



Seleção de estirpes de rizóbio para sansão preto (*Mimosa sp.*), dormideira comprida (*Mimosa quadrivalvis*) e dormideira gigante (*Mimosa sp.*). Leguminosas florestais com potencial uso na recuperação de áreas degradadas¹

Elisabeth da Silva Uchôas²
Sérgio Miana de Faria³

1. Introdução

O uso de plantas associadas à microorganismos na recuperação de áreas enriquece a fertilidade do solo e favorece a sucessão vegetal. O uso de espécies da família Leguminosae é uma boa alternativa, com ampla representatividade no território brasileiro devido sua grande diversidade de espécies. Algumas espécies possuem a capacidade de se associar com outros microorganismos, com uma característica especial em relação à outras que é a capacidade de nodular e fixar nitrogênio (FBN). Essa simbiose ocorre quando as bactérias fixadoras de nitrogênio, denominadas vulgarmente de rizóbio, se instalam nas raízes das plantas fornecendo NH_4^+ e em troca recebem os fotoassimilados produzidos pela planta, podendo tornar a planta parcial ou totalmente suficiente na obtenção do nitrogênio (FARIA & CAMPELLO, 1999). Sobretudo, as plantas inoculadas suportam mais os estresses ambientais, refletindo num melhor estabelecimento e desenvolvimento no campo.

A associação espécies leguminosas florestais, rizóbio e fungos micorrízicos (FMAs) têm sido utilizada com grande sucesso na recuperação de áreas degradadas, principalmente em áreas onde houve perda de matéria orgânica com remoção do horizonte superficial do solo. O aumento da atividade biológica tem como principal fator, a melhoria da estruturação do solo e conseqüente diminuição nas perdas de matéria orgânica,

principal fonte dos nutrientes nos solos tropicais (FRANCO & DÖBEREINER, 1994).

A maioria das espécies de leguminosas ainda não foi estudada sobre sua capacidade em nodular e fixar eficientemente o nitrogênio. De acordo com FARIA & CAMPELLO (1999), na subfamília Mimosoidae somente 19% foram investigadas quanto a capacidade de nodulação até o momento e destas 90% nodularam. A pesquisa realizada com bactérias e plantas inoculadas visa otimizar o processo de FBN através da seleção de estirpes de rizóbio potenciais, sendo uma etapa muito importante na produção de inoculantes. As espécies estudadas possuem como características porte herbáceo, boa produção de material orgânico e rápido crescimento. Podem ser exploradas na recuperação de taludes, onde a declividade e a instabilidade do terreno pode ser um fator limitante ao desenvolvimento de espécies de porte maior.

O processo de seleção de estirpes para determinada espécie vegetal envolve geralmente quatro etapas. Sendo a base de recomendação I, a seleção em condições estéreis em laboratório utilizando-se tubos de ensaio. Para a base de recomendação II as estirpes selecionadas são testadas vasos de Leonard em casa de vegetação, onde se confirma se o isolado é realmente rizóbio, além de fornecer evidência da potencialidade das estirpes de rizóbio quanto a FBN. A base de recomendação III é feita em

¹ Atividade desenvolvida dentro do projeto CNPq n.º 0305015800. Apoio Cia Vale do Rio Doce – Projeto 484910.

² Aluna de graduação em Engenharia florestal, UFRuralRJ. E-mail: uchoass@yahoo.com.br

³ Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 07, C. Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica/RJ. E-mail: sdfaria@cnpab.embrapa.br

vasos com solo não estéril, avaliando sua competitividade das estirpes com as estirpes nativas do solo. As estirpes que apresentaram melhores resultados são identificadas e posteriormente testadas em condições de campo (FARIA, 2000). A seleção é uma etapa necessária, tendo em vista que na simbiose entre a bactéria e planta pode existir uma especificidade hospedeira. Da mesma forma, a bactéria pode formar nódulos e não ser eficiente na FBN, resultando em prejuízo energético para a planta em manter a simbiose.

O objetivo desse trabalho foi selecionar estirpes de rizóbio eficientes na FBN em condições estéreis, para três espécies de potencial uso na recuperação de áreas degradadas.

2. Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação, onde foram confeccionados 99 vasos de *Leonard*, contendo substrato estéril de areia e vermiculita na proporção 1:1 (v/v). O delineamento estatístico foi de blocos ao acaso com três repetições. Foram testadas 29 estirpes de rizóbio isolados de gêneros próximos de *Mimosa*, disponível na coleção do laboratório de Leguminosas da Embrapa Agrobiologia, visando a recomendação de estirpes de rizóbio para as espécies dormideira comprida (*Mimosa sp.*), sansão preto (*Mimosa sp.*) e *Mimosa quadrivalvis*. Os experimentos permaneceram em média 95 dias em casa de vegetação. Foram utilizados três controles nitrogenados: NH_4NO_3 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e KNO_3 e uma testemunha absoluta. As sementes foram selecionadas para obtenção de um lote homogêneo e submetidas a escarificação química em ácido sulfúrico por 10 min e desinfestadas com H_2O_2 30% por 5 minutos (GUZMAN & DÖBEREINER, 1968) e colocadas em placas de petri com algodão em papel filtro umedecido, permanecendo incubadas em câmara de germinação até que as radículas atingissem 1 cm. Foram plantadas quatro plântulas/vaso. Os vasos continham substrato autoclavado, contendo areia e vermiculita e solução nutritiva com ausência de N (VINCENT, 1970). A inoculação foi realizada adicionando 1ml de inoculante sobre cada semente. Foi realizado um desbaste aos 15 dias após o plantio deixando-se uma planta por vaso. Foi aplicado um total de 60 mg de nitrogênio

mineral no tratamento TN. A colheita foi realizada aos 97 dias após o plantio. Os parâmetros avaliados foram: massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de nódulos (MSN). A partir desses dados, calculou-se a eficiência (média dos tratamentos/média da testemunha absoluta) x 100 e eficácia (média tratamento/média da testemunha com N) x 100 das estirpes.

3. Resultados e Discussão

Sansão preto (*Mimosa sp.*)

Foram analisadas as 18 estirpes que formaram nódulos das 29 estirpes testadas (Figuras 1 e 2). Conforme observado na tabela 1, a maioria das estirpes analisadas apresentaram seus valores superiores a testemunha absoluta, com eficiência na produção de MSPA quase 70 vezes superior. As estirpes apresentaram maior eficácia, com valores superiores que os controles nitrogenados, indicando que a dose aplicada foi inferior à resposta máxima que a espécie poderia expressar. A fonte nitrogenada que mais favoreceu o desenvolvimento e produção de MSPA da planta testemunha foi a KNO_3 . As estirpes BR 3505 e BR 3506 foram as que apresentaram a maior produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca dos nódulos (MSN) resultando em maior eficiência e eficácia (Tabela 1).

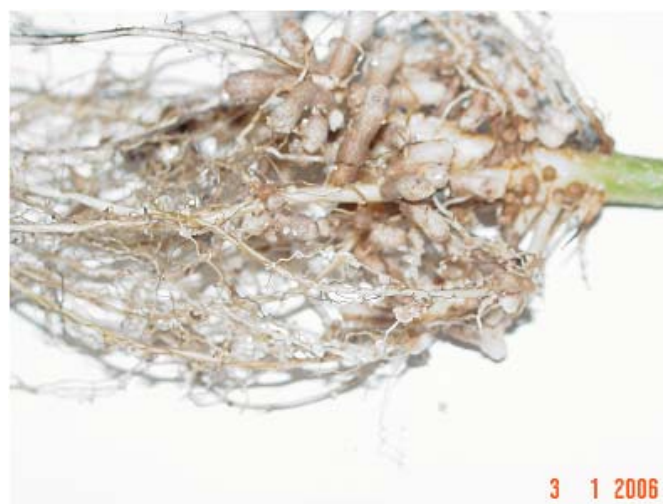


Figura 1: Formação de nódulos em sistema radicular de sansão preto (*Mimosa sp.*) aos 95 dias após o plantio (dap).

Tabela 1. Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia de várias estirpes de rizóbio inoculados em Sansão preto aos 95 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA (g/planta)	MSN (mg/planta)	Eficiência/Eficácia (%)	
T. absoluta	0,1167 d	0,0000 d	100	7
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,8733 d	0,0000 d	749	100
NH ₄ NO ₃	1,0867 d	0,0000 d	931	100
KNO ₃	1,6066 d	0,0000 d	1377	100
SMF 1429-3	0,1600 d	0,0193 d	137	10
SMF 696-2	0,3167 d	0,1150 c	271	20
SMF 567-1	0,7800 d	0,0820 c	669	48
SMF 473-1	1,5500 d	0,1600 c	1329	96
SMF B71-7	1,9800 c	0,2190 b	1697	123
SMF B71-1	2,0300 c	0,2340 b	1740	126
SMF B71-15	2,2967 c	0,3223 b	1969	143
SMF B71-6	2,2967 c	0,2987 b	1969	143
SMF B71-8	2,6167 c	0,2817 b	2243	163
SMF B71-10	2,8333 c	0,2867 b	2429	176
SMF B71-14	2,8733 c	0,2983 b	2463	179
SMF B71-4	3,0367 c	0,2090 b	2603	189
SMF B71-5	3,1133 c	0,3793 a	2669	194
SMF B71-13	3,2133 c	0,3367 b	2754	200
SMF B71-2	3,2333 c	0,2937 b	2771	201
SMF B71-9	3,5567 c	0,3450 b	3049	221
BR 3505	6,2433 b	0,4960 a	5351	389
BR 3506	8,1573 a	0,4833 a	6992	508
CV %	29,71	31,49		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$) Eficiência = $(MSPA\ Trat / MSPA\ TAbsoluta * 100)$; Eficácia = $(MSPA\ Trat / MSPA\ TN * 100)$



Tratamento Testemunha nitrogenada Testemunha absoluta

Figura 2: Efeito da inoculação em sansão preto (*Mimosa* sp) aos 95 dap em comparação à testemunha nitrogenada e testemunha total.

Dormideira gigante (*Mimosa quadrivalvis*)

Dos 29 isolados testados, foram analisados estatisticamente as 19 estirpes que apresentaram produção de nódulos (Figura 3). Na tabela 2 são

apresentados os dados de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de nódulos (MSN) de *M. quadrivalvis*. Também verificou-se a eficiência e eficácia de cada tratamento. As estirpes BR 3505 e BR 3506 apresentaram valores superiores quando comparadas à testemunha absoluta. O incremento de massa seca na parte aérea proporcionado pelas estirpes BR 3505 e BR 3506 mostra que a inoculação nas condições testadas pode substituir a aplicação de N (Figura 4). Das três fontes de nitrogênio testadas, o (NH₄)₂SO₄ apresentou melhor resultado, porém a estirpe BR 3506 apresentou resultado superior, o que indica que esta dose foi aquém da necessária para que as plantas pudessem expressar seu máximo potencial.



Figura 3: Nódulo em ponto de infecção em raiz de dormideira gigante (*Mimosa quadrivalvis*) aos 97 dap.



Testemunha nitrogenada Tratamento Testemunha absoluta

Figura 4: Efeito no crescimento da testemunha inoculada com rizóbio em relação à testemunha absoluta e à testemunha nitrogenada para a espécie dormideira gigante (*Mimosa quadrivalvis*).

Tabela 2. Acúmulo de massa seca na parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia das estirpes de rizóbio inoculados em *M. quadrivalvis*. (dormideira gigante) aos 97 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA	MSN	Eficiência / Eficácia (%)	
T. absoluta	0,104 c	0 c	100	2
(NH ₄) ₂ SO ₄	4,262 a	0 b	4098	100
NH ₄ NO ₃	2,405 b	0 c	2312	56
KNO ₃	3,165 b	0 c	3044	74
SMF B71-9	0,063 c	0,017 c	61	1
SMF B71-6	0,070 c	0,095 c	68	2
SMF 696-2	0,102 c	0,028 c	98	2
SMF B71-1	0,104 c	0,026 c	100	2
SMF B71-2	0,109 c	0,028 c	104	2
SMF B71-13	0,149 c	0,056 c	143	3
SMF B71-7	0,180 c	0,034 c	173	4
SMF 428-2	0,191 c	0,021 c	184	4
SMF B71-4	0,247 c	0,061 c	238	6
SMF B71-14	0,264 c	0,065 c	254	6
SMF B71-10	0,273 c	0,145 c	262	6
SMF B71-11	0,405 c	0,069 c	390	9
SMF B71-15	0,635 c	0,078 c	610	15
SMF B71-12	0,690 c	0,048 c	663	16
SMF B71-5	0,977 c	0,036 c	939	23
SMF B71-8	1,137 c	0,106 c	1094	27
SMF 473-1	1,573 c	0,382 b	1513	37
BR 3505	3,750 a	0,382 b	3606	88
BR 3506	4,424 a	1,081 a	4254	104
CV%	64,99	93,53		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$); Eficiência = $(MSPA\ Trat / MSPA\ Tabsoluta * 100)$; Eficácia = $(MSPA\ Trat / MSPA\ Tnitrogenado * 100)$

Dormideira comprida (*Mimosa sp.*)

Dos 29 isolados testados, foram analisadas estatisticamente as 14 estirpes que apresentaram nódulos. Analisando os parâmetros de MSPA e MSN, observa-se que apesar de existir uma tendência com valores maiores de MSPA e MSN das estirpes em relação à testemunha absoluta, essas diferenças não foram significativas quando analisadas estatisticamente (Figura 5). Isso pode ser devido ao alto coeficiente de variação da análise no caso de MSPA. É um fato comumente encontrado para espécies não melhoradas geneticamente e que apresentam alta diversidade biológica. As estirpes BR 3508 e BR 3509 apresentaram maior eficiência e eficácia (Tabela 3), podendo ser indicadas para a inoculação no nível de recomendação II (vasos de Leonard em condições esterilizadas). Das três fontes de nitrogênio testadas a (NH₄)₂SO₄ obteve uma

eficácia maior, favorecendo o melhor desenvolvimento da planta.

Tabela 3. Acúmulo de massa seca de parte aérea e de nódulos, eficiência e eficácia de várias estirpes de rizóbio inoculados em Dormideira comprida aos 99 dap (média de 3 repetições).

Estirpes	MSPA (g/planta)	MSN (mg/planta)	Eficiência/Eficácia (%)	
T. Absoluta	0,031 a	0,000 a	100	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,487 a	0,000 a	11158	100
NH ₄ NO ₃	3,020 a	0,000 a	9664	100
KNO ₃	1,360 a	0,000 a	4352	100
SMF B71-6	0,888 a	0,170 a	2842	25
SMF B71-4	0,915 a	0,180 a	2929	26
SMF B71-5	0,976 a	0,201 a	3123	28
SMF B71-1	1,113 a	0,191 a	3561	32
SMF B71-13	1,176 a	0,253 a	3764	34
SMF B71-15	1,295 a	0,215 a	4144	37
SMF B71-7	1,397 a	0,258 a	4470	40
SMF B71-10	1,495 a	0,239 a	4785	43
SMF B71-8	1,802 a	0,284 a	5767	52
SMF B71-14	2,053 a	0,300 a	6570	59
SMF 696-2	2,148 a	0,354 a	6875	62
SMF B71-9	2,534 a	0,284 a	8110	73
BR 3508	3,148 a	0,390 a	10076	90
BR 3509	4,462 a	0,562 a	14278	128
CV%	70,87	10,48		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$); Eficiência = $(MSPA\ Trat / MSPA\ Tabsoluta * 100)$; Eficácia = $(MSPA\ Trat / MSPA\ Tnitrogenado * 100)$.

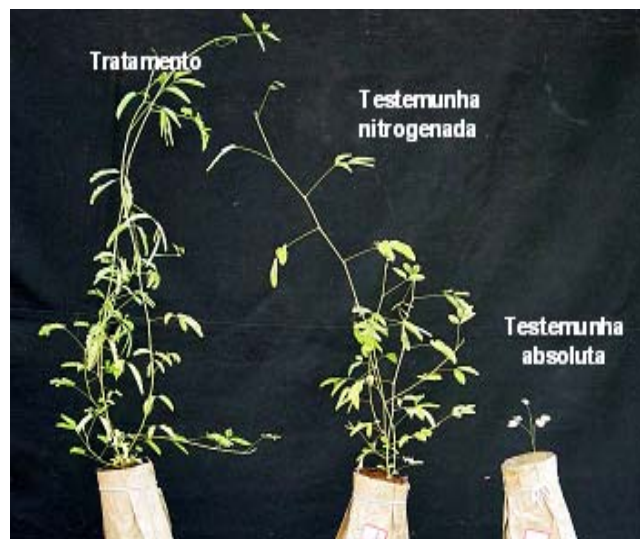


Figura 5: Produção de massa de parte aérea do tratamento inoculado com rizóbio, a testemunha nitrogenada e testemunha absoluta, para a espécie dormideira comprida (*Mimosa sp.*).

4. Conclusão

Na tabela 4 estão apresentadas as estirpes que apresentaram as melhores respostas para cada espécie estudada. As estirpes BR 3505 e BR 3506

foram eficientes na fixação de nitrogênio para sansão preto (*Mimosa sp.*) e também apresentaram os maiores valores de eficácia para a espécie dormideira gigante (*Mimosa quadrivalvis*). As estirpes BR 3508 e BR 3509 apresentaram os melhores valores para a espécie

Dormideira gigante (*Mimosa sp.*). Estas estirpes serão agora testadas em vasos com solo, para poderem serem recomendadas na base de recomendação III para essas espécies, no entanto, podem ser indicadas provisoriamente para a produção de inoculantes pela base de recomendação II.

Tabela 4. Relação das melhores estirpes para as três espécies estudadas.

Espécie	Base de recomendação	Nº estirpes testadas	Estirpes recomendadas	Eficiência (%)	Eficácia (%)
<i>Mimosa quadrivalvis</i> var. leptocarpa	II	29	BR 3505 (SMF 1441-1)	3606	88
			BR 3506 (SMF 659-1)	4254	103
<i>Mimosa sp</i> ("sansão preto")	II	29	BR 3505 (SMF 1441-1)	5351	389
			BR 3506 (SMF 659-1)	6992	508
<i>Mimosa sp</i> ("dormideira comprida")	II	29	BR 3508 (SMF 473-1)	10076	90
			BR 3509 (SMF 567-1)	14278	128

Eficiência = $(MSPA\ Trat / MSPA\ Tabela\ Absoluta * 100)$; Eficácia = $(MSPA\ Trat / MSPA\ TN * 100)$

Agradecimentos

Aos técnicos do laboratório de leguminosas: Adriana Santos do Nascimento, Telmo Félix da Silva e Carlos Fernando da Cunha, aos funcionários da casa de vegetação e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências Bibliográficas

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; CAMPELLO, E. F. C. **Algumas espécies de leguminosas fixadoras de nitrogênio recomendadas para a revegetação de áreas degradadas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 8 p. (Embrapa Agrobiologia. Recomendação Técnica, 7).

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. *Biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 20, n. 1, p. 68-74, 1994.

GUZMAN, I.; DÖBEREINER, J. Effectiveness and efficiency in the symbiosis of four cross-inoculated tropical legumes. In: REUNION LATINOAMERICANA SOBRE INOCULANTES PARA LEGUMINOSAS, 4., 1968, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 1968. p. 81-91.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London: Oxford: IBP, 1970. 164 p. (International Biological Programme Handbook, 15).

Comunicado Técnico, 89

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia
BR465 – km 7
Caixa Postal 74505
23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil
Telefone: (0xx21) 2682-1500
Fax: (0xx21) 2682-1230
Home page: www.cnpab.embrapa.br
e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

1ª impressão (2006): 50 exemplares



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Comitê de publicações

Eduardo F. C. Campello (Presidente)
José Guilherme Marinho Guerra
Maria Cristina Prata Neves
Verônica Massena Reis
Robert Michael Boddey
Maria Elizabeth Fernandes Correia
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente

Revisor e/ou ad hoc: Vera Lúcia Divan Baldani e Verônica Massena Reis
Normalização bibliográfica: Dorimar dos Santos Felix.
Edição eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia.