

## 053 - Eficiência simbiótica de isolados de rizóbios nativos de Mato Grosso do Sul, inoculados em guandu

*Symbiotic efficiency of rhizobia isolated from Mato Grosso do Sul State inoculated in pigeon pea*

MARTINS, Nayara Moreno. UFGD, nay\_mmoreno@hotmail.com; SILVA, Amanda Tomaz. UNIGRAN, amandatomazdasilva@hotmail.com; MERCANTE, Fábio Martins. Embrapa Agropecuária Oeste, mercante@cpao.embrapa.br.

### Resumo

A adubação verde é uma prática que contribui para o fornecimento da matéria orgânica do solo, resultando em melhoria das suas propriedades físicas, químicas e biológicas. O guandu (*Cajanus cajan* L.) encontra-se entre as espécies mais utilizadas como adubo verde, destacando-se sua capacidade de se associar simbioticamente com bactérias fixadoras de nitrogênio. O objetivo do trabalho foi avaliar a nodulação e a eficiência simbiótica de isolados de rizóbios nativos de Mato Grosso do Sul, inoculados em guandu. Foram avaliados 27 isolados, além das estirpes recomendadas comercialmente para inoculação na cultura de guandu, SEMIA 6156 e SEMIA 6157. Foram incluídos tratamentos como controles, com e sem adubação nitrogenada. O ensaio foi conduzido em vasos de "Leonard", com areia e vermiculita (1:1,v:v) esterilizada. As plantas foram supridas com solução nutritiva isenta de N. Diversos isolados de rizóbios propiciaram uma nodulação (número e massa de nódulos secos) e produção de matéria seca da parte aérea superiores às estirpes utilizadas em inoculantes comerciais no Brasil. Entre os rizóbios avaliados, os isolados CPAO 3.1GU, CPAO 4.4GU e CPAO 5.1GU se destacaram dos demais, demonstrando maior potencial para aumentos na fixação biológica de nitrogênio em guandu.

**Palavras-chave:** adubação verde, fixação biológica de nitrogênio, simbiose.

### Abstract

Green manure is a practical that contributes to the supply of soil organic matter, resulting in improving their physical, chemical and biological properties. Pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) is among the most used species as green manure, highlighting its ability to associate symbiotically with nitrogen-fixing bacteria. The objective of this study was to evaluate nodulation and symbiotic effectiveness of rhizobia native from Mato Grosso do Sul State, inoculated in pigeon pea. Twenty seven isolates were evaluated in addition to the recommended strains for inoculation in the culture of pigeon pea, SEMIA 6156 and SEMIA 6157. We included two treatments with and without nitrogen fertilization. The trial was conducted in pots "Leonard", containing a mixture of sand and vermiculite (1:1, v:v) sterilized. The plants were supplied with nutrient solution free of N. Several rhizobia native from soil of Mato Grosso do Sul state led a nodulation (nodule number and dry weight) and shoots dry weight production greater than the strains used in commercial inoculants in Brazil. Among the rhizobia evaluated the isolates CPAO 3.1GU, CPAO 4.4GU CPAO 5.1GU and stood out from the others, showing a greater potential for increases in nitrogen fixation in pigeon pea.

**keywords:** green manure, biological nitrogen fixation, symbiosis.

## Introdução

A adubação verde é uma prática conservacionista pela qual certas espécies de plantas são cultivadas e, a seguir, incorporadas ou mantidas na superfície do solo, com a finalidade de assegurar ou aumentar a capacidade produtiva do solo (CALEGARI et al., 1993). Tem sido mencionado que a utilização de adubos verdes e plantas de cobertura, em geral, apresentam-se como uma forma viável para amenizar os impactos da agricultura baseada no preparo convencional, com uso intensivo de aração e gradagem, além de promover a ciclagem de nutrientes (ALCÂNTARA et al., 2000; DUDA et al., 2003).

Diversas leguminosas herbáceas constituem-se em algumas das plantas mais utilizadas como adubos verdes, devido à sua capacidade de fixarem nitrogênio atmosférico em associação com bactérias diazotróficas, incluindo os gêneros *Rhizobium* sp. e *Bradyrhizobium* sp. (SMYTH et al., 1991). Dentre as espécies utilizadas para adubação verde, o guandu (*Cajanus cajan* L.) tem se destacado devido a algumas características peculiares, como a grande produção de fitomassa vegetal e por associar-se simbioticamente com bactérias fixadoras de nitrogênio (RAO et al., 2002).

Embora tenham sido selecionadas estirpes de rizóbios eficientes no processo de fixação biológica de nitrogênio, que são recomendadas para a produção de inoculantes comerciais no Brasil, muitas vezes, ocorre falta de resposta à inoculação, devido à baixa adaptação das estirpes a determinadas condições edafoclimáticas ou pela incapacidade de estabelecer uma nodulação efetiva na presença de rizóbios nativos; portanto, a seleção de estirpes de rizóbios mais eficientes e competitivas são de importância fundamental para a obtenção de inoculantes mais eficazes para o guandu (FERNANDES et al., 2003; SIKORA et al., 1997).

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a nodulação e a eficiência da fixação biológica de nitrogênio por rizóbios nativos de solos de Mato Grosso do Sul, quando inoculados em guandu, visando à maximização do potencial simbiótico nesta cultura.

## Metodologia

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se vasos de "Leonard" (VINCENT, 1970) esterilizados, com substrato contendo uma mistura de areia e vermiculita (1:1, v:v). Foram avaliados 27 isolados de rizóbio, provenientes de solos de Mato Grosso do Sul, pertencentes à Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Agropecuária Oeste. Para comparação, utilizaram-se dois tratamentos correspondentes à inoculação com as estirpes SEMIA 6156 (= BR 2003) e SEMIA 6157 (= BR 2801), que são recomendadas comercialmente para a inoculação em guandu (*Cajanus cajan* L.), no Brasil; além disso, dois tratamentos foram utilizados como controle, sem inoculação: (i) adubados com nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), com aplicação de 40 mg de N por planta, semanalmente; e (ii) sem adubação nitrogenada (testemunha absoluta).

As culturas puras de rizóbio foram desenvolvidas em meio de cultura líquido, contendo extrato de levedura e manitol - meio YM (VINCENT, 1970), sob temperatura de 28°C, em local isento de luminosidade, com agitação.

As sementes de guandu foram esterilizadas superficialmente, sendo semeadas quatro unidades em cada vaso. Cada semente foi inoculada com 1,0 mL de suspensão das culturas



de bactérias, contendo cerca de  $10^8$  células  $\text{mL}^{-1}$ . As sementes inoculadas foram cobertas com uma fina camada de areia seca esterilizada, para evitar contaminação externa.

Aos 15 dias após o plantio, procedeu-se ao desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Durante o período de crescimento, as plantas foram supridas com solução nutritiva sem nitrogênio (NORRIS; T`MANNETJE, 1964, modificada), sempre que necessário. As plantas foram coletadas aos 45 dias após o plantio, tendo as raízes lavadas em água corrente e os nódulos destacados para contagem e, posteriormente, colocados para secagem em estufa, a  $60^\circ\text{C}$ .

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) na nodulação e na produção de matéria seca da parte aérea das plantas de guandu, pela inoculação com os diferentes rizóbios (Tabela 1). Quando comparados com duas estirpes recomendadas atualmente para inoculação em guandu, verificou-se que onze isolados (CPAO 2.4GU; CPAO 3.1GU; CPAO 3.5GU; CPAO 4.3GU; CPAO 4.4GU; CPAO 5.1GU; CPAO 7.3GU; CPAO 7.4GU; CPAO 7.5GU; CPAO 8.1GU e CPAO 9.4GU) proporcionaram maior número de nódulos do que a inoculação com a estirpe SEMIA 6157 e mostraram-se semelhantes à inoculação com SEMIA 6156.

A produção de matéria seca de nódulos do guandu mais elevada foi verificada pela inoculação dos isolados CPAO 3.1GU e CPAO 5.1GU, sendo superiores à inoculação com as estirpes SEMIA 6156 e SEMIA 6157. Em média, estes dois isolados de rizóbio nativos de solos de Mato Grosso do Sul foram cerca de 60% superiores às estirpes comerciais. Dos 27 isolados de rizóbio (CPAO) avaliados, apenas três propiciaram uma produção de massa seca de nódulos similar ou inferior às estirpes SEMIA 6156 e SEMIA 6157; os demais isolados mostraram-se superiores a estas estirpes comerciais (Tabela 1).

Quanto à produção de matéria seca da parte aérea das plantas, 12 isolados de rizóbios avaliados proporcionaram valores mais elevados ( $p < 0,05$ ) do que a inoculação com as estirpes comerciais. Os isolados CPAO 5.2 e CPAO 6.5 proporcionaram uma produção de matéria seca da parte aérea do guandu superior aos demais rizóbios, inclusive, em relação ao controle que recebeu adubação com 40 mg de N por planta, semanalmente. Em estudos conduzidos com isolados de rizóbios nativos dos tabuleiros costeiros de Sergipe, Fernandes et al. (2003) também verificaram diferenças entre os rizóbios quanto à capacidade de promover o crescimento vegetativo, acúmulo do teor de N foliar e nodulação das raízes de guandu. Estes autores identificaram isolados de rizóbios igualmente eficientes às estirpes recomendadas comercialmente para guandu e nenhuma superior, em condições similares às utilizadas no presente estudo.

Contudo, deve ser salientado que, além da eficiência simbiótica, os rizóbios selecionados devem possuir habilidade competitiva em relação aos rizóbios nativos dos solos, que serão utilizados nos inoculantes comerciais, conforme destacado por Hartmann et al. (1998) e Lima (2009).

## Conclusão

O processo de seleção de rizóbios com isolados nativos de solos de Mato Grosso do Sul pode contribuir para produção de inoculantes mais eficientes para a cultura do guandu. Contudo, estudos relacionados à habilidade competitiva dos rizóbios em infectar e nodular raízes de guandu são fundamentais.

## Referências

- ALCÂNTARA, F. A. et al. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo Vermelho-escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p. 277-288, 2000.
- CALEGARI, A. et al. **Adubação verde no sul do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 346p.
- DUDA, G. P. et al. Perennial herbaceous legumes as live soil mulches and their effects on C, N and P of the microbial biomass. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 139-147, 2003.
- FERNANDES, M. F. et al. Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 7, p. 835-842, 2003.
- HARTMANN, A. et al. Genotypic diversity of *Sinorhizobium* (formerly *Rhizobium*) *meliloti* strains isolated directly from a soil and from nodules of alfalfa (*Medicago sativa*) grown in the same soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Haren, v. 25, n. 2, p. 107–116, 1998.
- LIMA, A. A. **Caracterização e seleção de rizóbios de mucuna** 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.
- NORRIS, D. O.; T'MANNETJE, L. The symbiotic specialization of African *Trifolium* spp. in relation to their taxonomy and their agronomic use. **East African Agricultural and Forestry Journal**, Nairobi, v. 29, n. 2, p. 214-235, 1964.
- RAO, M. R. et al. Forage production and nutritive value of selected pigeon pea ecotypes in the Southern Great Plains. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1259-1263, 2002.
- SIKORA, S. et al. Genetic diversity of *Bradyrhizobium japonicum* field population revealed by RAPD fingerprinting. **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 82, n. 4, p. 527–531, 1997.
- SMYTH, T. J. et al. Nitrogen supplied to corn by legumes in a Central Amazon Oxisol. **Tropical Agriculture**, London, v. 68, n. 4, p. 366-372, 1991.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970. 164 p. (International Biological Programme handbook, 15).

**Tabela 1.** Nodulação (número e massa seca) e matéria seca da parte aérea de guandu (*Cajanus cajan* L.) inoculado com diferentes isolados de rizóbio.

Isolados de rizóbio	Número de nódulos	Massa de nódulos secos	Massa da parte aérea seca
	nº planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>
CPAO 1.3 GU	19 b	148 c	1,25 d
CPAO 1.4 GU	28 b	162 c	1,72 b
CPAO 2.4 GU	40 a	242 b	1,51 c
CPAO 3.1 GU	42 a	274 a	1,82 b
CPAO 3.2 GU	10 c	17 f	0,25 e
CPAO 3.4 GU	30 b	158 c	1,15 d
CPAO 3.5 GU	50 a	94 d	1,55 c
CPAO 4.1 GU	28 b	92 d	0,51 e
CPAO 4.3 GU	49 a	130 d	1,07 d
CPAO 4.4 GU	45 a	227 b	1,80 b
CPAO 5.1 GU	43 a	279 a	1,54 c
CPAO 5.2 GU	32 b	228 b	2,31 a
CPAO 5.3 GU	26 b	222 b	1,85 b
CPAO 6.2 GU	22 b	81 d	0,48 e
CPAO 6.5 GU	16 b	127 d	2,50 a
CPAO 7.1 GU	22 b	38 e	0,66 e
CPAO 7.3 GU	43 a	147 c	1,08 d
CPAO 7.4 GU	46 a	204 b	1,44 c
CPAO 7.5 GU	46 a	198 b	1,48 c
CPAO 8.1 GU	44 a	102 d	0,72 e
CPAO 8.2 GU	29 b	115 d	0,54 e
CPAO 8.4 GU	6 c	12 f	0,42 e
CPAO 9.1 GU	26 b	156 c	0,61 e
CPAO 9.4 GU	35 a	104 d	1,20 d
CPAO 10.1 GU	29 b	125 d	1,64 c
CPAO 10.3 GU	20 b	153 c	0,94 d
CPAO 10.4 GU	30 b	117 d	1,20 d
SEMIA 6156	54 a	63 e	0,76 e
SEMIA 6157	21 b	44 e	1,24 d
Test. absoluta	0 c	0 f	0,54 e
Test. nitrogenada	0 c	0 f	1,73 b
<b>C.V. (%)</b>	<b>32</b>	<b>24</b>	<b>18</b>

Valores médios de quatro repetições. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.