultados de pesquisas de seleção de estirpes em condições estéreis

para *Chamaecrista nictitans* (L.) Moench, *Mimosa pellita* L. e *Mimosa flocculosa* Burkart (etapa 2) e em condições não estéreis para *Mimosa xanthocentra* Mart. e *Erythrina falcata* Benth (etapa 3). As estirpes testadas pertencem à coleção do Laboratório de Leguminosas da Embrapa Agrobiologia. Além das estirpes, foram usadas três diferentes fontes de nitrogênio mineral ( $\text{KNO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) e uma testemunha absoluta (livre de bactérias e nitrogênio mineral) para comparar o desenvolvimento das plantas. A eficiência e a eficácia foram calculadas conforme descrito em Laste, Gonçalves e Faria (2008), com base nos valores de massa de parte aérea seca de cada tratamento, da testemunha nitrogenada e da testemunha absoluta.

Para *Chamaecrista nictitans*, foram testadas 58 estirpes de rizóbio e, destas, 34 promoveram a nodulação. A testemunha nitrogenada que promoveu maior desenvolvimento foi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , com um total de 275 mg de N adicionado por vaso. As estirpes de maior acúmulo de parte aérea seca foram BR 4301 e BR 6610, com eficiência de 307% e 213%, respectivamente.

Para *Mimosa pellita*, foram testadas seis estirpes de bactérias, sendo que duas não induziram a formação de nódulos. A estirpe BR 3462 apresentou a maior eficiência, desenvolvendo-se 20 vezes mais do que o tratamento não inoculado (eficiência = 2012) e superando a testemunha mineral  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , que recebeu 200 mg de N por vaso. A segunda estirpe selecionada foi a BR 3469, que se desenvolveu oito vezes mais que o tratamento não inoculado.

Para *Mimosa flocculosa*, foram testadas seis estirpes, dentre as quais duas não induziram a formação de nódulos (BR 4103 e BR 4802). As estirpes selecionadas foram BR 3614 e BR 3469, proporcionando desenvolvimento 61 e 25 vezes maior, respectivamente, do que o tratamento não inoculado. A estirpe BR 3614 superou o tratamento com nitrogênio mineral  $\text{KNO}_3$ , que recebeu 200 mg de N (Fig. 2).

Para *Mimosa xanthocentra*, foram testadas seis estirpes de bactérias. Destas, três tiveram desempenho equivalente ao da testemunha nitrogenada  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , que recebeu 250 mg de N por planta. As estirpes selecionadas foram BR 3523 e BR 3469.

Para *Erythrina falcata*, foram testadas oito estirpes de rizóbio. O tratamento que apresentou maior massa da

Foto: Joel Quintino

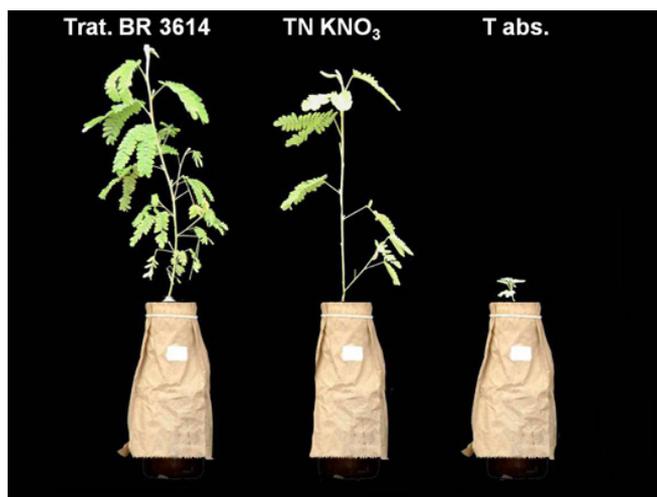


Fig. 2. Desenvolvimento de *Mimosa flocculosa* inoculada com a estirpe BR 3614, em comparação a testemunha nitrogenada e a testemunha absoluta.

parte aérea seca foi a testemunha nitrogenada, na qual foram aplicados 210 mg de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  por vaso. As estirpes selecionadas foram BR 5609 e BR 4812. A estirpe BR 5609, selecionada por possuir a maior eficiência em vaso de Leonard, comprovou sua eficiência em vaso de solo, promovendo a ocorrência de maior massa de parte aérea seca.

A Tabela 1 resume as principais informações sobre os experimentos. As estirpes com os mais elevados valores de eficiência e eficácia para cada leguminosa

são recomendadas para a produção de inoculantes, e devem ser inoculadas conjuntamente. Informações sobre as mesmas estarão disponíveis no site da Embrapa Agrobiologia ([www.cnpab.embrapa.br](http://www.cnpab.embrapa.br)).

As leguminosas citadas e suas respectivas estirpes selecionadas serão empregadas na recuperação ambiental de voçorocas, de cortes de estradas, de áreas de empréstimos e de áreas severamente impactadas, como as de mineração.

## Referências Bibliográficas

CHADA, S.; CAMPELLO, E. F. C.; FARIA, S. M. de. Sucessão Vegetal Em Uma Encosta Reflorestada com Leguminosas. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 28, p. 801-809, 2004.

FARIA, S. M. de. **Obtenção de estirpes de rizóbio eficientes na fixação de nitrogênio para espécies florestais (aproximação 2000)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. 10 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 116).

FARIA, S. M. de.; FRANCO, A. A. **Identificação de bactérias eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies leguminosas arbóreas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2002. 16.p (Embrapa Agrobiologia. Documento, 158).

**Tabela 1.** Duração do experimento e número de estirpes testadas em cada ensaio, estirpes selecionadas e suas respectivas eficiências e eficácias para cada leguminosa florestal.

Espécie	Duração do experimento (dias)	Nº de estirpes testadas	Estirpes selecionadas	Eficiência	Eficácia
<b>Condições esterilizadas</b>					
<i>Chamaecrista nictitans</i>	59	58	BR 4301	307	188
			BR 6610	213	131
<i>Mimosa pellita</i>	81	6	BR 3462	2012	187
			BR 3469	800	75
<i>Mimosa flocculosa</i>	112	6	BR 3614	6166	212
			BR 3469	2531	87
<b>Condições não esterilizadas</b>					
<i>Mimosa xanthocentra</i>	58	6	BR 3523	112	98
			BR 3469	109	95
<i>Erythrina falcata</i>	127	8	BR 5609	138	64
			BR 4812	134	62

FRANCO, A. A.; SOUTO, S. M. ***Leucaena leucocephala* - uma leguminosa com múltiplas utilidades para os trópicos**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1986. 7p. (Embrapa-CNPAB. Comunicado técnico, 2).

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. de. **Uso de leguminosas associadas a microrganismos na revegetação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombetas-PA**. Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, 1996. 71p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 27).

FRANCO, A. A.; BALIERO, F. de C. The Role of biological nitrogen fixation in land reclamation, agroecology and sustainability of tropical agriculture. In: ROCHA-MIRANDA, C. E. (Ed.). **Transition to global sustainability: the contribution of brazilian science**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2000. p. 209-234.

LASTE, K. C. D.; GONÇALVES, F. S.; FARIA, S. M. de **Estirpes de rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas mineradas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 115).

SOUZA, F. A. de; SILVA, E. M. R. Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O. In: SIQUEIRA, J. O. **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade de Lavras/DCS e DCF, 1996. 290 p; p. 252-280.

#### Comunicado Técnico, 120

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agrobiologia**  
**Endereço:** BR465, km7 - Caixa Postal 74505  
 CEP 23851-970 - Seropédica/RJ, Brasil  
**Fone:** (21) 3441-1500  
**Fax:** (21) 2682-1230  
**Home page:** [www.cnpab.embrapa.br](http://www.cnpab.embrapa.br)  
**E-mail:** [sac@cnpab.embrapa.br](mailto:sac@cnpab.embrapa.br)  
**1ª edição**

1ª impressão (2009): 50 exemplares

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



#### Comitê de Publicações

**Presidente:** Norma Gouvêa Rumjanek  
**Secretária-Executiva:** Carmelita do Espírito Santo  
**Membros:** Bruno José Rodrigues Alves, Ednaldo da Silva Araújo, Guilherme Montandon Chaer, José Ivo Baldani, Luis Henrique de Barros Soares.

#### Expediente

**Revisão de texto:** Stefan Schwab e Luis Henrique de Barros Soares  
**Normalização bibliográfica:** Carmelita do Espírito Santo  
**Tratamento das ilustrações:** Maria Christine Saraiva Barbosa  
**Editoração eletrônica:** Marta Maria Gonçalves Bahia