

XXVII RELAR

REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RIZOBIOLOGIA

Fortalecendo as Parcerias Sul-Sul

ANAIS

Mariangela Hungria
Douglas Fabiano Gomes
Arnaldo Colozzi Filho
Editores

XXVII
RELAR



Sociedade Brasileira de
Ciência do Solo
Núcleo Estadual Paraná



XXVII RELAR

REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RIZOBIOLOGIA

Fortalecendo as Parcerias Sul-Sul
6 a 9 de junho de 2016
Londrina - PR

ANAIS

Mariangela Hungria
Douglas Fabiano Gomes
Arnaldo Colozzi Filho
Editores



**Sociedade Brasileira de
Ciência do Solo**
Núcleo Estadual Paraná



NEPAR
Curitiba
2016

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO NÚCLEO ESTADUAL PARANÁ

Diretoria

Diretor: Arnaldo Colozzi Filho – IAPAR – Londrina

Vice-Diretor: Nelson Harger – Emater – Apucarana

Secretário: Luis César Cassol – UTFPR – Pato Branco

Tesoureiro: Tiago Santos Telles – IAPAR – Londrina

Editor Executivo

Álison Néri

Capa, revisão e diagramação

MultCast

Distribuição

NEPAR

www.sbcs-nepar.org.br

contato@sbcs-nepar.org.br

Tiragem: 500 exemplares

Impresso na Gráfica Idealiza.

Todos os direitos reservados.

É permitida a reprodução parcial, desde que citada a fonte.

É proibida a reprodução total desta obra.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R444a Reunião Latinoamericana de Rizobiologia : fortalecendo as parcerias Sul-Sul
(27. : 2016 : Londrina, PR).
Anais da XXVII Reunião Latinoamericana de Rizobiologia : fortalecendo as parcerias
Sul-Sul / Editores: Mariangela Hungria, Douglas Fabiano Gomes, Arnaldo Colozzi
Filho. – Curitiba : NEPAR, 2016
328 p. : il.

ISBN: 978-85-69146-03-2

1. Agricultura sustentável – Congressos. 2. Nitrogênio na agricultura – Congressos.
3. Microbiologia agrícola – Congressos. 4. Solo – Microrganismos – Congressos.
I. Hungria, Mariangela. II. Gomes, Douglas Fabiano. Colozzi Filho, Arnaldo. III. Instituto
Agrônômico do Paraná. III. Título.

CDU 631.46

A linguagem escrita, os conceitos e opiniões emitidos nos resumos constantes desta publicação são de inteira responsabilidade dos respectivos autores. A Comissão Organizadora não assume responsabilidades pelos dados e conclusões emitidas pelos autores.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja

Chefe Geral

José Renato Bouças Farias

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Ricardo Vilela Abdelnoor

Chefe Adjunto de Transferência de Tecnologia

Alexandre José Cattelan

Chefe Adjunto de Administração

Fábio Álvares de Oliveira

Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Diretor-Presidente

Florindo Dalberto

Diretor de Pesquisa

Tiago Pellini

Diretor de Administração e Finanças

Altair Sebastião Dorigo

Diretor de Gestão de Pessoas

Adelar Antonio Motter

Diretor de Inovação e Transferência de Tecnologia

José Antônio Tadeu Felismino

Comissão Organizadora

Presidente

Mariangela Hungria – Embrapa Soja

Secretário Executivo

Arnaldo Colozzi Filho – IAPAR

Comissão Científica

Elena Fabiano – ALAR

Diva de Souza Andrade – IAPAR

Marco Antonio Nogueira – Embrapa Soja

Antonio Lagares – Agromicrobios

Manuel Megías – Universidade
de Sevilha

Marina Martinez – SBM

Comissão Executiva

Hugo Kern – Comunicação, Embrapa Soja

Sandra Maria Santos Campanini –

Negócios, Embrapa Soja

Carlos Magno de Paiva Rolla – Arte,
EMATER

Alessandra Neves – Execução, FAPEAGRO

Andrea Villardo – Comunicação,
Embrapa Soja

José Pereira da Silva – Financeiro, IAPAR

Comissão de Apoio

Douglas F. Gomes – Embrapa Soja

André S. Nakatani – Embrapa Soja

Marcos J. de Luca – INTA

Ricardo S. Araujo – Total Biotecnologia

Renan Augusto Ribeiro – Embrapa Soja

Eduara Ferreira – Embrapa Soja

Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol –
Comunicação, Embrapa Soja

Marisa Yuri Horikawa – Comunicação,
Embrapa Soja

Lebna Landgraf do Nascimento –
Jornalista, Embrapa Soja

Carina Gomes Rufino – Jornalista,
Embrapa Soja

Comissão Científica de Trabalhos

Presidente

Douglas F. Gomes – Embrapa Soja

Avaliadores

André S. Nakatani – Embrapa Soja

Jesiane S. S. Batista – UEPG

Luciana Grange – UFPR-Palotina

Lygia V. Galli-Terasawa – UFPR-Curitiba

Glaciela Kaschuk – UFPR-Curitiba

Comissão Editorial

Álisson Néri – IAPAR/NEPAR

Mariangela Hungria – Embrapa Soja

Arnaldo Colozzi Filho – IAPAR

Comissão de Premiação dos Melhores Trabalhos

Biodiversidade, Taxonomia, Evolução e Ecologia de Rizobactérias

Renan Augusto Ribeiro – Embrapa Soja

Graham O'Hara – Murdoch University

Esperanza Martínez-Romero – Centro de Ciencias Genómicas

Manuel Megías – Universidad de Sevilla

Genética e Genômica de Rizobactérias e Leguminosas; Fisiologia e Bioquímica de Rizobactérias e Leguminosas; Interações Associativas e Endofíticas Planta/Rizobactérias

Douglas F. Gomes – Embrapa Soja

Jesiane S. S. Batista – UEPG

Elena Fabiano – Instituto de

Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Verônica Massena Reis – Embrapa Agrobiologia

Aspectos Agronômicos Relacionados a Bactérias Fixadoras do Nitrogênio e Promotoras do Crescimento de Plantas

Glaciela Kaschuk – UFPR

Iêda C. Mendes – Embrapa Cerrados

Elena Beyhaut – INIA

Jerri E. Zilli – Embrapa Agrobiologia

Tecnologias em Inoculantes e Inoculação; Ensino, Difusão e Transferência de Tecnologia

Marco Antonio Nogueira – Embrapa Soja

David Francis Herridge – University of New England/Primary Industries Innovation Center

Solon Cordeiro Araújo – ANPIL

Juan Sanjuán – Estación Experimental de Zaidín

PROMOÇÃO

ALAR

REALIZAÇÃO

Embrapa Soja

IAPAR

ORGANIZAÇÃO

FB Eventos

APOIO

CAPES, CNPq, COCAMAR, CYTED, EMATER, FAPEAGRO,
NEPAR-SBCS, SBM e SEAB

PATROCÍNIO

Ouro

ANPIL, Barenbrug do Brasil, Grap Agrocete
e Sistema FAEP/SENAR-PR

Prata

Fundação Agrisus

Bronze

Itaipu Binacional e BASF

Eventos sociais

ANPIL, COAMO, Monsanto BioAg, Penergetic e Stoller

Expositores

Monsanto BioAg, Rizobacter e Total Biotecnologia

APRESENTAÇÃO

A agricultura mundial enfrenta grandes desafios. É preciso atender à demanda crescente de alimentos, qualitativa e quantitativamente, mas com sustentabilidade. Novos patamares de produtividade são necessários, mas sem esquecer a necessidade de recuperação de áreas degradadas e de viabilização econômica de todos os tipos de agricultura e agricultores, promovendo maior igualdade social. Nesse contexto, pesquisas e produtos visando maximizar a contribuição dos microrganismos para a nutrição de plantas tornam-se prioritários, promovendo avanços no conhecimento das interações entre microrganismos e plantas de importância econômica, social e ambiental, bem como avaliando e validando o uso de microrganismos e processos microbianos como insumos agrícolas.

Dentre os processos microbiológicos de maior relevância para o aporte de nutrientes para as plantas estão o da fixação biológica do nitrogênio (FBN) pela simbiose rizóbios-leguminosas, algumas de grande importância para a América Latina, como a soja, o feijoeiro e o feijão caupi e o da ação de outros microrganismos via promoção do crescimento de plantas leguminosas e não-leguminosas por diversos mecanismos, incluindo a FBN.

A América Latina tem sido protagonista mundial no uso de pesquisas e uso desses microrganismos via inoculação. Grande parte desse sucesso advém da interação entre os pesquisadores que trabalham com esses microrganismos, em reuniões que remontam há mais de meio século. Nesse contexto, deve-se ressaltar o protagonismo da Reunião Latinoamericana de Rizobiologia, promovido pela ALAR (*Asociación Latinoamericana de Rizobiologia*), uma associação científica sem fins lucrativos cujo objetivo é promover as atividades de FBN e o uso de microrganismos promotores do crescimento vegetal nos países da América Latina e Caribe. As origens da ALAR remontam à década de 1960, com fundação em 1964, durante a primeira RELAR realizada em Montevideu, Uruguai.

Meio século depois, em 2016, a XXVII RELAR está acontecendo em Londrina, Paraná, em uma realização da Embrapa Soja e do IAPAR. O tema escolhido para essa reunião é “Fortalecendo as Parcerias Sul-Sul”, em uma busca para a identificação e intensificação das parcerias não só na América Latina e Caribe, como também entre países da América Latina/Caribe, a África e a Oceania.

O programa da XXVII RELAR inclui grandes nomes da ciência básica e aplicada, com representantes dos setores públicos e privados. Em dez sessões serão ministradas 40 palestras, com palestrantes de 14 países. Certamente, um evento de grande impacto científico e de inovação biotecnológica, com os maiores especialistas nos temas abordados.

Mariangela Hungria
Presidente da XXVII RELAR

SUMÁRIO

PROGRAMAÇÃO	31

RESUMOS DAS PALESTRAS

SESSÃO I: BIODIVERSIDADE E TAXONOMIA

TAXONOMÍA DE RIZOBIOS EN LA ERA GENÓMICA.....	57
EXPLOITING SYMBIOSES WHICH ARE TOLERANT TO ENVIRONMENTAL STRESSES	58
THE NEW WORLD OF THE BURKHOLDERIAS.....	59
LA RIQUEZA MICROBIANA DE LOS ANDES: EXPLORABLE Y CON IMPACTO ECONÓMICO Y AMBIENTAL	60
<i>Lotus</i> ASSOCIATED SOIL MICROORGANISM IN PASTURE IMPLANTATION COMMUNITIES STABILITY AND TECHNOLOGICAL USE	61

SESSÃO II: CIÊNCIAS “ÔMICAS”

GENETIC ANALYSIS OF A MODEL RHIZOBIAL-PLASMID- MOBILOME AT THE MEGABASE SCALE GENE CONTENT AND EVOLUTIONARY RELATIONSHIPS.....	65
ORGANIZACIÓN GENÓMICA DE LOS SISTEMAS FLAGELARES EN <i>Bradyrhizobium</i> spp.	66
EPS, KPS Y LPS: CONSENSO SOBRE LA IMPORTANCIA?	67
¿CUÁNTO AVANZAMOS EN EL CONOCIMIENTO DE LA REGULACIÓN DE LOS GENES <i>nodD</i> ?	68

THE RHIZOBIA BATTLE FOR IRON	69
GENOMICS AND FUNCTIONAL GENOMICS OF WILD AND EXPERIMENTALLY EVOLVED RHIZOBIA, FREE-LIVING AND IN BACTERIAL COMMUNITIES	70

SESSÃO III: FBN EM NÃO-LEGUMINOSAS

EL GÉNERO <i>Azospirillum</i> : DE LA GENÓMICA A LA PRODUCCIÓN DE BIOINSUMOS	73
RIZÓBIOS EM NÃO-LEGUMINOSAS: UMA NOVA ESPERANÇA?... 74	
<i>Azospirillum</i> EN URUGUAY: GRAN EXPERIENCIA EN UN PEQUEÑO PAÍS.....	75

SESSÃO IV: COQUETÉIS DE MICRORGANISMOS PARA UM *BUFFET* DE PLANTAS E POSSIBILIDADES

PERSPECTIVAS PARA A CANA-DE-AÇÚCAR	79
INOCULANTES MICROBIANOS HACIENDO LA DIFERENCIA EN CUBA	80

SESSÃO V: ESTRATÉGIAS PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS HOSPEDEIRAS COM MAIOR CAPACIDADE DE FBN

PHOSPHORUS USE EFFICIENCY IN SYMBIOTIC N ₂ FIXATION FOR COUPLING BIO-GEOCHEMICAL CYCLES IN AGROSYSTEMS WITH LEGUMES	83

THE CHALLENGE OF THE GLOBAL CLIMATIC CHANGES: SCREENING FOR BNF UNDER WATER RESTRICTION	84
SYMBIOTIC INTERACTION BETWEEN <i>Phaseolus vulgaris</i> AND RHIZOBIA IN THE AMERICAS	85

SESSÃO VI: QUANTIFICANDO E “QUALIFICANDO” A FBN

ROTATIONAL BENEFITS OF LEGUME NITROGEN FIXATION – UNIVERSAL OR WITH CAVEATS?	89
QUANTIFICATION OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN NON-LEGUMES.....	90
BNF IN CEREALS: A PERSPECTIVE AND PROSPECTIVE VIEW	91

SESSÃO VII: PLANEJANDO O FUTURO: DIFUSÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIAS E FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

PUTTING NITROGEN FIXATION TO WORK FOR SMALLHOLDER FARMERS IN AFRICA - N2AFRICA.....	95
AÇÕES DE DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS PARA INCREMENTAR O USO DE INOCULANTES: NOVAS IDEIAS E NOVAS FERRAMENTAS	96
BIOFAG AND AGROMICROBIOS: EVOLUTION IN NETWORKING RESEARCH IN BIOFERTILIZERS	97
HOW FAR CAN WE GO IN TRANSFERRING BNF TECHNOLOGIES AMONG COUNTRIES? AN AFRICAN EXPERIENCE.....	98

BUILDING HUMAN CAPACITY IN BNF IN AFRICA: OPPORTUNITIES FOR SOUTH-SOUTH COOPERATION	99
COMO FORMAR E MOTIVAR UMA NOVA GERAÇÃO DE PROFISSIONAIS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO?	100

SESSÃO VIII: SOJA: O CARRO-CHEFE DA FBN NA AMÉRICA DO SUL

IMPACTO DE LA INOCULACIÓN Y FBN EN SOJA EN ARGENTINA...	103
FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO EM SOJA: A SIMBIOSE PERFEITA?	104
BNF BY SOYBEANS IN URUGUAY: CONTRIBUTION TO A SUSTAINABLE AGRICULTURE IN A NEW SCENARIO OF INTENSIFICATION	105

SESSÃO IX: A FBN EM CULTURAS DE MENOR IMPACTO ECONÔMICO E GRANDE IMPORTÂNCIA SOCIAL E AMBIENTAL

RIZÓBIOS PARA FORRAGEIRAS, ADUBOS VERDES E FLORESTAIS NO BRASIL: OPORTUNIDADES PARA O SEQUESTRO DE CARBONO.....	109
IS THERE HOPE FOR BNF IN COMMON BEANS?.....	110
<i>Phaseolus lunatus</i> X rhizobia symbiosis: PERSPECTIVES AND POTENTIAL FOR GRAIN PRODUCTION IN FAMILIAR AGRICULTURE	111

SESSÃO X: INDÚSTRIA E NEGÓCIOS

OS INOCULANTES SOBREVIVERÃO À NOVA REALIDADE CORPORATIVA DAS MULTINACIONAIS?	115
PRE-INOCULACIÓN DEL CULTIVO DE SOJA: OPORTUNIDADES Y AMENAZAS	116
MICROALGAE: RENEWABLE ENERGY FEEDSTOCK FOR BIOENERGY AND AGRICULTURAL APPLICATION.....	117
HAY ESPACIO PARA PEQUEÑAS INDUSTRIAS DE INOCULANTES EN AMÉRICA LATINA?	118
ACADEMIA X INDÚSTRIA: DESAFIOS DE ADAPTAÇÃO DE ESCALA E DE OBTENÇÃO DE RESULTADOS.....	119

PALESTRA DE ENCERRAMENTO

MÁS DE UN SIGLO DE INOCULANTES: DE LA BACTERIA A LA MOLÉCULA.....	123

RESUMOS DOS PÔSTERES

SESSÃO PÔSTER I: BIODIVERSIDADE, TAXONOMIA, EVOLUÇÃO E ECOLOGIA DE RIZOBACTÉRIAS

ANÁLISE POLIFÁSICA DO GÊNERO <i>Bradyrhizobium</i> APONTA A EXISTÊNCIA DE UMA NOVA ESPÉCIE.....	129
ANÁLISES GENÔMICAS NA DEFINIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES.....	130

AUTENTICAÇÃO DOS GENES <i>nodC</i> E <i>nifH</i> POR DUPLEX-PCR EM RIZÓBIOS DE TRÊS LEGUMINOSAS ARBÓREAS DA CAATINGA	131
BACTÉRIAS FIXADORAS DE N ₂ , SIMBIÓTICAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS, TÊM ALTA DIVERSIDADE FUNCIONAL E GENÉTICA	132
<i>Bradyrhizobium</i> ISOLATES FROM SUGARCANE ROOTS FORM A NEW PHYLOGENETIC GROUP WITH POTENTIAL FOR THE DEVELOPMENT OF INOCULANTS	133
CAN ARBUSCULAR MYCORRHIZAS MEDIATE INTERACTIONS BETWEEN PLANTS OF DIFFERENT SUCCESSIONAL STAGES AND N-CYCLING MICROORGANISMS?	134
CAPACIDAD ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL DEL GÉNERO <i>Bacillus</i> AISLADAS DE FRIJOL	135
CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA BORAL (SULFENTRAZONE) POR CONSÓRCIO BACTERIANO COMO ESTRATÉGIA DE TOLERÂNCIA	136
CARACTERIZAÇÃO E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO ISOLADAS DE <i>Stylosanthes</i> spp. EM SAVANA AMAZÔNICA	137
CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E FILOGENÉTICA DE <i>Burkholderia</i> ISOLADAS DE NÓDULOS DE <i>Phaseolus</i> <i>vulgaris</i> EM SOLOS DO “CERRADÃO”	138
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ISOLADOS DE <i>Crotalaria juncea</i> PARA PRODUÇÃO DE ADUBO VERDE NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR	139
<i>Centrolobium paraense</i> NODULA COM DIVERSAS ESPÉCIES DE <i>Bradyrhizobium</i>	140
COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS DA EMBRAPA SOJA: BUSCA CONTÍNUA POR MELHORIA DA QUALIDADE	141

COMPARATIVE GENOMIC ANALYSIS OF <i>nod</i> OPERON AND <i>nod</i> REGULON IN <i>Bradyrhizobium elkanii</i>	142
COMUNIDADE BACTERIANA CULTIVÁVEL PRESENTE NA RAIZ E NA RIZOSFERA DE GERÂNIO (<i>Pelargonium graveolens</i>)	143
<i>Cupriavidus</i> ARE THE PREFERRED SYMBIONTS OF NATIVE URUGUAYAN <i>Mimosa</i> SPECIES.....	144
DETERMINAÇÃO DA FILOGENIA DE RIZÓBIOS POR MULTILOCUS SEQUENCE ANALYSIS (MLSA) COM IDENTIFICAÇÃO E DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES	145
DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS NA RIZOSFERA DE LULO CULTIVADO EM SOLOS SOB DIFERENTES MANEJOS	146
DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM SOLOS SOB DIFERENTES TIPOS DE VEGETAÇÃO, NO QUADRILÁTERO FERRÍFERO, MG.....	147
DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS ISOLADOS DE NÓDULOS DE <i>Mimosa gymnas</i> BARNEBY, NATIVAS DO PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ (PARANÁ, BRASIL)	148
DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS NÃO SIMBIONTES ISOLADOS DA RIZOSFERA DE TOMATE CULTIVADO EM SOLOS SOB DIFERENTES MANEJOS	149
DIVERSIDADE GENÉTICA POR BOX-PCR DE RIZOBACTÉRIAS OBTIDAS DE SOLOS DO OESTE DO PARANÁ SOB DISTINTOS MANEJOS DE CULTIVO	150
DIVERSIDADE TAXONÔMICA E GENÉTICA DE <i>Burkholderia</i> SIMBIÓTICAS PROVENIENTES DE SOLOS DA MATA ATLÂNTICA....	151
DOMINÂNCIA POR LEGUMINOSAS NODULANTES E TAXAS DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS TROPICAIS SECAS DO BRASIL.....	152
EFEITO DE DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS NA DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS CAPAZES DE NODULAR SABIÁ (<i>Mimosa caesalpinifolia</i>)	153

EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES ACESSOS DE <i>Mimosa scabrella</i>	154
ESTUDO DE VIABILIDADE MICROBIANA DE SOLOS SOB SEMEADURA DIRETA DE SOJA COM PLANTAS DE COBERTURA.....	155
EVALUATION OF <i>Bacillus</i> spp. FOR THE MINERALIZATION AND SOLUBILIZATION OF PHOSPHOROUS IN SOILS.....	156
GENETIC AND FUNCTIONAL DIVERSITY ANALYSIS OF CULTIVABLE DIAZOTROPHIC RHIZOBACTERIA	157
IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CARACTERIZACIÓN PGPB DE <i>Bradyrhizobium</i> EFICIENTES EN CAUPÍ AISLADAS DE LA SELVA CENTRAL DEL PERÚ	158
INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS DO SOLO NA PRESENÇA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM SIMBIOSE COM DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>Mimosa</i>	159
LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES DE FABACEAE NODULÍFERAS NATIVAS DOS CAMPOS GERAIS (PARANÁ-BRASIL).....	160
METABOLISMO DE METALES Y COMPUESTOS AROMÁTICOS POR BETA-RIZÓBIOS ASOCIADOS A MIMOSAS NATIVAS DE URUGUAY	161
METAGENOMIC ANALYSIS OF DIAZOTROPHIC BACTERIA FROM HIGH-ELEVATION GRASSLANDS SOILS OF THE PARANA STATE	162
MONTAGEM DE BIBLIOTECA DE PERFIS MOLECULARES OBTIDOS POR MALDI-TOF MS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE ESTIRPES DE <i>Bradyrhizobium</i>	163
NOVA ESPÉCIE DE <i>Rhizobium</i> PARA SIMBIONTE DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	164
PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF COMMON BEAN RHIZOBIA OF THE CULTURE COLLECTION OF EMBRAPA AGROBIOLOGIA.....	165

PHYLOGENY AND POPULATION STRUCTURE OF SOYBEAN (<i>Glycine max</i> L. Merr.) NODULATING <i>Bradyrhizobium</i> IN EASTERN AND SOUTHERN AFRICA.....	166
TIPAGEM MORFOLÓGICA DE <i>Pseudomonas</i> spp. OBTIDAS DA RIZOSFERA DE SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO E NATURAL.....	167
USO DA TAXONOMIA POLIFÁSICA PARA CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE RIZÓBIO DE FEIJÃO COMUM EM SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL	168
WHAT WE KNOW ABOUT THE NOVEL LEGUME-NODULATING <i>Microvirga vignae</i> ?.....	169

SESSÃO PÔSTER II: GENÉTICA E GENÔMICA DE RIZOBACTÉRIAS E LEGUMINOSAS

ANÁLISE FILOGENÉTICA DA DIVERSIDADE DE RIZOBACTÉRIAS ATRAVÉS DOS GENES DA NITROGENASE E DA PORÇÃO 16S RIBOSSOMAL.....	173
ANÁLISE PROTEÔMICA DE <i>Rhizobium freirei</i> PRF 81 SOB ESTRESSE ÁCIDO	174
APROXIMACIÓN GENÓMICA PARA EL ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA ASOCIACIÓN BETA RIZOBIO–LEGUMINOSA.....	175
BLOCKADE OF N-ACYL HOMOSERINE LACTONES-BASED QUORUM SENSING IMPAIRS SOYBEAN- <i>Bradyrhizobium</i> AND MAIZE- <i>Azospirillum</i> SYMBIOSIS.....	176
FUNCTIONAL INFERENCE OF HYPOTHETIC GENES OF THE SYMBIOTIC ISLAND OF THE STRAIN CPAC 15 OF <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	177
GENOMIC PANORAMA, FOCUSED ON THE SYMBIOTIC CONTEXT, OF <i>Bradyrhizobium elkanii</i> STRAINS SEMIA 587, SEMIA 5019 AND USDA 76 ^T	178

IMPROVEMENT IN NITROGEN FIXATION CAPACITY COULD BE PART OF THE DOMESTICATION PROCESS IN SOYBEAN	179
MAPPING IS ELEMENTS IN BRAZILIAN <i>Bradyrhizobium</i> STRAINS USED IN INOCULANTS AND THEIR PUTATIVE IMPACTS ON THE SYMBIOSIS	180
NITROGEN FIXING VARIABILITY AND ITS ASSOCIATION WITH MORPHO-PHYSIOLOGICAL TRAITS IN PIGEONPEA (<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp.)	181
PLANT DERIVED PEROXIDASES AND CHITINASES ARE INVOLVED IN THE EARLY STEPS OF PEANUT-BRADYRHIZOBIA SYMBIOTIC INTERACTION	182
PROBABLE ROLES OF THE <i>hsnT</i> , <i>nodF</i> AND <i>nodE</i> GENES IN <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899 NODULATION FACTOR BIOSYNTHESIS AND DECORATION	183
RNA-SEQ ANALYSIS OF <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899 GENOME IN THE PRESENCE OF APIGENIN AND SALT	184
RNA-SEQ OF <i>Sinorhizobium fredii</i> HH103 GENOME IN PRESENCE OF INDUCING FLAVONOIDS REVEALS NOVEL GENES INVOLVED IN SYMBIOSIS.....	185

SESSÃO PÔSTER III: FISILOGIA E BIOQUÍMICA DE RIZOBACTÉRIAS E LEGUMINOSAS

ANÁLISE DE CONGRUÊNCIA PARA VALORES DE PRODUÇÃO DE AUXINA (AIA) E SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS PRODUZIDOS POR RIZOBACTÉRIAS.....	189
ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM MILHO (<i>Zea mays</i>) SUBMETIDAS À INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i>	190

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLO COM O USO DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNO EM SISTEMA DE PLANTIO DIRETO E PLANTIO CONVENCIONAL.....	191
BACTERIA ISOLATED FROM SHALE BYPRODUCTS CAN ENHANCE PLANT GROWTH IN <i>Brachiaria ruziziensis</i> AND <i>Eucalyptus grandis</i>	192
<i>Bradyrhizobium</i> sp. INOCULATION IN COWPEA MITIGATES OXIDATIVE STRESS INDUCED BY APPLICATION OF TANNERY SLUDGE COMPOSTED	193
CAPACIDADE DE MANUTENÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA	194
EMISIÓN DE GASES INVERNADERO EN LA SIMBIOSIS <i>Bradyrhizobium</i> -SOJA	195
ESTIRPES DE <i>Bradyrhizobium</i> COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTAR A TOLERÂNCIA À SECA EM SOJA	196
FOSFATASE ÁCIDA EM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO COM FORRAGEIRAS TROPICAIS SOB DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO E REGIMES LUMINOSOS	197
LA SOBREENPRESIÓN DE SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD) CONFIERE TOLERANCIA A <i>M. loti</i> Y <i>S. meliloti</i> FRENTE A ESTRÉS OXIDATIVO	198
PERFIL ENZIMÁTICO DE PLÂNTULAS DE TRIGO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS E CONDIÇÕES DE FERTILIZAÇÃO E INOCULAÇÃO	199
POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO ISOLADAS DE NÓDULOS DE FEIJOEIRO	200
REACCIONES OXIDATIVAS DE LA BIOSÍNTESIS DE GIBERELINAS EN BACTEROIDES DE <i>Rhizobium etli</i> Y DE <i>Rhizobium phaseoli</i>	201

RESPUESTA DE <i>Trifolium repens</i> INOCULADO CON RIZOBIOS PSYCHROFÍLICOS Y MESOFÍLICOS BAJO RESTRICCIONES TÉRMICAS	202

SESSÃO PÔSTER IV: INTERAÇÕES ASSOCIATIVAS E ENDOFÍTICAS PLANTA/RIZOBACTÉRIAS

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DE MILHO COM AÇÃO PROMOTORA DE CRESCIMENTO VEGETAL PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES	205

CHARACTERIZATION OF INDIGENOUS RHIZOBIA ISOLATED FROM SOYBEAN [<i>Glycine max</i> (L.) Merrill] GROWN IN MOZAMBIQUE	206

CO-INOCULATION OF <i>Bradyrhizobium</i> sp. AND <i>Bacillus</i> sp. ON PEANUT: EFFECT ON THEIR PLANT GROWTH-PROMOTING ACTIVITIES	207

ECOPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF MAIZE PLANTS INOCULATED WITH <i>Azospirillum brasilense</i> AND MYCORRHIZAL FUNGI SUBJECTED TO DROUGHT	208

EFEITO DA INOCULAÇÃO E DO NITROGÊNIO NA DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS CULTIVÁVEIS DA RAIZ E DA RIZOSFERA DO TRIGO	209

EFEITO DA INTRODUÇÃO DE <i>Bacillus</i> sp. NA COMUNIDADE MICROBIANA DA RIZOSFERA E RAIZ DE BATATA-DOCE (<i>Ipomoea batatas</i>)	210

ESTRATÉGIA PARA DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTE PARA CANA-DE-AÇÚCAR: UMA ABORDAGEM SEQUENCIAL	211

INDOLEACETIC ACID PRODUCING RHIZOBACTERIA IMPROVE BOTH, GROWTH AND PHYSIOLOGY, OF THE HALOPHYTIC <i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	212
INFLUENCIA DE LA CO-INOCULACIÓN BRADIRIZOBIOS- <i>Delftia</i> SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE SOJA.....	213
MORPHO-PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF PIONEER TREE SPECIES ASSOCIATED TO PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA UNDER WATER DEFICIT	214
PHYSIOLOGY AND DEVELOPMENT OF A TREE SPECIES UNDER INOCULATION WITH <i>Methylobacterium</i> <i>komagatae</i> AND <i>Azospirillum brasilense</i>	215
PRODUÇÃO DE MICÉLIO EXTERNO POR FUNGOS NO SOLO COM APLICAÇÕES DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNOS	216
PRODUCCIÓN DE N-ACIL HOMOSERINA LACTONAS POR BACTERIAS DEL GÉNERO <i>Pantoea</i> AISLADAS DEL ARROZ DE LAS MARISMAS DEL GUADALQUIVIR	217
RIZOBACTÉRIA ASSOCIADA A CACTÁCEA PODE MITIGAR OS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE MILHO (<i>Zea mays</i> L.)	218
TEOR DE NITROGÊNIO FOLIAR E NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS DE SOJA TRANSGÊNICA TOLERANTES À SECA SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA	219
VARIABILIDADE DE NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO COMUM DO BANDO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO	220
VIABILIDADE CELULAR DE <i>Azospirillum</i> E <i>Herbaspirillum</i> EM CULTURA DE TRIGO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA.....	221

SESSÃO PÔSTER V: ASPECTOS AGRONÔMICOS RELACIONADOS A BACTÉRIAS FIXADORAS DO NITROGÊNIO E PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N DO N_2 FIXADO NA SOJA EM FUNÇÃO DA INTENSIDADE DE LUZ E ESTIRPE DE <i>Bradyrhizobium</i> spp. INOCULADA.....	225
APLICACIONES AGRONÓMICAS DE UNA NUEVA ESPECIE DEL GÉNERO <i>Pantoea</i> AISLADA DE PLANTAS DE ARROZ.....	226
ASPECTOS AGRONÔMICOS DA CULTURA DO TRIGO EM RELAÇÃO À EFICIÊNCIA DE INOCULANTES COMERCIAIS	227
ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE SOJA SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA.....	228
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE DIFERENTES INOCULANTES DE SOJA NO TOCANTINS	229
AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO FEIJÃO	230
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS BACTERIANOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DO FEIJÃO (<i>Phaseolus vulgaris</i>) EM DIFERENTES PHs.....	231
AVALIAÇÃO DOS CARACTERES DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE SOJA RR2	232
<i>Azospirillum brasilense</i> VI22 E A PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE GIRASSOL (<i>Helianthus annuus</i>) EM EXPERIMENTOS A CAMPO	233

<i>Bacillus</i> sp. RZ2MS9 AND <i>Azospirillum brasilense</i> ABV5, INOCULATED IN COMBINATION, PROMOTE MAIZE GROWTH UNDER FIELD CONDITIONS	234
BACTERIAS DE LA RIZÓSFERA PRODUCTORAS DE ACC- DEAMINASA Y AUXINAS PROMUEVEN UNA MAYOR NODULACIÓN TEMPRANA EN ALFALFA	235
BACTERIAS DIAZOTROFICAS CON POTENCIAL PARA PROMOVER EL CRECIMIENTO VEGETAL Y PROTEGER LAS PASTURAS EN CONDICION DE SALINIDAD	236
BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA PÓS PASTEJO, EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA	237
CALAGEM E ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA ANTECESSORA INFLUENCIAM PARÂMETROS DE NODULAÇÃO NA SOJA	238
CARACTERIZACIÓN RIZOBIOLÓGICA DE AMBIENTES PASTORILES PARA IMPLANTACIÓN DE TRÉBOLES EN EL NORESTE DEL URUGUAY	239
CARACTERIZACIÓN Y MULTIFUNCIONALIDAD DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE CEPAS DE RIZOBIOS DE URUGUAY ...	240
COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i> EM MILHO SEGUNDA SAFRA	241
COMPATIBILIDADE ENTRE INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E TRATAMENTO FUNGICIDA EM SEMENTES DE FEIJOEIRO-COMUM	242
COMPATIBILITY OF <i>Azospirillum brasilense</i> INOCULATION UNDER DIFFERENT NITROGEN LEVELS AND MAIZE HYBRIDS.....	243
COMPORTAMIENTO AGRONOMICO DE LA PAPA BAJO INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS NATIVAS Y APLICACIÓN DE ACIDO ACETIL SALICÍLICO	244

DESEMPENHO AGRONÔMICO DE MILHO COINOCULADO COM RIZOBACTÉRIAS NATIVAS DE SOLOS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ	245
DESEMPENHO SIMBIÓTICO DE RIZÓBIOS DE CAUPI E <i>Aeschynomene</i> EM AMENDOIM TRATADO COM FUNGICIDA....	246
EFFECTO DE <i>Bacillus</i> sp. EN EL CRECIMIENTO DE PASTURAS ALTO ANDINAS DE AYACUCHO-PERÚ	247
EFFECTO DE LA COINOCULACION CON RIZOBIOS Y BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN LA NODULACIÓN TEMPRANA EN LENTEJA	248
EFFECTO DE RIZOBIOS EN EL CULTIVO DE FRIJOL VAR. RED KIDNEY EN UN SISTEMA INTERCALADO CAFÉ-FRIJOL EN LA SELVA ALTA DEL PERÚ	249
EFEITO DA INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i> EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE TRIGO	250
EFEITO DA INOCULAÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS NO CRESCIMENTO DO MILHO (<i>Zea mays</i>) CULTIVADO EM DIFERENTES PHS.....	251
EFEITOS AGRONÔMICOS DA CO-INOCULÇÃO COM <i>Bradyrhizobium japonicum</i> E <i>Azospirillum brasilense</i> NA CULTURA DA SOJA	252
ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE SUELOS URUGUAYOS RESPECTO A LA FITODISPONIBILIDAD DE FÓSFORO	253
EVALUACIÓN DEL COSTE DE OPORTUNIDAD DEL USO DE BIOFERTILIZANTES: ESTUDIO DE ESCENARIOS EN REPÚBLICA DOMINICANA	254
INCREMENTO DE LA PRODUCTIVIDAD EN EL CULTIVO DE SOJA EN URUGUAY: EFICIENCIA SIMBIÓTICA Y COMPETENCIA DE <i>Bradyrhizobium</i> spp.....	255

INFLUENCIA DE REINOCULAÇÕES COMPLEMENTARES EM COBERTURA NA NODULAÇÃO DE <i>Bradyrhizobium</i> spp. NA CULTURA DA SOJA	256
INHIBICIÓN DE LA GERMINACIÓN DE UREDINIOSPORAS DE <i>Hemileia vastatrix</i> USANDO BACTERIAS DE LA FILÓSFERA DEL CAFÉ	257
INOCULACIÓN DE <i>Pisum sativum</i> (L.) CON RIZOBIOS NATIVOS SELECCIONADOS	258
NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE FEIJÃO-CAUPI SUBMETIDO À INOCULAÇÃO, CALAGEM E DOSES DE FÓSFORO EM SOLO DO RIO DE JANEIRO	259
NODULAÇÃO EM SOJA CULTIVADA SOB DIFERENTES ESTADOS DE COMPACTAÇÃO DO SOLO.....	260
PERFORMANCE DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL PARA O ALGODOEIRO	261
POTENCIAL DO USO DE BACTÉRIAS PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE <i>Crotalaria</i> spp.	262
POTENCIAL PGPR DE ACTINOMICETOS AISLADO DE LA RIZÓSFERA DE <i>Coffea arabica</i> PROVENIENTE DE LA SELVA ALTA DEL PERÚ	263
PRODUÇÃO DE CAPIM-XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E ADUBAÇÃO NITROGENADA.....	264
PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO ARROZ DE TERRAS ALTAS SOB SISTEMAS DE MANEJO, DOSES DE NITROGÊNIO E <i>Azospirillum brasilense</i>	265
PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO MILHO EM RESPOSTA A INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE BACTÉRIAS ASSOCIATIVAS	266

PRODUTIVIDADE DA SOJA EM SUCESSÃO A CULTIVOS NO OUTONO-INVERNO E INOCULAÇÃO COM <i>Bradyrhizobium</i> E <i>Azospirillum</i>	267
PRODUTIVIDADE DA SOJA INOCULADA COM <i>Bradyrhizobium</i> E <i>Azospirillum</i> APÓS TRÊS ÉPOCAS DE DESSECAÇÃO DE BRACHIARIA	268
RESPONSES OF SOYBEAN CULTIVARS TO BASAL AND TOPDRESSING N FERTILIZATION COMPARED TO SOLE INOCULATION WITH <i>Bradyrhizobium</i>	269
RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA (<i>Glycine max</i>) À APLICAÇÃO DE FERTILIZANTE BIOINDUTOR E INOCULAÇÃO.....	270
SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIOS EFICIENTES PARA NODULAÇÃO DE ERVILHACA DE FOLHA ESTREITA.....	271
USO DE BIOPROTECTOR EN SEMILLAS DE SOJA	272
UTILIZACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS DE LA HALÓFITA <i>Arthrocnemum macrostachyum</i> EN EL BIOCONTROL DE HONGOS PATÓGENOS	273
INOCULATING COWPEA IN MOZAMBIQUE WITH RHIZOBIAL SELECTED STRAINS	274

SESSÃO PÔSTER VI: TECNOLOGIAS EM INOCULANTES E INOCULAÇÃO

A TEMPERATURA DO CULTIVO ALTERA A PRODUÇÃO DE MICROALGAS: O POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOENERGIA NO PARANÁ.....	277
ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO E DA SOBREVIVÊNCIA DE <i>Azospirillum brasilense</i> ESTIRPES AB-V5 E AB-V6 EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA.....	278

AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E TECNOLOGIAS DE INOCULAÇÃO PARA A CULTURA DA SOJA NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO MARANHÃO	279
AVALIAÇÃO DE SOLUÇÕES DILUENTES E MEIOS DE CULTIVO PARA RECUPERAÇÃO DE CÉLULAS DE <i>Rhizobium tropici</i> EM SEMENTES DE FEIJÃO	280
AVALIAÇÃO ECONÔMICA DA CO-INOCULAÇÃO DE <i>Rhizobium</i> <i>tropici</i> E <i>Azospirillum brasilense</i> NO FEIJOEIRO-COMUM	281
BIOFILMES PARCIALMENTE HIDROFÍLICOS: UMA ALTERNATIVA PARA A PROTEÇÃO CELULAR DE RIZÓBIOS EM SEMENTES PRÉ-TRATADAS	282
BIOMASSA MICROBIANA E SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLO COM ADIÇÃO DE CAMA DE AVIÁRIO, FOSFATO NATURAL E MICROORGANISMOS	283
BIOPOLÍMERO NATURAL: SU UTILIZACIÓN COMO VEHÍCULO DE BIOFERTILIZANTES DE MANÍ.....	284
CHARACTERIZATION OF EFFECTIVE NATIVE RHIZOBIA ISOLATES FOR GROUNDNUT INOCULATION IN GHANA	285
COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS UTILIZADAS NA CONTAGEM DE FUNGOS NÃO-MICORRÍZICOS EM LABORATÓRIOS DE CONTROLE	286
COMPATIBILIDADE DO FERTILIZANTE LÍQUIDO NUCLEUS O-PHOS COM <i>Bradyrhizobium japonicum</i> FASE LABORATÓRIAL	287
CULTIVATION OF MICROALGAE USING HYDROPONIC FERTILIZERS SUPPLEMENTED WITH YEAST EXTRACT.....	288
DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE INOCULANTES ESPECÍFICOS FORMULADOS CON MICROORGANISMOS SELECCIONADOS POR ZONA	289

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE INOCULANTES CONTENDO <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899 PARA A CULTURA DO FEIJOEIRO	290
EFEITOS DA COINOCULAÇÃO DE QUATRO DIFERENTES ESPÉCIES BACTERIANAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NA CULTURA DO MILHO.....	291
ESTIRPES DE RIZÓBIO CONTRIBUEM PARA AUMENTO DA PRODUTIVIDADE E RENTABILIDADE DO FEIJOEIRO-COMUM	292
EVALUACION DE <i>Azotobacter</i> sp. COMO BACTERIA FIJADORA DE NITROGENO, ECOTECNOLOGIA PARA EL SECTOR AGRICOLA COLOMBIANO ETAPA 1.....	293
MICRORGANISMOS NA PRODUÇÃO DE BIOFERTILIZANTES A PARTIR DE COPRODUTOS DO XISTO	294
OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO MIXOTRÓFICO PARA PRODUÇÃO DE LIPÍDEOS, PROTEÍNAS E BIOMASSA DA <i>Neochloris oleoabundans</i>	295
PRODUCCIÓN DE <i>Azospirillum brasilense</i> 1229 EN CULTIVO SÓLIDO A ESCALA SEMI-PILOTO.....	296
PRODUTIVIDADE DE SOJA PRÉ-INOCULADA COM <i>Bradyrhizobium japonicum</i> EM CONDIÇÃO DE CAMPO	297
RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA À COINOCULAÇÃO, DIFERENTES FORMULAÇÕES E FORMAS DE INOCULAÇÃO	298
SOBREVIVÊNCIA DE <i>Bradyrhizobium</i> EM SEMENTES PRÉ-INOCULADAS DE SOJA NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE AGROTÓXICOS	299
STRAIN SPECIFIC PCR ASSAY FOR THE DETERMINATION OF NODULE OCCUPANCY OF GRAIN LEGUMES BY THE ELITE-STRAIN BR 3262 IN GHANA.....	300

THE USE OF STARCH/FIBER-BASED FOAM AS INOCULANT CARRIER FOR <i>Azospirillum brasilense</i>	301

USO DE INOCULANTES BACTERIANOS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA TORTA DE PINHÃO-MANSO	302

VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO DE CONCENTRAÇÃO E PUREZA DE INOCULANTES CONTENDO RIZÓBIOS EM PLACAS POR ESPALHAMENTO	303

SESSÃO PÔSTER VII: ENSINO, DIFUSÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA DE INOCULAÇÃO PARA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM SOJA	307

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA SOBRE INOCULAÇÃO EM SOJA EM PARCERIA ENTRE EMBRAPA E EMATER	308

ÍNDICE DE AUTORES	309

PROGRAMAÇÃO

6 de junho, segunda-feira (manhã)

Horário	Atividade
7 h	Inscrições e entrega de material Obs.: Todos os slides serão em inglês e as palestras em português, espanhol ou inglês
8 h – 8h45	Sessão de abertura
8h45 – 10h15	Sessão I – Biodiversidade e Taxonomia Moderador: Lucy Seldin (UFRJ, Brasil) 1) Taxonomia de rizóbios na era genômica Ernesto Aldo Ormeño-Orrillo (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 2) Explorando simbioses tolerantes a estresses ambientais Graham O'Hara (Murdoch University, Austrália) 3) O novo mundo das burkholderias Fábio Bueno dos Reis Junior (Embrapa Cerrados, Brasil)
10h15 – 10h45	Intervalo – Coffee break
10h45 – 11h45	Sessão I – Biodiversidade e Taxonomia (Continuação) 4) A riqueza microbiana dos Andes: Explorável e com impacto econômico e ambiental Doris Elizabeth Zuñiga Dávila (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 5) Microrganismos associados com Lotus na implantação de pastagens: Estabilidade das comunidades e uso tecnológico Ana Bernardino Menéndez (Universidad de Buenos Aires/ CONICET, Argentina)
11h45 – 13h30	Almoço (livre)

6 de junho, segunda-feira (tarde)

Horário	Atividade
13h30 – 15h	Sessão II – Ciências “Ômicas” Moderador: Jesiane S. S. Batista (UEPG, Brasil) 1) Análise genética de um modelo rizóbio-plasmídeo-mobiloma em escala megabase: Conteúdo de gene e relações evolucionárias Antonio Lagares (Universidad Nacional de La Plata/CONICET, Argentina) 2) Organização genômica dos sistemas flagelares em <i>Bradyrhizobium</i> spp. Aníbal Roberto Lodeiro (Universidad de La Plata, Argentina) 3) EPS, KPS e LPS: Consenso sobre a importância? Maribel E. Parada Ibañez (Universidad de La Frontera de Temuco, Chile)
15h – 15h30	Intervalo – Café, chá e sucos
15h30 – 17h	Sessão II – Ciências “Ômicas” (Continuação) 1) Quanto avançamos no conhecimento sobre a regulação dos genes <i>nodD</i>? Manuel Megías (Universidad de Sevilla, Espanha) 2) A luta dos rizóbios por ferro Elena Fabiano (Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguai) 3) Genômica e genômica funcional de rizóbios selvagens e experimentalmente evoluídos, de vida livre e em comunidades bacterianas Esperanza Martínez-Romero (Centro de Ciencias Genómicas, México)
17h – 19h	Sessão Pôster (português, espanhol, inglês) e Happy hour

7 de junho, terça-feira (manhã)

Horário	Atividade
8h30 – 10h	Sessão III – FBN em Não-Leguminosas Moderador: Segundo Sacramento Urquiaga Caballero (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) O gênero <i>Azospirillum</i>: Da genômica à produção de insumos biológicos Fabrício Dario Cassán (Universidad Nacional de Rio Cuarto, Argentina) 2) Rizóbios em não-leguminosas: Uma nova esperança? Enilson Saccol de Sá (UFRGS, Brasil) 3) <i>Azospirillum</i> no Uruguai: Grande experiência em um pequeno país Carlos Alberto Labandera (ex-MGAP, Uruguai)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 11h30	Sessão IV – Coquetéis de Microrganismos para um Buffet de Plantas e Possibilidades Moderador: Arnaldo Colozzi Filho (IAPAR, Brazil) 1) Perspectivas para a cana-de-açúcar Verônica Massena Reis (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 2) Inoculantes microbianos fazendo a diferença em Cuba Maria Caridad Nápoles (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba)
11h30 – 13h	Almoço (livre)
13h – 13h30	Assembleia da ALAR

7 de junho, terça-feira (tarde)

Horário	Atividade
13h30 – 15h	Sessão V – Estratégias para a Obtenção de Plantas Hospedeiras com Maior Capacidade de FBN Moderador: Elena Beyhaut (INIA, Uruguai) 1) Eficiência do uso de fósforo na fixação simbiótica do N₂ para o acomplamento dos ciclos biogeoquímicos em agroecossistemas com leguminosas Jean Jacques Drevon (INRA, França) 2) O desafio das mudanças climáticas globais: Seleção para FBN sob déficit hídrico Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brasil) 3) Interações simbióticas entre feijoeiro e rizóbios nas Américas Mario O. Aguilar (Universidad de La Plata, Argentina)
15h – 15h30	Intervalo – Café, chá e sucos
15h30 – 17h	Sessão VI – Quantificando e “Qualificando” a FBN Moderador: Jerri E. Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) Benefícios pela rotação de culturas com leguminosas fixadoras de nitrogênio: Universais ou com ressalvas? David Francis Herridge (University of New England/Primary Industries Innovation Center, Austrália) 2) Quantificação da FBN em não-leguminosas Robert Michael Boddey (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 3) FBN em cereais: Uma visão perspectiva e prospectiva Frans J. de Bruijn (INRA/CNRS, França)
17h – 19h	Sessão Pôster (português, espanhol, inglês) e Happy hour

8 de junho, quarta-feira (manhã)

Horário	Atividade
8h30 – 10h	Sessão VII – Planejando o Futuro: Difusão e Transferência de Tecnologias e Formação de Recursos Humanos Moderador: Krisle da Silva (Embrapa Roraima, Brasil) 1) A fixação de nitrogênio a trabalho dos pequenos agricultores na África – N2Africa Ken E. Giller (University of Wageningen, Holanda) 2) Ações de difusão de tecnologia para incrementar o uso de inoculantes no Brasil: Novas ideias e novas ferramentas Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 3) BIOFAG e AGROMICROBIOS: Evolução em redes de pesquisa em biofertilizantes Juan Sanjuán Pinilla (Estación Experimental de Zaidín, Espanha)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 12h	Sessão VII – Planejando o Futuro: Difusão e transferência de Tecnologias e Formação de Recursos Humanos (Continuação) 1) Quanto podemos avançar em transferência de tecnologia em FBN entre países? Experiências na África Steve K. Boahen (IITA, Moçambique) 2) Construindo capacitação humana em FBN na África: Oportunidades de colaboração Sul-Sul Felix Dapare Dakora (Tshwane University of Technology, África do Sul) 3) Como formar e motivar uma nova geração de profissionais na microbiologia do solo? Glaciela Kaschuk (UFPR, Brasil)
12h – 13h30	Almoço (livre)

8 de junho, quarta-feira (tarde)

Horário	Atividade
13h30 – 15h	Sessão VIII – Soja: o Carro-Chefe da FBN na América do Sul Moderador: Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brazil) 1) Impacto da inoculação e da FBN em soja na Argentina Alejandro Perticari (Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola-INTA, Argentina) 2) Fixação do nitrogênio em soja: A simbiose perfeita? Fábio Martins Mercante (Embrapa Agropecuária Oeste, Brasil) 3) FBN com a soja no Uruguai: Contribuição para uma agricultura sustentável em um novo cenário de intensificação Elena Beyhaut (INIA, Uruguai)
15h – 15h30	Intervalo – Café, chá e sucos
15h30 – 17h	Sessão IX – A FBN em Culturas de Menor Impacto Econômico e Grande Importância Social e Ambiental Moderador: Luc Felicianus Marie Rouws (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) Rizóbios para forrageiras, adubos verdes e arbóreas no Brasil: Oportunidades para o sequestro de carbono Jerri Édson Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 2) Existe esperança para a FBN com o feijoeiro? Iêda Carvalho Mendes (Embrapa Cerrados, Brasil) 3) Simbiose <i>Phaseolus lunatus</i> x rizóbio: Perspectivas e potencial para produção de grãos para a agricultura familiar Ademir C. F. Araújo (Universidade Federal do Piauí, Brasil)
17h – 19h	Sessão Pôster (português, espanhol, inglês) e Happy hour

9 de junho, quinta-feira (manhã)

Horário	Atividade
8h30 – 10h	Sessão X – Indústria e Negócios Moderador: Enderson Petronio de Brito Ferreira (Embrapa Arroz e Feijão, Brasil) 1) Os inoculantes sobreviverão à nova realidade corporativa das multinacionais? Solon Cordeiro Araújo (Consultor da ANPIL, Brasil) 2) Pré-inoculação da soja: Oportunidades e ameaças Gustavo Gonzalez Anta (Rizobacter, Argentina) 3) Microalgas: matéria-prima de energia renovável para aplicação em bioenergia e agricultura Diva de Souza Andrade (IAPAR, Brasil)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 11h30	Sessão X – Indústria e Negócios (Continuação) 1) Há espaço para pequenas indústrias de inoculantes na América Latina? Renato Valenzuela Bedregal (Agroindustrias Lucano SRL, Bolívia) 2) Academia x Indústria: Desafios de adaptação de escala e de obtenção de resultados Ricardo Silva Araujo (Total Biotecnologia, Brasil)
11h30 – 12h10	Palestra de encerramento Moderador: Mariangela Hungria Homenagem a Federico Sánchez Rodríguez Mais de um século de inoculantes: Da bactéria à molécula Manuel Megías (Universidad de Sevilla, Espanha)
12h10 – 12h30	Apresentação da próxima RELAR Encerramento

6 de junio, lunes (mañana)

Horario	Actividad
7 h	Inscripciones y entrega de material Obs.: Todas las diapositivas serán en inglés y las disertaciones en portugués, español o inglés
8 h – 8h45	Sesión de apertura
8h45 – 10h15	Sesión I – Biodiversidad y Taxonomía Moderador: Lucy Seldin (UFRJ, Brasil) 1) Taxonomía de rizobios en la era genómica Ernesto Aldo Ormeño-Orrillo (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 2) Explorando simbiosis tolerantes a estreses ambientales Graham O’Hara (Murdoch University, Australia) 3) El nuevo mundo de las burkholderias Fábio Bueno dos Reis Junior (Embrapa Cerrados, Brasil)
10h15 – 10h45	Intervalo – Coffee break
10h45 – 11h45	Sesión I – Biodiversidad y Taxonomía (Continuación) 4) La riqueza microbiana de los Andes: Explorable y con impacto económico y ambiental Doris Elizabeth Zuñiga Dávila (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 5) Microorganismos del suelo asociados a pasturas en implantación: Estabilidad de las comunidades y el uso tecnológicos Ana Bernardino Menéndez (Universidad de Buenos Aires/ CONICET, Argentina)
11h45 – 13h30	Almuerzo (libre)

6 de junio, lunes (tarde)

Horario	Actividad
13h30 – 15h	Sesión II – Ciencias “Ómicas” Moderador: Jesiane S. S. Batista (UEPG, Brasil) 1) El análisis genético de un modelo de rizobios-plásmido-mobilome en la escala megabase: El contenido de genes y relaciones evolutivas Antonio Lagares (Universidad Nacional de La Plata/CONICET, Argentina) 2) Organización genómica de los sistemas flagelares en <i>Bradyrhizobium</i> spp. Aníbal Roberto Lodeiro (Universidad de La Plata, Argentina) 3) EPS, KPS y LPS: ¿Consenso sobre la importancia? Maribel Parada Ibañez (Universidad de La Frontera de Temuco, Chile)
15h – 15h30	Intervalo – Café, té y jugos
15h30 – 17h	Sesión II – Ciencias “Ómicas” (Continuación) 4) ¿Cuánto avanzamos en el conocimiento de la regulación de los genes <i>nodD</i>? Manuel Megías (Universidad de Sevilla, España) 5) La lucha de los rizobios por hierro Elena Fabiano (Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay) 6) La genómica y genómica funcional de rizobios salvajes y experimentalmente evolucionados, de vida libre y en las comunidades bacterianas Esperanza Martínez-Romero (Centro de Ciencias Genómicas, México)
17h – 19h	Sesión Poster (portugués, español, inglés) y Happy hour

7 de junho, martes (mañana)

Horario	Actividad
8h30 – 10h	Sesión III - FBN en No-Leguminosas Moderador: Segundo Sacramento Urquiaga Caballero (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) El género <i>Azospirillum</i>: De la genómica a la producción de bioinsumos Fabrício Dario Cassán (Universidad Nacional de Rio Cuarto, Argentina) 2) Rizobios en no-leguminosas: ¿Una nueva esperanza? Enilson Saccol de Sá (UFRGS, Brasil) 3) <i>Azospirillum</i> en Uruguay: Gran experiencia en un pequeño país Carlos Alberto Labandera (ex-MGAP, Uruguay)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 11h30	Sesión IV – Cocteles de Microorganismos para un Buffet de Plantas y Posibilidades Moderador: Arnaldo Colozzi Filho (IAPAR, Brasil) 1) Perspectivas para la caña de azúcar Verônica Massena Reis (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 2) Inoculantes microbianos haciendo la diferencia en Cuba Maria Caridad Nápoles (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba)
11h30 – 13h	Almuerzo (libre)
13h – 13h30	Asamblea de ALAR

7 de junho, martes (tarde)

Horario	Actividad
13h30 – 15h	Sesión V – Estrategias para la Obtención de Plantas Hospederas con Mayor Capacidad de FBN Moderador: Elena Beyhaut (INIA, Uruguay) 1) Eficiencia de utilización del fósforo en la fijación simbiótica de N₂ para el acoplamiento de los ciclos biogeoquímicos en agroecosistemas con leguminosas Jean Jacques Devron (INRA, Francia) 2) El desafío de los cambios climáticos globales: Selección para FBN bajo déficit hídrico Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brasil) 3) Interacciones simbióticas entre frijol y rizobios en las Américas Mario O. Aguilar (Universidad de La Plata, Argentina)
15h – 15h30	Intervalo – Café, té y jugos
15h30 – 17h	Sesión VI – Cuantificando y “Cualificando” la FBN Moderador: Jerri E. Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) Beneficios de la rotación de cultivos con leguminosas fijadoras de nitrógeno: ¿Universales o con restricciones? David Francis Herridge (University of New England/Primary Industries Innovation Center, Australia) 2) Cuantificación de la FBN en non-leguminosas Robert Michael Boddey (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 3) FBN en cereales: una visión perspectiva y prospectiva Frans J. de Bruijn (INRA/CNRS, Francia)
17h – 19h	Sesión Poster (portugués, español, inglés) y Happy hour

8 de junho, miercoles (mañana)

Horario	Actividad
8h30 – 10h	Sesión VII – Planeando el Futuro: Difusión y Transferencia de Tecnologías y Formación de Recursos Humanos Moderador: Krisle da Silva (Embrapa Roraima, Brasil) 1) La fijación de nitrógeno trabajando para los pequeños agricultores en África - N2Africa Ken E. Giller (University of Wageningen, Holanda) 2) Acciones de difusión de tecnología para incrementar el uso de inoculantes en Brasil: Nuevas ideas y nuevas herramientas Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 3) BIOFAG y AGROMICROBIOS: Evolución en redes de investigación en biofertilizantes Juan Sanjuán Pinilla (Estación Experimental de Zaidín, España)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 12h	Sesión VII – Planeando el Futuro: Difusión y transferencia de Tecnologías y Formación de Recursos Humanos (Continuación) 1) ¿Cuánto podemos avanzar en transferencia de tecnología en FBN entre países? Experiencias en África Steve K. Boahen (IITA, Mozambique) 2) Construyendo capacitación humana en FBN en África: Oportunidades de colaboración Sur-Sur Felix Dapare Dakora (Tshwane University of Technology, África del Sur) 3) ¿Cómo formar y motivar una nueva generación de profesionales en microbiología del suelo? Glaciela Kaschuk (UFPR, Brasil)
12h – 13h30	Almuerzo (libre)

8 de junho, miercoles (tarde)

Horario	Actividad
13h30 – 15h	Sesión VIII – Soja: el Motor Principal de la FBN en América del Sur Moderador: Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brasil) 1) Impacto de la inoculación y FBN en soja en Argentina Alejandro Perticari (Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola-INTA, Argentina) 2) Fijación de nitrógeno en soja: ¿La simbiosis perfecta? Fábio Martins Mercante (Embrapa Agropecuária Oeste, Brasil) 3) FBN por la soja en Uruguay: Contribución a la agricultura sostenible en un nuevo escenario de intensificación Elena Beyhaut (INIA, Uruguay)
15h – 15h30	Intervalo – Café, té y jugos
15h30 – 17h	Sesión IX – La FBN en Cultivos de Menor Impacto Económico y Gran Importancia Social y Ambiental Moderador: Luc Felicianus Marie Rouws (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 1) Rizobios para forrajeras, abonos verdes y arbóreos en Brasil: Oportunidades para el secuestro de carbono Jerri Édson Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brasil) 2) ¿Existe esperanza para la FBN en frijol? Iêda Carvalho Mendes (Embrapa Cerrados, Brasil) 3) Simbiosis <i>Phaseolus lunatus</i> x rizobio: Perspectivas y potencial para producción de granos para la agricultura familiar Ademir C. F. Araújo (Universidade Federal do Piauí, Brasil)
17h – 19h	Sesión Poster (portugués, español, inglés) y Happy hour

9 de junho, jueves (mañana)

Horario	Actividad
8h30 – 10h	Sesión X – Industria y Negocios Moderador: Enderson Petronio de Brito Ferreira (Embrapa Arroz e Feijão, Brasil) 1) ¿Los inoculantes sobrevivirán a la nueva realidad corporativa de las multinacionales? Solon Cordeiro Araújo (Consultor, ANPIL, Brasil) 2) Pre-inoculación del cultivo de soja: Oportunidades y amenazas Gustavo Gonzalez Anta (Rizobacter, Argentina) 3) Las microalgas: materia prima de energía renovable para la aplicación en bioenergía y agricultura Diva de Souza Andrade (IAPAR, Brasil)
10h – 10h30	Intervalo – Coffee break
10h30 – 11h30	Sesión X – Industria e Negocios (Continuación) 1) ¿Hay espacio para pequeñas industrias de inoculantes en América Latina? Renato Valenzuela Bedregal (Agroindustrias Lucano SRL, Bolivia) 2) Academia x Industria: Desafíos de adaptación de escala y de obtención de resultados Ricardo Silva Araujo (Total Biotecnologia, Brasil)
11h30 – 12h10	Disertación de cierre Homenaje a Federico Sánchez Rodríguez Más de un siglo de inoculantes: De la bacteria a la molécula Manuel Megías (Universidad de Sevilla, España)
12h10 – 12h30	Presentación de la próxima RELAR Cierre

June 6, Monday (forenoon)

Schedule	Activity
7 a.m.	Registration and pick up of materials Note: all slides must be in English; talks may be given in Portuguese, Spanish or English
8 – 8:45 a.m.	Opening session
8:45 – 10:15 a.m.	Session I – Biodiversity and Taxonomy Moderator: Lucy Seldin (UFRJ, Brazil) 1) Taxonomy of rhizobia in the genomic era Ernesto Aldo Ormeño-Orrillo (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 2) Exploiting symbioses which are tolerant to environmental stresses Graham O'Hara (Murdoch University, Australia) 3) The new world of burkholderias Fábio Bueno dos Reis Junior (Embrapa Cerrados, Brazil)
10:15 – 10:45 a.m.	Coffee break
10:45 – 11:45 a.m.	Session I – Biodiversity and Taxonomy (Continuation) 4) Microbial richness of the Andes: Useful and with economic and environmental impact Doris Elizabeth Zuñiga Dávila (Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú) 5) Lotus associated soil microorganism in pasture implantation: Communities stability and technology use Ana Bernardino Menéndez (Universidad de Buenos Aires/ CONICET, Argentina)
11:45 – 13:30 p.m.	Lunch (on your own)

June 6, Monday (afternoon)

Schedule	Activity
1:30 – 3 p.m.	Session II – “Omics” Sciences Moderator: Jesiane S. S. Batista (UEPG, Brazil) 1) Genetic analysis of a model rhizobial-plasmid-mobilome at the megabase scale: Gene content and evolutionary relationships Antonio Lagares (Universidad Nacional de La Plata/CONICET, Argentina) 2) Genomic organization of flagellar systems in <i>Bradyrhizobium</i> spp. Anibal Roberto Lodeiro (University of La Plata, Argentina) 3) EPS, KPS and LPS: Is there a consensus about their importance? Maribel E. Parada Ibañez (Universidad de La Frontera de Temuco, Chile)
3 – 3:30 p.m.	Coffee, tea, juices
3:30 – 5 p.m.	Session II – “Omics” Sciences (Continuation) 1) How far have we gone in understanding the regulation of <i>nodD</i> genes? Manuel Megías (Universidad de Sevilla, Spain) 2) <i>Rhizobium</i> quest for iron Elena Fabiano (Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay) 3) Genomics and functional genomics of wild and experimentally evolved rhizobia, free-living and in bacterial communities Esperanza Martínez-Romero (Centro de Ciencias Genómicas, Mexico)
5 – 7 p.m.	Poster Session (Portuguese, Spanish, English) and Happy hour

June 7, Tuesday (forenoon)

Schedule	Activity
8:30 – 10 a.m.	Session III – BNF in Non-Legumes Moderator: Segundo Sacramento Urquiaga Caballero (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 1) The genus <i>Azospirillum</i>: From genomics to the production of agricultural inputs Fabrício Dario Cassán (Universidad Nacional de Rio Cuarto, Argentina) 2) Rhizobia in non-legumes: A new hope? Enilson Saccol de Sá (UFRGS, Brazil) 3) <i>Azospirillum</i> in Uruguay: Great experiences in a small country Carlos Alberto Labandera (ex-MGAP, Uruguay)
10 – 10:30 a.m.	Coffee break
10:30 – 11:30 a.m.	Session IV – Microbial Cocktails for a Buffet of Plants and Possibilities Moderator: Arnaldo Colozzi Filho (IAPAR, Brazil) 1) Perspectives for the sugarcane Verônica Massena Reis (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 2) Microbial inoculants making a difference in Cuba Maria Caridad Nápoles (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba)
11:30 – 1 p.m.	Lunch (on your own)
1 – 1:30 p.m.	Assembly of ALAR

June 7, Tuesday (afternoon)

Schedule	Activity
1:30 – 3 p.m.	Session V – Strategies to Obtain Host Plants with Improved BNF Capacity Moderator: Elena Beyhaut (INIA, Uruguay) 1) Phosphorus use efficiency in symbiotic N₂ fixation for coupling bio-geochemical cycles in agrosystems with legumes Jean Jacques Drevon (INRA, France) 2) The challenge of the global climatic changes: Screening for BNF under water stress Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brazil) 3) Symbiotic interactions between common bean and rhizobia in the Americas Mario O. Aguilar (Universidad de La Plata, Argentina)
3 – 3:30 p.m.	Coffee, tea, juices
3:30 – 5 p.m.	Session VI – Quantifying and “Qualifying” BNF Moderator: Jerri E. Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 1) Rotational benefits of legume nitrogen fixation: Universal or with caveats? David Francis Herridge (University of New England/Primary Industries Innovation Center, Australia) 2) Quantification of BNF in non-legumes Robert Michael Boddey (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 3) BNF in cereals: A perspective and prospective overview Frans J. de Bruijn (INRA/CNRS, France)
5 – 7 p.m.	Poster Session (Portuguese, Spanish, English) and Happy hour

June 8, Wednesday (forenoon)

Schedule	Activity
8:30 – 10 a.m.	Session VII – Plans for the Future: Transfer and Deployment of Technologies and Training of Human Resources Moderator: Krisle da Silva (Embrapa Roraima, Brazil) 1) Putting nitrogen fixation to work for smallholder farmers in Africa - N2Africa Ken E. Giller (University of Wageningen, The Netherlands) 2) Affirmative actions to increase the application of the technology of inoculation in Brazil: New ideas and new tools Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 3) BIOFAG and AGROMICROBIOS: Evolution in networking research in biofertilizers Juan Sanjuán Pinilla (Estación Experimental de Zaidín, Spain)
10 – 10:30 a.m.	Coffee break
10:30 – 12 p.m.	Session VII - Plans for the Future: Transfer and Deployment of Technologies and Training of Human Resources (Continuation) 1) How far can we go in transferring BNF Technologies among countries? The African experience Steve K. Boahen (IITA, Mozambique) 2) Building human capacity in BNF in Africa: Opportunities for South-South cooperation Felix Dapare Dakora (Tshwane University of Technology, South Africa) 3) How to prepare and motivate a new generation of professionals in soil microbiology? Glaciela Kaschuk (UFPR, Brazil)
12 – 1:30 p.m.	Lunch (on your own)

June 8, Wednesday (afternoon)

Schedule	Activity
1:30 – 3 p.m.	Session VIII – Soybean: The BNF Leader in South America Moderator: Marco Antonio Nogueira (Embrapa Soja, Brazil) 1) Impacts of soybean inoculation and BNF in Argentina Alejandro Perticari (Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola-INTA, Argentina) 2) Nitrogen fixation in soybean: The perfect symbiosis? Fábio Martins Mercante (Embrapa Agropecuária Oeste, Brazil) 3) BNF by soybeans in Uruguay: Contribution to a sustainable agriculture in a new scenario of intensification Elena Beyhaut (INIA, Uruguay)
3 – 3:30 p.m.	Coffee, tea, juices
3:30 – 5 p.m.	Session IX – BNF in Crops with Lower Economic Impact but Great Social and Environmental Importance Moderator: Luc Felicianus Marie Rouws (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 1) Rhizobia for forages, green manures, and trees in Brazil: Opportunities for carbon sequestration Jerri Édson Zilli (Embrapa Agrobiologia, Brazil) 2) Is there any hope for the BNF with common bean? Iêda Carvalho Mendes (Embrapa Cerrados, Brazil) 3) Phaseolus lunatus x rhizobia symbiosis: Perspectives and potential for grain production in family agriculture Ademir C. F. Araújo (Universidade Federal do Piauí, Brazil)
5 – 7 p.m.	Poster Session (Portuguese, Spanish, English) and Happy hour

June 9, Thursday (forenoon)

Schedule	Activity
8:30 – 10 a.m.	Session X – Industry and Business Moderator: Enderson Petronio de Brito Ferreira (Embrapa Arroz e Feijão, Brazil) Will inoculants survive the new corporative reality of international companies? Solon Cordeiro Araújo (Consultor, ANPIL, Brazil) 1) Pre-inoculation of soybean: Opportunities and threats Gustavo Gonzalez Anta (Rizobacter, Argentina) 2) Microalgae: renewable energy feedstock for bioenergy and agricultural application Diva de Souza Andrade (IAPAR, Brazil)
10 – 10:30 a.m.	Coffee break
10:30 – 11:30 a.m.	Session X – Industry and Business (Continuation) 1) Is there room for small inoculant industries in Latin America? Renato Valenzuela Bedregal (Agroindustrias Lucano SRL, Bolivia) 2) Academy vs Industry: How to do scale up and still obtain results Ricardo Silva Araujo (Total Biotecnologia, Brazil)
11:30 – 12:10 p.m.	Closing Talk Tribute to Federico Sánchez Rodríguez Over one century of inoculants: From the bacterium to the molecule Manuel Megías (Universidad de Sevilla, Spain)
12:10 – 12:30 p.m.	Presentation of the next RELAR Closing Session

RESUMOS DAS PALESTRAS

SESSÃO I

BIODIVERSIDADE E TAXONOMIA

TAXONOMÍA DE RIZOBIOS EN LA ERA GENÓMICA

Ernesto Ormeño-Orrillo

Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, eormeno@lamolina.edu.pe

Mucho ha cambiado desde que en taxonomía de rizobios se utilizaba la especie de leguminosa hospedera como criterio de clasificación. Se ha pasado por varias fases como la taxonomía numérica y la taxonomía polifásica, y los análisis de diferentes marcadores moleculares se han sucedido en el tiempo como el de los genes ribosomales, los genes “housekeeping” en forma individual y el análisis multilocus de secuencias. Ahora, en la era genómica, se analizan además secuencias genómicas completas o casi completas. La información genómica está enriqueciendo nuestra capacidad de clasificar y de describir especies de rizobios. El uso más extendido de las secuencias genómicas en taxonomía de rizobios ha sido para el cálculo de medidas de similitud genómica para reemplazar a la hibridación ADN-ADN (DDH por sus siglas en inglés) que por muchos años fue el estándar de oro en taxonomía. La identidad nucleotídica promedio (ANI por sus siglas en inglés) ha sido la medida de similitud genómica más adoptada seguida por el DDH *in silico* o “digital”. En comparación a técnicas experimentales, las secuencias genómicas permiten también obtener un estimado más exacto de otro parámetro taxonómico, el contenido porcentual de G+C. Más allá del cálculo de similitudes o de la estimación de parámetros, las secuencias genómicas permiten determinar las relaciones filogenéticas entre rizobios con mayor robustez a través de los análisis filogenómicos que hacen uso de un mayor número de marcadores moleculares en comparación a los análisis filogenéticos tradicionales. Dado que el uso de fenotipos arbitrarios como criterios de diferenciación entre especies de rizobios ha sido criticado, podría esperarse la genómica comparativa de un número suficientemente alto de cepas de dos especies pueda predecir fenotipos reproducibles y constantes para discriminar dichas especies. Proyectos en marcha como GEBA-RNB que permitirá contar con las secuencias genómicas de cepas tipo de rizobios y el abaratamiento de los costos de secuenciación masiva contribuirán a hacer un uso cada más frecuente de la información genómica para la taxonomía de rizobios. Apoyo financiero: se agradece a PNICP (contrato 449-PNCIP-BRI-2014) y FONDECYT (Contrato 238-2015).

Palabras clave: Genomotaxonomía; Sistemática; Fenotipo.

EXPLOITING SYMBIOSES WHICH ARE TOLERANT TO ENVIRONMENTAL STRESSES

Graham O'Hara, Jason Terpolilli, Sofie De Meyer, Tim Haskett,
Ron Yates, Brad Nutt, John Howieson

Centre For Rhizobium Studies, Murdoch University, Perth,
Australia, gohara@murdoch.edu.au

Crop, pasture and forage legumes are important components in agricultural systems. Symbiotic N₂ fixation is often essential for legume establishment, productivity and sustainability. Environmental stress from soils (e.g. acidity, alkalinity, poor structure, poor fertility, hydrophobicity) and climate (e.g. high/low temperatures, too much/too little rain) limit legumes because of effects on their rhizobia, the symbiosis and the plant. The environmental constraints for many crop and pasture legumes are known. One approach to increase the use and productivity of legumes in agricultural systems in stressful environments is to investigate the natural resource base of tolerant symbioses, both new legumes and tolerant rhizobia. These are providing new germplasm for the development of useful legumes to enable farmers to improve benefits from current legumes and grow new legumes in soils and situations where they currently cannot. A second approach is to develop innovative management strategies based on deep knowledge of the biology of the legumes and their symbioses. A third approach is to utilise technical advances and knowledge from the molecular revolution to develop robust stable effective rhizobia strains for inoculants. Examples from current programs at the Centre for *Rhizobium* Studies will be discussed to illustrate the opportunities and challenges of these three approaches. One example of the first approach is the development of herbaceous perennial legumes (e.g. *Lebeckia* spp.) originating in southern Africa and nodulated by novel *Burkholderia* spp. for their potential role in providing green feed in autumn and late spring. Target soils do not sustain traditional legumes (e.g. lucerne, white clover, lotus) because of abiotic stresses such as low pH, low clay content, low nutrient status and low rainfall. A second example of targeted accessing of the natural resource base is the use of natural acid tolerant rhizobia to expand opportunities for *Pisum* and *Cicer* on acid soils. For the second approach, knowledge of legume hardseededness (e.g. *Ornithopus* & *Biserrula*) is being combined with innovative inoculant technologies and practices. For the third approach, new knowledge of mechanisms of gene transfer in rhizobia is being exploited, with a focus on *Mesorhizobium* spp.

Keywords: *Rhizobia; Inoculants; Innovation.*

THE NEW WORLD OF THE BURKHOLDERIAS

Fábio Bueno dos Reis Junior¹, Euan Kevin James²

¹Embrapa Cerrados, Planaltina, Brazil, fabio.reis@embrapa.br;

²The James Hutton Institute, UK

The history of the burkholderias started in the 1940s when Walter H. Burkholder described two pythopathogenic bacteria, later known as *Pseudomonas caryophylli* and *P. cepacia*. For many years members of the genus *Burkholderia* were classified as *Pseudomonas* spp., until 1992 when genotypic analyses allowed the separation of both genera. After that, a large number of species have been included in the genus *Burkholderia*. Bacteria from this genus are very abundant and can be found in various ecological niches, such as soil, rhizosphere, plants, fungi, insects, humans and hospital environments. Although it is known that some species of *Burkholderia* are associated with plant or human diseases, most of them can be beneficial. Their biological and metabolic properties, such as siderophore secretion, antibiotic production, plant defence elicitors, N₂-fixation, phosphate solubilisation, ACC deaminase activity and production of phytohormones can be exploited for biological control of plant diseases, bioremediation and plant growth promotion. Fifteen years ago it was discovered that members from *Burkholderia* were able to nodulate and form effective symbiosis with leguminous plants. For the first time bacteria outside the order Rhizobiales and the Alphaproteobacteria class were confirmed as being legume-nodulating. This was the rising of the so called Beta-Rhizobia. Since 2005 we have been investigating this association in Brazil, mainly by studying the legume genus *Mimosa*, one of the largest genera in the sub-family Mimosoideae, with about 450 species native to Central and South America. We found that *Burkholderia* spp. are the main symbionts of *Mimosa* in Brazil. Their *nifH* genes are related to those of free-living burkholderias which suggests that symbiotic members of this genus didn't acquire their nitrogen fixing capabilities from Alpha-Rhizobia, but added nodulation to pre-existing N-fixing capabilities. Additionally, the *nodC* genes of *Burkholderia* associated with *Mimosa* form a monophyletic group and it is possible that the symbiotic genes came from a unique acquisition. It seems that *Burkholderia* species differ in environmental preference not host specificity and endemic Cerrado/Caatinga spp. cannot form effective symbioses with other bacteria. With our results to date it is possible to hypothesise that symbiosis between Beta-Rhizobia and *Mimosa* makes a valuable contribution to the N-cycle of the fragile ecosystems of the Cerrado and the Caatinga.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation; Plant Growth Promotion; Beta-rhizobia.

LA RIQUEZA MICROBIANA DE LOS ANDES: EXPLORABLE Y CON IMPACTO ECONÓMICO Y AMBIENTAL

Doris Zúñiga-Dávila

Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, dzuniga@lamolina.edu.pe

El Perú es un país megadiverso por su gran variedad de recursos vivos y ecosistemas. Gracias a su riqueza biológica, es ubicado como los más destacados en diversidad biológica, posicionándolo entre los primeros lugares; esto lo pone en ventaja comparativa en lo referente a la seguridad alimentaria, la seguridad de la salud (plantas medicinales); y la seguridad global en lo referente al cambio climático (Brack, 2013). La biodiversidad produce bienes y servicios para satisfacer nuestras necesidades, y dentro de las más destacables es el aporte de alimentos para las poblaciones rurales y urbanas. Cerca del 65% de la agricultura nacional depende de los recursos genéticos nativos, como la papa, maíz, camote, granos andinos (quinoa, kiwicha, cañigua), frutales, raíces (arracacha, yacón, maca), cacao, legumbres (pallar, frijol), entre otros. Los Andes peruanos conforman la parte central de la Cordillera de los Andes, atravesando todo el territorio del Perú de norte a sur. Los pisos ecológicos de los Andes peruanos están en relación con su altitud y van desde los 500 hasta 6768 msnm. Las zonas más altas se caracterizan por tener temperaturas muy bajas, presentándose además heladas y granizadas que merman la producción. Por otro lado, los microorganismos del suelo, cumplen un rol fundamental en la naturaleza, son importantes en el reciclaje de nutrientes de ambientes naturales y agrícolas. La fijación biológica de nitrógeno llevada a cabo por determinadas bacterias resulta ser un proceso clave para la nutrición de las plantas, así en las leguminosas se traduce en un alto contenido de proteínas que es importante como fuente de alimento. En el Perú también existe una gran diversidad de suelos y de microorganismos presentes en el. La abundancia de la flora microbiana en cada uno de ellos dependerá no solo de las características físicoquímicas del suelo y de las condiciones climáticas, sino también del cultivo y de sus etapas fenológicas. En el LEMYB se viene trabajando con cepas de rizobios aisladas de nódulos de frijol y pallar, así como con bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) aisladas de la rizósfera de los cultivos andinos (papa, maca, quinua) tales como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *actinomicetos*, entre otras, las cuales pueden producir ácido indol acético, solubilizar fosfato y controlar hongos fitopatógenos. Una óptima aplicación de estos microorganismos en forma de inoculantes podría mejorar la producción de los cultivos aun en condiciones de estrés, a bajos costos, ser amigables con el ambiente y finalmente contribuir de manera positiva en la seguridad alimentaria y mejorar la calidad de vida de la población. Agradecimiento: FONDECYT-CONCYTEC, 2013, 2015; Innovate Perú 2013, 2015.

Palabras clave: PGPR; Zona Andina; Frijol.

Lotus ASSOCIATED SOIL MICROORGANISM IN PASTURE IMPLANTATION COMMUNITIES STABILITY AND TECHNOLOGICAL USE

Amira S. Nieva¹, Matias Bailleres², Andres Garriz¹, Cristian Antonelli¹,
Maria Paula Campestre¹, Maria Jose Corriale³, Francisco Escaray¹,
Maria Eugenia Llamas¹, Ana B. Menedez³, Oscar A. Ruiz¹

¹IIB INTECH, Chascomus, Argentina, ruiz@intech.gov.ar; ²CEICh; ³FCEN-UBA

The forage legume *Lotus tenuis* is an appealing alternative to meet the needs for cattle production in the Flooding Pampa region, Argentina. The use of chemical compounds for agriculture practices, in addition to the removal of native vegetation, eventually may change the diversity of other ecosystem components such as bacterial communities. To examine the effect of *L. tenuis* promotion with herbicides on the soil bacterial community and taxonomic composition, we studied three different rangeland sites of the Flooding Pampa region. At each site, two paddocks were compared: one managed to promote the forage legume *L. tenuis* and the other lacking of management history and hence, covered by natural grasses. To assess bacterial diversity we used 454-FLX pyrosequencing technology of the V4 region of the 16S rRNA gene and ITS region, on genomic DNA extracted from soil samples. Our results suggest that 5-6 years of land use with *L. tenuis* promotion does not affect the bacterial community structure in this ecosystem, evidenced in the non-differences between the treatments for diversity indices there are a lot of soil microorganism living inside plant tissues. Endophytes microorganism provide a wide range of benefits to their hosts, as nutrient availability, protection from herbivores and pathogens, inorganic carbon and nitrogen fixation and others. Its potential use as biofertilizers can become a sustainable low-cost technology. However it has been shown that endophytes-plant interactions are highly variable in the ecosystem, occurring along the continuum from antagonistic to mutualistic interactions. Fungal endophytes isolated from lotus roots were evaluated according their phosphate solubilizing capability and tolerance to soil extreme conditions. Our results, shown that several strains grow well, in a wide pH range and salinity conditions. Two *Lotus* species were infected by one of the isolated strains. The interaction effect was contrasting between them, evidenced by a growth promotion in one versus a decrease in biomass production in the other one. These results suggest that the use of fungal endophytes as biofertilizers should be studied in depth before its use in a specific host.

Keywords: Pastures in constrained soils; FBN and P solubilization; PGPB and fungi.

SESSÃO II

CIÊNCIAS “ÔMICAS”

GENETIC ANALYSIS OF A MODEL RHIZOBIAL-PLASMID-MOBILOME AT THE MEGABASE SCALE GENE CONTENT AND EVOLUTIONARY RELATIONSHIPS

José Luis López¹, Daniel Wibberg², Gonzalo Torres Tejerizo¹,
María Florencia Del Papa¹, Jochem Blom³, Alexander Goesmann³, Alfred Pühler²,
Andreas Schlüter², Mariano Pistorio³, Antonio Lagares¹

¹Instituto de Biotecnología y Biología Molecular - IBBM, calles 47 y 115,
1900-La Plata, Argentina, lagares@biol.unlp.edu.ar; ²CeBiTec, Universität Bielefeld,
Bielefeld, Germany; ³Bioinformatik und Systembiologie, Liebig, Germany

Bacteria colonize diverse environments and are well recognized by their remarkable capacity to sense, adapt, and respond to different extracellular conditions. While cells in multicellular organisms evolved to perform specific functions under carefully controlled conditions (homeostasis), bacteria - as unicellular organisms - learned on how to live under changing and frequently contrasting environments. These and other reasons present thus bacteria as most valuable systems to investigate biological strategies of adaptation in the short - and in the long - term. In such a context, bacteria with both free and associative styles of life provide extraordinary possibilities to investigate how cells shaped their genomes over evolution to live and persist in diverse niches. Rhizobia are gram negative bacteria that live in the underground and associate with the roots of legumes where they fix atmospheric nitrogen receiving from the plant photosynthetic carbon. Despite the significant amount of knowledge that the scientific community collected on the rhizobia-legume symbioses, we still continue asking questions like “Who” are rhizobia? How do/did they evolve? and more specifically, How informative is our (static) picture of their “moving” genomes?. In order to investigate some of these issues we recently approached the genetic analysis of the cryptic-plasmid mobilome in *S. meliloti*, the model rhizobia that nodulate *Medicago*, *Melilotus*, and *Trigonella* plants. Deep sequence data at the megabase scale revealed the kind of information encoded in cryptic plasmids, the type of genes shared with the more stable replicons (chromosomes, pSymA, pSymB), and the extent to which the information from the plasmid mobilome is also found in other sympatric bacteria associated with the same host plant (alfalfa). Using different analyses, evidences will be presented to show ancestral genetic traces supporting the role of the plasmid mobilome in shaping current structure of the three *S. meliloti* replicons. Financial support: UNLP, CONICET, MinCyT (Argentina), CYTED, DAAD, Alexander von Humboldt Foundation (Germany).

Keywords: *Cryptic-plasmid mobilome; Rhizobia; Horizontal gene transfer.*

ORGANIZACIÓN GENÓMICA DE LOS SISTEMAS FLAGELARES EN *Bradyrhizobium* spp.

Aníbal R. Lodeiro

IBBM-Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata,
Argentina, anibal.lodeiro@gmail.com

En la mayoría de las bacterias que transcurren parte de su ciclo de vida en el medio ambiente, la movilidad constituye un rasgo de fundamental importancia para su supervivencia y adaptación al entorno. El tipo de movilidad mejor estudiado es la natación impulsada por flagelos, que constituyen una de las organelas más complejas de la célula procariota. En los flagelos pueden distinguirse tres estructuras fundamentales: el cuerpo basal insertado en la membrana y que contiene el motor flagelar, el filamento, que se proyecta fuera de la célula, y un conector conocido como gancho, que une al cuerpo basal con el filamento. Existe una gran diversidad en las estructuras y modos de organización de la información genética necesaria para la síntesis, funcionamiento y regulación de los flagelos en distintas especies, pero estudios de genómica comparada han llevado a la conclusión de que un núcleo básico de 24 genes estructurales es compartido por todas ellas. En el caso de los rizobios existen pocos estudios sobre la organización genómica de los flagelos. Un caso llamativo es el del género *Bradyrhizobium*, que contiene a las principales especies noduladoras de soja. En este género existen especies como *B. liaoningense*, que no posee flagelos, *B. elkanii*, que posee un solo sistema de flagelos, y *B. japonicum* y *B. diazoefficiens*, que poseen dos sistemas de flagelos diferentes, los cuales pueden expresarse simultáneamente en la misma célula. A pesar de esta diversidad funcional, todas estas especies viven en el suelo y nodulan soja. El caso mejor estudiado es *B. diazoefficiens*, que expresa un flagelo subpolar monotrico y, bajo ciertas circunstancias, varios flagelos laterales estructural y funcionalmente distintos del primero. Los dos sistemas flagelares parecen tener orígenes evolutivos diferentes, pero no se observaron evidencias de que alguno de ellos haya sido adquirido por transferencia horizontal de genes. El sistema lateral está organizado en un único cúmulo génico (cluster) y su expresión está dirigida por un regulador transcripcional perteneciente a la familia de las OmpR, que controla la expresión de dos grandes operones (16 y 18 genes), uno más pequeño (3 genes) y dos genes independientes. Por métodos de evolución en laboratorio se han obtenido cepas con mayor movilidad, que expresan constitutivamente los flagelos laterales. El estudio del genoma de una de estas cepas está permitiendo identificar nuevos reguladores. Esta cepa además ha sido probada en ensayos de inoculación en el surco de siembra y ha mostrado competir más eficientemente por la nodulación de soja y aumentar los rendimientos en grano respecto de plantas inoculadas con la cepa parental.

Palabras clave: Movilidad bacteriana; Flagelos laterales; Soja.

EPS, KPS Y LPS: CONSENSO SOBRE LA IMPORTANCIA?

Maribel Parada Ibañez, Mauricio Reyes Schencke, Ignacio Jofré Fernandez,
Daniela Mendoza Cid, Andrea Pérez Briones, Camilo Rebolledo Padilla

Universidad de La Frontera, Temuco, Chile, maribel.parada@ufrontera.cl

Los polisacáridos son sustancias de elevado peso molecular que presentan funciones biológicas como sustancias de reserva, o como moléculas estructurales para los seres vivos. En el ámbito de la microbiología, el conocimiento y uso de los polisacáridos ha permitido observar que tienen una acción protectora y también farmacológica. Los polisacáridos intervienen en la acción simbiótica de algunos microorganismos, mejorando la acción benéfica, hecho que tiene importancia debido a la incorporación de una gran variedad de productos en base a microorganismos que se están utilizando como una forma de mitigar los efectos nocivos provocados por la aplicación intensiva de productos químicos, perjudicando la salud del hombre y el medio ambiente. A su vez, el interés por el estudio de los polisacáridos microbianos se basa en tres razones fundamentales. En primer lugar, los polisacáridos son un componente estructural de las células microbianas, por lo que su investigación tiene un interés teórico. En segundo lugar, los polisacáridos son reconocidos como determinantes antigénicos de la superficie celular de muchas bacterias, con lo que el conocimiento de su estructura es de gran importancia en medicina y por último, los microorganismos son una fuente de polímeros con propiedades únicas. Estos son argumentos de peso para justificar el estudio de la estructura, propiedades y producción a escala piloto e industrial de estos compuestos. Muchos microorganismos producen polisacáridos que son excretados al medio o bien quedan adheridos a la célula en forma de cápsula, las que constituyen una biopelícula con un entorno dinámico en el que las bacterias parecen alcanzar un estado de homeostasis y una óptima organización para hacer uso de todos los nutrientes disponibles. El uso de polisacáridos naturales o sintetizados químicamente, se ha transformado en una tecnología de gran importancia por sus propiedades químicas y físicas, lo que permite que existan microorganismos capaces de sobrevivir en ambientes muy hostiles. Por otro lado, las propiedades funcionales de los hongos se basan principalmente en el uso de polisacáridos, sin efectos secundarios adversos y que son utilizados para la preparación de formulaciones específicas y como portadores de fármacos. También se ha descrito que poseen actividades antioxidantes, antimicrobianas y antitumorales, por lo que el uso clínico que se ha hecho de algunos hongos con actividad antimicrobiana comprobada, dan pie a la posibilidad de usar productos naturales para enfrentar a muchas cepas bacterianas que se han convertido en multirresistentes debido al mal uso de antibióticos.

Palabras clave: Polisacáridos; Antimicrobianos; Biofilms.

¿CUÁNTO AVANZAMOS EN EL CONOCIMIENTO DE LA REGULACIÓN DE LOS GENES *nodD*?

Francisco Javier Ollero Márquez, Manuel Megías

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Sevilla, España, fjom@us.es

La estirpe CIAT899 de *Rhizobium tropici* es una estirpe peculiar. Además de su capacidad para sobrevivir en ambientes adversos y para inducir la biosíntesis de factores Nod en presencia de estrés salino (NaCl 300 mM) y ausencia de flavonoides, también es peculiar el hecho de que presente 5 copias del gen regulador *nodD* en su genomio. Se han obtenido mutantes en cada una de las cinco copias de los genes *nodD* y se ha estudiado su fenotipo. Así, los mutantes en los genes *nodD1* y *nodD2* presentan una mayor movilidad superficial que la estirpe silvestre, la producción de AIA se reduce en el mutante *nodD1* en presencia del flavonoide apigenina y en el mutante *nodD2* en presencia de sal. En cuanto a sus fenotipos simbióticos el mutante en el gen *nodD1* no nodula en leucena, siratro y *Lotus japonicus*. Sin embargo sigue nodulando en judía y *Lotus burtii*, si bien se ve significativamente reducido el número de nódulos. Para que CIAT899 deje de nodular en estas plantas es necesario mutar simultáneamente los genes *nodD1* y *nodD2*. Ambos genes *nod* son importantes para inducir la expresión del gen *nodC*, a diferencia de lo que ocurre en otros rizobios en los que *nodD2* es un represor de los genes de nodulación. Además, *nodD2* es capaz de inhibir levemente la expresión de *nodD1* en presencia de apigenina. Por otra parte se han caracterizado los mutantes en los genes *nodD3*, *nodD4* y *nodD5* y se ha estudiado tanto su fenotipo simbiótico como los LCOs que producen. Se ha comprobado que los mutantes en los genes *nodD3* y *nodD4* inducen un menor número de nódulos y peso seco de la parte aérea en plantas de *L. japonicus* que la estirpe parental. El mutante en el gen *nodD3* debe ser importante en la deacetilación de los LCOs, ya que este mutante produce más LCOs deacetilados que la estirpe silvestre. Por otra parte, se ha comprobado que el gen *nodD4*, que produce más LCOs que la estirpe silvestre. Parece que dependiendo del gen *nodD* éstos tengan posibles funciones activadoras (*nodD3* y *nodD5*) o represoras (*nodD4*), probablemente activando o inhibiendo *nodD1* y/o *nodD2*. Así, por ejemplo *nodD4* inhibe la expresión de *nodD1* tanto en presencia de apigenina como en presencia de sal. En cambio *nodD3* activa la expresión de *nodD1* en presencia de apigenina y lo activa en presencia de sal, justo lo contrario de lo que ocurre con *nodD2*, que activa a *nodD1* en presencia de sal y lo inhibe en presencia de apigenina. En definitiva en CIAT899 se da uno de los más complicados modelos de regulación, donde cada uno de los cinco genes *nodD* realizan diferentes funciones dependiendo de la planta huésped y de las condiciones ambientales en el que crezca la bacteria.

Palabras clave: Genes nodulación; Mutantes; Fenotipo simbiótico.

THE RHIZOBIA BATTLE FOR IRON

Vanessa Amarelle, Federico Rosconi, Daniela Costa, Uriel Koziol,
Francisco Noya, Raúl Platero, Federico Battistoni, Elena Fabiano

IIBCE, Montevideo, Uruguay, efabiano@iibce.edu.uy

Iron is a major constituent of two crucial proteins the rhizobia-plant symbiosis: bacterial nitrogenase and plant leghemoglobin. In spite of being an abundant element, iron is primarily in the oxidized form, which has an extremely low solubility in aqueous environments at neutral or basic pHs. Rhizobia, as well as other bacteria, have evolved numerous strategies to acquire iron from the environment including siderophore expression, highjacking of other microbial iron acquisition systems and use of iron host compounds. In that sense we demonstrate that rhizobia are able to use heme and leghemoglobin as iron sources. We demonstrate that *Ensifer/Sinorhizobium meliloti* express a heme outer membrane receptor, ShmR, required for the use of heme as an iron source. Expression of the *E. meliloti shmR* gene under iron limitation involves the loss of the repression exerted by RirA (Rhizobial iron regulator) as well as the activation mediated by the HmuP protein. RirA is the primary iron-responsive transcriptional regulator in *E. meliloti*, while the Fur homolog, renamed as Mur, is mainly involved in the control of manganese homeostasis. In this work we will present a predictable model of action for the regulation of *shmR* expression. As the fate of exogenous heme once inside *E. meliloti* cytosol is unknown we wanted to identify proteins involved in iron release from heme. The *in silico* analysis of *S. meliloti* 1021 genome revealed no canonical heme oxygenases although two genes encoding putative heme degrading enzymes, *hmuQ* and *hmuS*, were identified. Both proteins were able to degrade heme *in vitro* producing different biliverdin isomers. While HmuS degrades heme to the biliverdin isomers IX- β and IX- δ in an equimolar ratio, HmuQ produces only biliverdin IX- δ . Additionally, we demonstrated that *humS* and *hmuQ* gene expression is iron and heme regulated in a RirA dependent way and that both proteins are involved in heme metabolism in *E. meliloti* *in vivo*. Control of iron homeostasis in the α -rhizobia has provided new clues in the understanding of iron sensing mechanisms in bacteria. A general review of iron metabolism in the rhizobia will be presented.

Keywords: Iron; *Sinorhizobium meliloti*; Heme.

GENOMICS AND FUNCTIONAL GENOMICS OF WILD AND EXPERIMENTALLY EVOLVED RHIZOBIA, FREE-LIVING AND IN BACTERIAL COMMUNITIES

Lorena Gómez¹, Jazmín Reyes¹, Luis E. Servín¹, Ernesto Ormeño-Orrillo²,
Mónica Rosenblueth¹, Shamayin T. Ramírez-Puebla¹, Violeta Matus¹,
Julio Martínez Romero¹, Mauro Degli Esposti¹, Esperanza Martínez-Romero¹

¹Centro de Ciencias Genómicas, UNAM, Cuernavaca, México,
emartine@ccg.unam.mx; ²Universidad La Molina, Lima, Perú

While the bacteria nodulating *Phaseolus vulgaris* have been extensively studied, little is known on the symbionts of other *Phaseolus* species (1). We obtained the genome sequences of rhizobia isolated from *Phaseolus albescens* (2) and *Phaseolus microcarpus* (3), non-domesticated species native of Mexico. From *P. albescens* we isolated strains related to *R. etli* and to *R. leguminosarum* that seemingly corresponded to novel species. The symbiotic plasmid of *Rhizobium* sp. strain CCGE510 from *P. albescens* is similar to that from symbiovar *etli* but it bears differences probably related to its poor nodulating efficiency in *P. vulgaris* (2). In contrast, the nodulating bacteria of *P. microcarpus* belong to the bradyrhizobia. The CCGELA001 genome from *P. microcarpus* showed the largest symbiotic island reported so far, containing also genes for bio-insecticides (3). Rhizobia may also colonize non-legumes (4). In Mexico, *P. vulgaris* is usually grown together with maize and the two plants share symbiotic bacteria such as *R. phaseoli* strains (5, 6). Strain Ch24-10, an efficient bean symbiont, was dominant in maize rhizosphere, whereas other rhizobia recovered from bean nodules have a diminished nitrogen fixing capacity, as in the case of *R. grahamii*, which forms a few nodules. Its genome lacks genes for Nod Factor fucosylation that may explain its poor symbiotic phenotype in *P. vulgaris* (7, 8). After obtaining the genome of *R. phaseoli* Ch24-10, we have carried out transcriptomic studies on maize and bean roots (9), as well as in the presence of an artificial bacterial community. In this bacterial community we found genes that are overexpressed. Since limited studies of experimental evolution have been carried out with *Rhizobium*, we are currently using *R. phaseoli* Ch24-10 to obtain genetic variants more adapted to maize plants in the presence of bacterial communities promoting plant growth in the field. We are determining the genomes of the dominant strains of *R. phaseoli* Ch24-10 that have been thus evolved. We are grateful to PAPIIT UNAM IN207615 grant. 1. Servín-Garcidueñas et al 2014 Mol. Phyl. Evol. 79: 1-11; 2. Servín-Garcidueñas et al 2012 J. Bact. 194:6310-6311; 3. Servín-Garcidueñas et al 2016 Gen. Announcement; 4. Martínez et al 2003 Plant Soil 257:35-47; 5. Gutiérrez-Zamora, Martínez-Romero 2001 J. Biotech. 91:117-126; 6. Rosenblueth, Martínez-Romero 2004 Arch Microbiol 181:337-344; 7. Altabegoiti et al 2012 J. Bact. 194: 6651-6652; 8. Altabegoiti et al BMC Microbiol.14:6 doi: 10.1186/1471-2180-14-6; 9. López-Guerrero et al 2012 Plasmid 68:149-158.

Keywords: Functional genomics; Experimental evolution; Transcriptomics.

SESSÃO III

FBN EM NÃO-LEGUMINOSAS

EL GÉNERO *Azospirillum*: DE LA GENÓMICA A LA PRODUCCIÓN DE BIOINSUMOS

Fabrizio Dario Cassán, Anahí Coniglio, Romina Molina,
José Gualpa, Diego Rivera Bottia

Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina, fcassan@exa.unrc.edu.ar

Se considera que *Azospirillum* es uno de los géneros microbianos más utilizados en nuestro país y en todo el mundo para la formulación de bioinsumos destinados al tratamiento de especies cultivables de no-leguminosas. La historia de los productos biológicos formulados con *Azospirillum* sp. en la República Argentina se inició en el Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola de Castelar en la década de los 80's, donde a través de un intenso programa de aislamiento y selección, se eligió la cepa Az39 de *Azospirillum brasilense* como la de mejor performance agronómica sobre los cultivos de maíz, trigo y sorgo y se recomendó para la fabricación de inoculantes para trigo y maíz en la República Argentina. Transcurridas más de cuatro décadas desde su aislamiento y recomendación, Az39 ha demostrado una sólida capacidad para cumplir con la premisa por la que fue seleccionada con incrementos promedio superiores al 7.0 % sobre el rendimiento y una frecuencia de éxito superior al 80 % en diferentes cultivos de interés nacional. A pesar de la inmensa cantidad de información disponible a nivel agronómico para esta cepa, hasta hace unos años se sabía muy poco sobre la base molecular que determinaba la capacidad de este microorganismo para promover el crecimiento vegetal. En el año 2012 en el laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción Planta Microorganismo de la Universidad Nacional de Río Cuarto, se inició el trabajo en un consorcio internacional destinado a secuenciar el genoma de *A. brasilense* y *B. japonicum* E109, las cepas más utilizadas para la formulación de bioinsumos en Argentina, que culminó exitosamente con el cierre y la obtención de la secuencia completa del genoma de ambas cepas en 2014. Utilizando una estrategia de secuenciación combinada, se estimó que el genoma de Az39 tiene un tamaño de 7.39 Mpb distribuidos en 6 replicones [un cromosoma, tres crómidos y dos plásmidos]. Mediante el uso de herramientas bioinformáticas comparativas, se identificaron numerosos genes y proteínas putativas implicadas en la expresión de mecanismos de promoción del crecimiento vegetal y relacionados con el estilo de vida rizosférico de esta bacteria, entre ellos aquellos relacionados con la fijación biológica de nitrógeno, la biosíntesis de fitohormonas, la formación de biofilms y la presencia de sistemas de secreción, en todos los casos similares a los de otras cepas del mismo género simultáneamente secuenciadas. La decodificación de esta información ha proporcionado una base sólida para la elucidación de los principales mecanismos de interacción y promoción del crecimiento, así como algunos componentes específicos que determinarían el éxito agronómico de este microorganismo.

Palabras clave: Bioinsumos; PGPR; Genómica.

RIZÓBIOS EM NÃO-LEGUMINOSAS: UMA NOVA ESPERANÇA?

Enilson Luiz Saccol de Sá

UFRGS, Porto Alegre, Brasil, enilson.sa@ufrgs.br

As interações entre rizóbios e plantas leguminosas e *Azospirillum* e gramíneas e os seus benefícios para a produção vegetal já são conhecidos há muitos anos. No Brasil, a soja é o principal cultivo e a produção de inoculantes para soja teve início no IAC, em Campinas, e no antigo IPAGRO em Porto Alegre. Já em 1950, o Prof. João Ruy Jardim Freire produzia inoculantes para soja e, em 1956, foi responsável pela instalação da primeira indústria para a produção comercial de inoculantes de rizóbios para leguminosas na cidade de Pelotas, RS. Em meados de 2009 se iniciou a produção de inoculantes com *Azospirillum* para gramíneas. Nos dias atuais, mais de 90% dos inoculantes produzidos no país são para soja e contém bactérias do gênero *Bradyrhizobium*. Mais recentemente outros produtos foram lançados para inoculação em não-leguminosas contendo diversos micro-organismos endofíticos, mas nenhum deles com o uso de rizóbios nem produtos inoculantes mistos com rizóbios e *Azospirillum*. Na última década tem aumentado o número de trabalhos que mostram a capacidade dos rizóbios em promover o crescimento de plantas não-leguminosas. Os resultados benéficos da inoculação de plantas não-leguminosas com rizóbios nem sempre são satisfatórios. Diferentes variedades de uma mesma espécie de gramínea, quando inoculadas com a mesma estirpe de rizóbio, podem apresentar resultados diferentes. Por outro lado, resultados de experimentos realizados em casa de vegetação e a campo, mostram aumentos de produção em plantas não-leguminosas inoculadas com rizóbios. Também a inoculação conjunta de rizóbios e *Azospirillum* em gramíneas como arroz pode apresentar melhores resultados do que a inoculação das culturas bacterianas isoladamente, provavelmente devido a efeito sinérgico entre as diferentes cepas de bactérias endofíticas promotoras de crescimento em sua interação com as plantas estudadas. De uma forma geral, os efeitos da inoculação de rizóbios em plantas não-leguminosas mostram que os mesmos podem ter um potencial tão grande na promoção de crescimento quanto as melhores estirpes de *Azospirillum* empregadas nos produtos inoculantes brasileiros. Mais recentemente, aumentos da nodulação em soja e da produção de grãos de soja e feijão foram observados em trabalhos com a co-inoculação de estirpes de rizóbios e *Azospirillum*. Propõe-se a discussão sobre a produção de inoculantes mistos com estirpes de *Azospirillum* e de rizóbios já selecionados como eficientes na promoção de crescimento na planta não-leguminosa de interesse.

Palavras-chave: Promoção de crescimento vegetal; Inoculantes; Co-inoculação.

***Azospirillum* EN URUGUAY: GRAN EXPERIENCIA EN UN PEQUEÑO PAÍS**

Carlos Labandera

Montevideo, Uruguay, clabandera@adinet.com.uy

Este trabajo resume los antecedentes, actividades, metodología y logros del proyecto *Azospirillum* del Departamento de Microbiología de Suelos (DMS), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca de Uruguay (MGAP). Como resultado existen productos registrados que se comercializan en el mercado interno e internacional. El DMS se creó en 1960 como institución responsable de las actividades en fijación biológica de nitrógeno y uso de microorganismos promotores del crecimiento de las plantas. Fue la institución de referencia para el registro de empresas y productos y para el control de calidad de los inoculantes (extendido a los centros de venta) y responsable de la Colección Nacional de Cepas de *Rhizobium* y otros microorganismos promotores y de su evaluación. El objetivo fundacional fue analizar el impacto de los inoculantes formulados con cepas seleccionadas de *Rhizobium* en el establecimiento, productividad y persistencia de las leguminosas forrajeras en el país para potenciar los sistemas productivos. El mensaje fue simple: “fósforo de la bolsa y nitrógeno del aire”, con asistencia técnica y crediticia. Debido al éxito de la propuesta el programa se extendió a otras actividades por la ampliación de la base forrajera, la inserción de la soja en el mercado, y el interés por el estudio de otros sistemas de promoción, en particular, bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno en arroz, y rizosféricas, fundamentalmente *Azospirillum* en maíz. Las actividades se desarrollaron en laboratorio, invernáculo y campo con participación del sector productivo en la evaluación de los resultados. Se destaca la importancia de definir parámetros adecuados de selección de cepas, el uso de diseños experimentales acordes con los mecanismos/modos de acción involucrados y el potencial de respuesta de los sistemas en estudio. Para la adopción de la tecnología resultó muy significativo el diseño de una investigación “a medida” y la difusión de un mensaje único a los productores. La inserción de la Asociación Latinoamericana de Rhizobiología (ALAR) en el marco institucional, 1964 y la designación del DMS como institución de referencia uruguaya en el Mercosur, 1998 han sido importantes en el desarrollo de las actividades. Finalmente en 2012 se firmó un Convenio de Cooperación Interinstitucional entre el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y el MGAP <https://www.mgap.gub.uy/dgsainoculantesweb/inicioweb.aspx> donde se acuerda combinar capacidades para potenciar las actividades. Los estudios de prospectiva biotecnológica muestran la alta pertinencia y factibilidad del uso de los microorganismos como herramienta de desarrollo sustentable del sector agropecuario uruguayo.

Palabras clave: Fijación biológica de nitrógeno; Inoculantes; *Rhizobium*.

SESSÃO IV

COQUETÉIS DE MICRORGANISMOS PARA UM *BUFFET* DE PLANTAS E POSSIBILIDADES

PERSPECTIVAS PARA A CANA-DE-AÇÚCAR

Veronica Massena Reis

Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Brazil, veronica.massena@embrapa.br

A cana-de-açúcar se beneficia das práticas agrícolas adotadas nas últimas duas décadas fazendo a produtividade aumentar em torno de 30%. Entre os principais insumos utilizados na lavoura canavieira estão os fertilizantes nitrogenados. Alternativas que reduzam os custos de produção e os impactos ambientais foram intensificados buscando o uso insumos biológicos, baseados na premissa de que bactérias diazotróficas podem promover o aumento do rendimento da cana-de-açúcar. Entretanto a utilização destes insumos ainda é um grande desafio para a pesquisa. Sua utilização tem sido feita com maior facilidade no primeiro ano de plantio onde se pode aplicar em mudas pré-brotadas, imergindo os colmos em solução com inoculante antes do plantio ou utilizando o inoculante por pulverização sobre os colmos cortados. O mesmo não se aplica à cana-soca. Sua aplicação via foliar seria o ideal, mas estudos vem mostrando que sua eficiência ainda é reduzida. Vários trabalhos de inoculação sugerem o uso de uma mistura de cinco estipes bacterianas pertencentes a cinco espécies diferentes. Esta mistura foi primeiramente levada a teste em vasos onde se observou que a mistura das cinco estirpes era responsável por maiores contribuições da FBN para a cana-de-açúcar. A seguir esta mistura foi testada em três tipos de solo, sendo dois em São Paulo e um no Rio de Janeiro, usando duas variedades, a SP70-1143 e a SP81-3250. Neste segundo caso, a avaliações foram feitas na cana planta e na primeira soqueira, sendo verificado que, dependendo do solo e da variedade, a mistura de cinco estirpes proporcionou até 31% do N acumulado pela planta fosse derivado da FBN. Novas variedades também foram testadas como a RB867515 e a RB72454 com o tratamento inoculado, adubação com 120 kg ha⁻¹ N e o controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada. Os resultados indicaram que o inoculante promoveu aumentos na produtividade, no entanto as respostas da cultura à aplicação da mistura bacteriana apresentaram grande variabilidade. A resposta foi dependente da variedade, clima, solo e manejo; o que sugere que mais pesquisas sejam feitas para a melhoria da formas de aplicação e do estabelecimento das bactéria na planta bem como de metodologias que permitam a sua identificação. Em alguns casos o tratamentos combinando a inoculação com uma dose reduzida de N permitiram rendimentos similares as doses completas de nitrogênio, indicando que seria possível substituir parte da adubação nitrogenada pela inoculação quando observado apenas o aspecto produtivo. Cabe ressaltar que muitos desafios precisam ainda ser vencidos, para tornar o inoculante da cana-de-açúcar um produto de uso geral e com alta eficiência.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Bactérias diazotróficas; Nitrogênio.

INOCULANTES MICROBIANOS HACIENDO LA DIFERENCIA EN CUBA

María Caridad Nápoles García

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba, tere@inca.edu.cu

El suelo es un recurso natural sobre el que la creciente población mundial y su demanda de alimentos aumentan cada día más la presión. En Cuba, el 69,6 % de los suelos tienen bajo contenido de materia orgánica y el 43,3 % presentan algún grado de erosión, lo cual limita su productividad. Por otro lado, al ser una isla un 10 % de los suelos cubanos posee algún grado de salinización y teniendo en cuenta además que tenemos en las áreas agrícolas, un clima tropical subhúmedo, las escasas precipitaciones en época de sequía, sobre todo en el oriente del país, se han convertido en un estrés adicional que afecta los cultivos. En las zonas tropicales del mundo se buscan alternativas para conservar los suelos, pues se ha confirmado que no es el clima cálido lo que impide una producción adecuada de la tierra, sino el manejo inadecuado de estos. La Cumbre de Río sobre Medio Ambiente y Desarrollo influyó notablemente en el proceso legislativo generado en Cuba a partir de 1990. Uno de sus momentos más importantes es la aprobación de la Ley 81 "Del Medio Ambiente" que trazó como estrategia el aislamiento, la caracterización y selección de nuevas especies y cepas, surgiendo proyectos auspiciados por el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente que permitieron estudios de prospección y selección de nuevas cepas residentes, potencialmente eficientes en la biotecnología agrícola, especialmente en la producción de biofertilizantes a partir de un enfoque ecológico. Unido a esto y como consecuencia de la crisis económica, en la que se destaca entre otros insumos la carencia de fertilizantes químicos que sufre el país durante el período especial, se aceleró marcadamente el escalado de estos biopreparados. En los últimos años las investigaciones agrícolas del país se han profundizado en la búsqueda de soluciones que involucren la contribución de los microorganismos en la recuperación de los agroecosistemas, a partir de la sustitución parcial o total de los agentes químicos, a la vez que se potencian el uso de variedades mejoradas y de otros productos bioactivos por su bajo costo de producción y la posibilidad de elaborarse a partir de recursos locales renovables. Se han desarrollado un grupo importante de biofertilizantes, bioplaguicidas y bioestimulantes, con vistas a garantizar altos rendimientos, protección, estado nutricional adecuado de los cultivos, un incremento en la actividad biológica del suelo y un mayor impacto económico y ambiental que las tecnologías tradicionales de producción. La ciencia en Cuba se impone nuevos retos sobre esta temática en particular, que nos permita cada vez más una soberanía alimentaria y una preservación de nuestros suelos, aguas y ambiente en general.

Palabras clave: Suelo; Biofertilizantes; Retos.

SESSÃO V

ESTRATÉGIAS PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS HOSPEDEIRAS COM MAIOR CAPACIDADE DE FBN

PHOSPHORUS USE EFFICIENCY IN SYMBIOTIC N₂ FIXATION FOR COUPLING BIO-GEOCHEMICAL CYCLES IN AGROSYSTEMS WITH LEGUMES

Jean-Jacques Drevon¹, L. Amenc¹, O. Domergue², L. Gomez³, M. Lazali⁴

¹INRA-SupAgro, France, drevonjj@supagro.inra.fr; ²Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, France; ³Instituto de Suelos, La Habana Cuba;

⁴Université de Khemis Miliana, Algérie

Fewer chemical inputs, as fertilizers or pesticides, becomes of paramount importance for the nutritional safety and environmental impact of agricultural production of food. This implies new requirements with regard to the selection of legume-crop cultivars for grain cropping- systems. Low phosphorus availability in about 40% of the world's arable land limits crop yield, most particularly for legume crops when their growth depends upon symbiotic N₂ fixation (SNF). Therefore, our work aims to increase the phosphorus use efficiency (PUE) for SNF, and its contribution to a more effective coupling between the P and N bio-geochemical cycles in agriculture and forestry. Myo-inositol hexakisphosphate (phytate) constitutes the main source of organic P in soils, but is unavailable to plants. Phytases are the only phosphatases able to hydrolyse phytate efficiently into inorganic Pi, thus increasing soil-P bio-availability for plants. In the FABATROPIMED project we have demonstrated the existence of phytases, both histidine acid and beta-propeller among rhizobia nodulating *Vicia faba* and *Vigna unguiculata*, and shown by in situ RT-PCR, their expression within nodule infected-cells. Phytase mRNA of the host-legume was also localized in nodules and shown to increase under P-deficiency with significant variation among recombinant inbred lines of *Phaseolus vulgaris* which are contrasting in their PUE for SNF. A subsequent virtuous cycle of P and N fertility of soils has been addressed in relation with the overall objective of the interdisciplinary research strategy of FABATROPIMED to increase the benefit of grain-legumes for cereal systems and the environment by promoting the interaction between soil micro-organisms for plants to acquire and use N and P most efficiently. The field activities include a participatory approach with farmers in reference agroecosystems offering a wide range of agroclimatical and socioecological situations.

Keywords: Bio-geochemical cycles of N and P; Ecological intensification; Phytate.

THE CHALLENGE OF THE GLOBAL CLIMATIC CHANGES: SCREENING FOR BNF UNDER WATER RESTRICTION

Marco Antonio Nogueira

Embrapa Soja, Londrina, Brazil, marco.nogueira@embrapa.br

Water restriction is one of the main challenges to agricultural systems facing global climatic changes. The search for increasing plant performance under such conditions is not an easy task and requires the cooperation among several fields of the crop sciences. Particularly for biological nitrogen fixation (BNF), one of the first processes to be impaired in leguminous crops under drought, several strategies have been considered in an effort to keep the process effective for longer time under water restriction. The use of selected bacterial strains for high temperature and drought can be an opportunity to increase BNF tolerance to adverse conditions and result in increase of plant performance. However, there are several evidences that the selection of host plants more effective in keeping the BNF under drought may bring a synergistic effect. Bottom-up strategies based on genetic engineering for a single gene characteristic (e.g. resistance to pests and herbicides) have been successful, but this approach may not immediately work to increase the tolerance of BNF to drought, because this is a multi-genic characteristic. On the other hand, top-down strategies have been efficient to identify characteristics in a population of plants for BNF tolerance to drought. This approach is based on tiers, in which the first step encompass faster but less precise techniques, like concentrations of ureides in petioles and N in leaves. This first screen, along with selection for agronomic traits, allow to reduce thousands of lineages to few candidates that can be further submitted to more laborious and more precise techniques, like response to increasing vapor pressure deficit, in addition to responses of BNF to increasing water restriction. The increase of BNF tolerance to drought can be reached in two ways: the first is intrinsic to the host plant, which is able to save water and thus keep the physiological processes, including BNF, for longer. The other is intrinsic to the BNF itself, which even under moderate water restriction is able to keep the process, as well as promote a faster recovery when ideal water conditions are reestablished. This approach has been successful in identifying soybean genotypes able to keep the BNF under water restriction, elected as elite material to be used as source of BNF drought-tolerant trait in breeding programs, and consequently, improving the crop performance when exposed to moderate water restriction.

Keywords: Biological nitrogen fixation; Drought; Plant breeding.

SYMBIOTIC INTERACTION BETWEEN *Phaseolus vulgaris* AND RHIZOBIA IN THE AMERICAS

Mario O. Aguilar¹, V. Dalla Via¹, M. Castaingts¹, J. Clua¹, C. Rípodas¹, F. A. Blanco¹, M. E. Zanetti¹, Antonio Gil Serrano², Manuel Megías²

¹Instituto de Biotecnología y Biología Molecular - IBBM, Argentina, aguilar@biol.unlp.edu.ar; ²Universidad de Sevilla

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) symbiotically associates with its partner *Rhizobium etli*, resulting in the formation of root nitrogen-fixing nodules, and it is preferentially nodulated by *R. etli* strains from the same geographical region of host domestication, namely the Mesoamerican and South Andean regions respectively. We have made use of this compatibility that became established after coevolution between host and rhizobia in the same region to examine the basis of the interaction. It is known that common bean is able to establish effective symbiosis with a diversity of rhizobial phylotypes that produce different Nod factors. In order to assess if acetylfucosylation of the Nod factor was important for the nodulation preference between lineages of *R. etli* and beans from the same region of diversification, competitiveness assays were performed with a mixture of strains that produce Nod factor with and without the acetyl-group at the fucosyl site. Using transcriptional profiling of roots inoculated with mutant strains defective in the synthesis of Nod Factor (NF), exopolysaccharide (EPS), or lipopolysaccharide (LPS), we identified 2,606 genes from common bean that are differentially regulated at early stages of its interaction with *Rhizobium etli*. Many transcription factors from different families are modulated by NF, EPS, and LPS in different combinations, suggesting that the plant response depends on the integration of multiple signals. Results showing the phenotypic and molecular characterization of genes expressed in the common bean-rhizobia early interaction will be presented.

Keywords: *Effective symbiosis; Nod factors; Rhizobium etli.*

SESSÃO VI

QUANTIFICANDO E “QUALIFICANDO” A FBN

ROTATIONAL BENEFITS OF LEGUME NITROGEN FIXATION – UNIVERSAL OR WITH CAVEATS?

David Herridge¹, Pip Brock², Graeme Schwenke²

¹University of New England, Armidale, Australia, david.herridge@une.edu.au;

²NSW Department of Primary Industries

The rotational benefits of nitrogen fixation by the pulse and oilseed legumes are uncontroversial in low input systems, such as found in many countries of Asia and Africa. Adequate levels of plant nodulation and nitrogen fixation can mean the difference between livelihood-sustaining yields for the farmer and food insecurity and economic failure. Nitrogen fixation provides the N for the legume itself as well as for the system as a whole with the legume residues not removed from the fields representing a major source of plant-available N for the subsequent crop or crops. In effect, the N economies of such systems are built around legume N₂ fixation. Recent data from Myanmar indicates a net benefit of the legumes, green and black gram, on rice yields of close to 1.0 t/ha, and a nationwide yield boost of 2-3 Mt rice grain annually. The benefits of legumes in high-input agriculture are clear-cut also. The pulse and oilseed legumes provide rotational benefits in cereal-production systems that include suppression of root and crown diseases, improved options for management of recalcitrant weeds, dilution of exposure to catastrophic environmental events and flexibility in scheduling sowing and harvesting activities. The legumes are also valuable grain crops with relatively high gross margins when prices are favourable. The benefits of legume nitrogen fixation in high-input agriculture may be less clear-cut, however, now that the onus on agriculture, as with other sectors, is to cut greenhouse gas (GHG) emissions. Nitrogen fixing legumes may have a more benign footprint than, say, cereals for environmental impact categories such as energy demand and eutrophication potential, but at the same time may have a larger global warming potential, i.e. C, footprint. Although the direct C costs of nitrogen fixation, estimated to be about 20 kg CO₂/kg N fixed, are not factored into GHG emissions accounting, the C cost is subjected to indirect accounting when effects of N-fixing legumes on soil C stocks are considered. Legumes may routinely burn off 20-25% of net plant photosynthate as nodular respiration, assuming Ndfa values of 67-83%. The net result is that biomass is reduced (by 30%, relative to wheat, according to metadata analysis), as are residue C returned to the soil and potential soil C balances.

Keywords: Soil C; C footprint; Greenhouse gas emissions.

QUANTIFICATION OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN NON-LEGUMES

Robert Michael Boddey, Segundo Urquiaga Caballero

Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brazil, robert.boddey@embrapa.br

The majority of techniques employed to quantify the contribution of biological nitrogen fixation (BNF) to legumes can also be applied to non-nodulating non-legumes. Our work at Embrapa Agrobiologia has focused almost exclusively on grass and cereal crops such as *Brachiaria* species, elephant grass (*Pennisetum purpureum*), sugarcane, maize and wheat. Many species of micro-aerobic N_2 -fixing bacteria have been found within the roots and shoots of these species often in high numbers, but in none of these species has there been discovered any clear signs of any symbiotic structure paralleling the legume (or actinorhizal) nodule. Exactly which bacterium, or community of bacteria, is/are responsible for the observed N_2 -fixing activity and where in the plant the N_2 fixation is occurring is still unknown even more than 40 years after the pioneering work of Dra Johanna Döbereiner. Dra Johanna together with John Day and Peter Dart first detected N_2 -fixing activity with *Paspalum* grasses and maize using the acetylene reduction (AR) technique, which is exceedingly sensitive and these results led to great hopes for N_2 fixation in such crops. However, it became apparent that while the AR technique was good for detection of BNF it had too many artefacts to be useful for quantitative estimates. Some researchers working on wetland rice turned to use ^{15}N -enriched N_2 gas, but growing plants in sealed atmospheres is an enormous challenge. Soon after the team at Embrapa-Agrobiologia started to work with the ^{15}N isotope dilution technique using soils which they enriched with ^{15}N using labelled N fertilizer or labelled composted organic matter. The technique relies on the hypothesis that " N_2 -fixing" plants and non- N_2 -fixing "reference plants" remove N from the ^{15}N -labelled soil with the same ^{15}N enrichment. It is extremely difficult to label the plant-available (mineral) N in a soil so that it is uniform with time and depth, such that different plants may accumulate soil N of different ^{15}N enrichments. Other studies at this time relied on the use of large pots (100 kg soil) or a tank 20 x 6 x 0.4 m filled with ^{15}N -labelled soil, where simultaneously the ^{15}N dilution technique could be used with a total N balance. These studies were successful in providing convincing evidence that sugarcane could obtain over half of its N from BNF. Soils are usually naturally slightly more enriched with ^{15}N than the N_2 of the air, and with the development of more accurate and automated mass spectrometers, the ^{15}N natural abundance technique has been favoured for these studies. In this review we present the advantages and problems associated with the techniques described above.

Keywords: ^{15}N techniques; Acetylene reduction; N balance.

BNF IN CEREALS: A PERSPECTIVE AND PROSPECTIVE VIEW

Frans J. de Bruijn

INRA/CNRS Laboratory of Plant-Microbe Interactions, Castanet-Tolosan Cedex,
France, Frans.Debruijn@toulouse.inra.fr

Nitrogen is arguably the most important nutrient required by plants, being an essential component of all aminoacids and nucleic acids. However, the availability of nitrogen is limited in many soils and although the earth's atmosphere consists of 78.1% nitrogen gas (N₂) plants are unable to use this form of nitrogen. To compensate, modern agriculture has been highly reliant on industrial nitrogen fertilizers to achieve maximum crop productivity. However, a great deal of fossil fuel is required for the production and delivery of nitrogen fertilizer. Indeed industrial nitrogen fixation alone accounts for 50% of fossil fuel used in agriculture. Moreover carbon dioxide (CO₂) which is released during fossil fuel combustion contributes to the greenhouse effect, as does the decomposition of nitrogen fertilizer, which releases nitrous oxide (NO_x), itself about 292 times more active as a greenhouse gas than carbon dioxide. In addition, applying chemical fertilizers is a largely inefficient, as 30-50% of applied nitrogen fertilizer is lost to leaching, resulting in significant environmental problems, such as the eutrophication of waterways. Thus there is a strong need to reduce our reliance on chemical chemical nitrogen fertilizers and instead optimize alternative nitrogen inputs. Biological nitrogen fixation is one alternative to nitrogen fertilizer. It is this process and its major players which will be discussed in the "Biological Nitrogen Fixation" Book. The best known and most extensively studied example of biological nitrogen fixation is the symbiotic interaction between nitrogen fixing "rhizobia" and legume plants. Here the rhizobia induce the formation of specialized structures ("nodules") on the roots of the legume plant and fix nitrogen which is directly assimilated by the host plant; in return, the plant provides the required energy source for the energy intensive nitrogen fixation process. It is this symbiotic interaction which will be highlighted in the Book. While legumes are important as major food and feed crops and are the second group of such crops grown worldwide, the first group (cereals such as wheat, mays and rice) does not have this symbiotic nitrogen fixing interaction with rhizobia. It has thus been a "holy grail" to transfer the ability to fix nitrogen to the cereals and this topic will be the focus of my presentation; Different timely approaches towards this goal are also discussed in the Books.

Keywords: Modern agriculture; Rhizobia; Crop productivity.

SESSÃO VII

PLANEJANDO O FUTURO: DIFUSÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIAS E FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

PUTTING NITROGEN FIXATION TO WORK FOR SMALLHOLDER FARMERS IN AFRICA - N2AFRICA

Ken E. Giller

Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, ken.giller@wur.nl

N2Africa (<http://www.n2africa.org/>) is a large development-to-research project that focuses on tapping expertise from all around the world to ensure the best technologies find their way into the hands of smallholder farmers in Africa. The major output of the project is enhanced productivity, nitrogen fixation and production of the major grain legumes, common bean, groundnut, cowpea, soyabean, chickpea and faba bean. We work across 11 countries in East and Central, West and southern Africa through a wide range of partnerships with research and development organisations. Successful N_2 -fixation by legumes in the field depends on the interaction: $(GL \times GR) \times E \times M$ that is (legume genotype $\times$ rhizobium genotype) $\times$ environment $\times$ management. Environment encompasses climate and soil stresses. Management includes aspects of agronomic management (use of rhizobial inoculum, mineral fertilizers, sowing dates, plant density, weeding). Although much legume research is focused on identifying best combinations of GL and GR, the E and M factors often override the potential of the legume/rhizobium symbiosis for N_2 -fixation in the field. Our approach is to target nitrogen fixation technologies to 'socioecological niches' within the huge diversity of countries and agroecologies and farming systems in Africa. In the second phase of N2Africa, which began in 2014, we aim to increase inputs from N_2 -fixation on more than 550,000 smallholder farms within the coming five years. We have already reached more than 250,000 farmers and as we gain more experience we continually encounter new problems and barriers to solve. In this talk I will share some of our real world experiences – the successes and failures – and discuss what happens when technology escapes the laboratory!

Keywords: Nitrogen fixation; Productivity; Major grain legumes.

AÇÕES DE DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS PARA INCREMENTAR O USO DE INOCULANTES: NOVAS IDEIAS E NOVAS FERRAMENTAS

Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio¹, Mariangela Hungria², Jerri Édson Zilli¹,
André Mateus Prando², Robinson Cipriano³, Segundo Urquiaga Caballero¹,
Nátia Auras¹, Rosa Mota⁴, Solon Cordeiro Araújo⁵, Iêda Carvalho Mendes⁶

¹Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Brasil, *cristhiane.amancio@embrapa.br*;

²Embrapa Soja; ³Embrapa SECOM; ⁴Embrapa Meio Norte; ⁵Associação Nacional de
Produtores e Importadores de Inoculantes; ⁶Embrapa Cerrados

As preocupações mundiais sobre as alterações climáticas e seus efeitos sobre o ambiente em que vivemos são cada vez mais reforçadas por evidências científicas. A tecnologia de inoculação com bactérias diazotróficas, capazes de promover o crescimento vegetal, reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados de origem fóssil na agricultura representa uma alternativa. Nesse contexto, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) também contribui com as outras medidas voluntárias para a redução dos GEE, através do Programa Agricultura de Baixa Emissão de Carbono vinculado à Política Nacional sobre Mudanças Climáticas, como na recuperação de pastagens, na integração agricultura-pecuária-floresta, no plantio direto na palha e em florestas plantadas. No Brasil, existem competências para a produção de inoculantes, mas ainda assim existem lacunas que precisam ser preenchidas em especial ao perceber que ainda é limitada procura desses produtos em determinadas regiões e para muitas culturas país. A abertura de novos mercados e a indução de maior demanda a partir de ações de transferência de tecnologia devem ser fortalecidas. A organização de parcerias institucionais e a interlocução com agências reguladoras pode representar um importante instrumento para acelerar a busca por soluções tecnológicas maximizando a inserção da FBN nos sistemas agrícolas. Para tal a Embrapa e a Associação Nacional de Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII), desde 2012, estão executando um projeto que visa dar ampla divulgação sobre os benefícios da Inoculação e tem como objetivo principal sensibilizar a sociedade, instituições vinculadas ao mercado e órgão públicos. As ações são a partir de espaços de formação de agentes de ATER, agricultores, profissionais de venda de inoculantes, estudantes dos mais diversos níveis de ensino, e de demonstração para agentes públicos. O projeto também visa comunicar ao público leigo ou com pouco contato com a temática informações sobre a FBN e seus benefícios através de um site, da disponibilização de filmetes web em canais de reprodução de vídeo online e também na própria página da Embrapa. Este mesmo trabalho de comunicação também pretende atingir os parlamentares como forma de sensibilizar o poder legislativo quanto ao desenvolvimento de políticas que promovam a agricultura nacional, porém pautado por pilares da intensificação sustentável. O diferencial desta proposta se dá em construir uma estratégia corporativa, envolvendo mais de 10 unidades da empresa, que dê suporte a temática da FBN reforçando a missão da Embrapa como liderança no tema e seu papel preponderante de comunicar com credibilidade as inovações decorrentes das pesquisas que gera.

Palavras-chave: FBN; estratégias de comunicação; Embrapa.

BIOFAG AND AGROMICROBIOS: EVOLUTION IN NETWORKING RESEARCH IN BIOFERTILIZERS

Juan Sanjuán¹, Antonio Lagares²

¹Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, Spain, Juan.Sanjuan@eez.csic.es;

²Universidad Nacional de La Plata/CONICET, La Plata, ARGENTINA

In most Iberoamerican countries, the economic potential depends very much on the soil and agricultural resources. The use of biofertilizers in place of the most expensive chemical fertilizers, represents a sustainable manner to increase crop productivity and at the same time reducing the undesired effects of chemical fertilization on the environment and health. With the world's growing urgencies to limit the impact of human activities on the environment, there will soon be serious restrictions to the application of chemical fertilizers for crop production. With microbial inoculants already applied to millions of hectares cultured annually, the IberoAmerican region may become a worldwide landmark in sustainable agriculture, with massive use of biofertilizers to achieve high productivities with low environmental impact. The progress in the area of microbial inoculants will certainly be driven by the farmer's needs and the technological solutions provided by enterprises, which necessarily rely on the knowledge and biologicals acquired by researchers. Networking is certainly the best strategy to facilitate research progress and technological solutions for all specific needs in all countries of the region. In this sense, the Biofag network first (2003-2011) and now Agromicrobios (2015-2018) are facilitating coordinated research and exchange of experiences, methodologies and materials amongst different laboratories and companies, collaborative teaching and education of human resources, exchange of technology and even new entrepreneur experiences. Networks are not just a common project for all participants, but also provide more visibility of the biofertilization amongst farmers and policy-makers, enhancing the social interest and confidence in this technology. Main financial support by CYTED.

Keywords: Microbial inoculants; Sustainable agriculture; Biotechnology.

HOW FAR CAN WE GO IN TRANSFERRING BNF TECHNOLOGIES AMONG COUNTRIES? AN AFRICAN EXPERIENCE

Steve K. Boahen¹, Canon Engoke¹, Robert Abaidoo²

¹International Institute of Tropical Agriculture, Nampula, Mozambique,
s.boahen@cgiar.org; ²KNUST, Ghana

Soybean is relatively a new crop in many African countries but it is one of the most profitable small holder crops in Mozambique especially in parts of Zambezia, Nampula and Tete provinces where mean annual rainfall is above of 1200 mm. The demand for soybean is high and this is driven by the growing domestic poultry industry. However, farmers are not able to take full advantage of the situation due to low productivity largely resulting from lack of access to good quality soybean seeds and poor crop management practices. The major objectives of the IITA soybean agronomy program in Mozambique are to identify and introduce high-yielding soybean genotypes adapted to the various agro-ecological zones, determine the best time to plant and evaluate the responses of the selected genotypes to inoculation and Phosphorous application. Screening trials were conducted across four agro-ecologies of Mozambique using over 500 genotypes developed by IITA in Nigeria. Twenty promising genotypes were selected to evaluate the best planting time across the four agro-ecologies using a randomized complete block design with four replications. Yields consistently decreased across locations when planting was delayed after the second week of Dec. For example, in the relatively high rainfall site in Zambezia province, yield on average ranged from 2700-4700 kg/ha when planted by the second week of December compared with 580-2260 kg/ha for those planted in the last week of January. For all locations, early planting from early Dec through the third week of Dec depending on rainfall is the best time to plant soybean in Mozambique. Selected genotypes were evaluated using imported commercial peat-based inoculant products from Argentina, Brazil, Canada, Kenya and South Africa since Mozambique does not have an inoculant production facility. The inoculum products performed consistently across sites and significantly increased soybean grain yield by 334-695 kg/ha when averaged across sites. Two of the products, Biagro from Argentina and Biofix from Kenya consistently produced the highest grain yield across the four sites by up to 36% (1050 kg/ha). However, grain yields may be constrained especially in deficient P soils; hence the combined use of P fertilizers and inoculums produced higher yields. Yield increases of up to 658 kg/ha occurred when inoculant was applied together with P compared with inoculant alone. Inoculants are inexpensive and provide high rate of return in Mozambique. However, our results show that yield increases due to P application in most cases cannot pay for the fertilizer due to the high cost of P in Mozambique.

Keywords: Soybean; Inoculant; Phosphorous.

BUILDING HUMAN CAPACITY IN BNF IN AFRICA: OPPORTUNITIES FOR SOUTH-SOUTH COOPERATION

Felix D. Dakora

Department of Chemistry, Tshwane University of Technology,
Pretoria, South Africa, dakorafd@tut.ac.za

Globally, food and nutritional security is closely linked to human capacity in the agricultural sciences. Countries with high level of education and scientific training generally meet the food and nutritional requirements of their populations. In Africa, however, the lack of human capital is the root cause of hunger, malnutrition, poverty, and food insecurity. The continent is beset by i) very low percentage of PhD researchers in agriculture, ii) very few female scientists in agricultural research, and iii) a large pool of ageing scientists in the sector. To feed itself, create wealth and overcome poverty, Africa must embark on an expanded program of training young smart scientists in agricultural research to address biotic and abiotic stress factors that constrain an increase in agricultural yields. Ironically, inter-African collaboration (without South African or international collaborator) comprises 2% of all East African research, 0.9% of West and Central Africa, and 2.9% of Southern Africa. South-South collaboration between Africa and Brazil, and among African countries, has the potential to increase human capacity in BNF research and food production in the continent. The Bill and Melinda Gates Foundation project on Building human capacity in legume science in Africa exemplifies the benefits that can accrue from such South-South collaboration.

Keywords: Master's and doctoral students; Female scientists; Gates Foundation Project.

COMO FORMAR E MOTIVAR UMA NOVA GERAÇÃO DE PROFISSIONAIS NA MICROBIOLOGIA DO SOLO?

Glaciela Kaschuk, Fabiane Vezzani Machado

UFPR, Curitiba, Brasil, glaciela.kaschuk@gmail.com

O desenvolvimento técnico-científico e socioeconômico de uma nação está diretamente relacionado à formação de pesquisadores, particularmente, de mestres e doutores. Por isso, os governos, em maior ou menor proporção, dependendo de suas condições econômicas, têm fomentado a formação e a pesquisa de pós-graduação. Atualmente no Brasil, embora seja comum observar que grande parte dos alunos chega à universidade com embasamento teórico deficitário e precário discernimento crítico para construir conhecimento de nível superior, muitos superam as dificuldades iniciais e concluem cursos de mestrado e doutorado. Espera-se que esses recém-formados pesquisadores possam contribuir para contínuo e consistente processo de inovação tecnológica. Entretanto, é interessante notar que há algumas décadas atrás, o doutoramento era concluído apenas por um grupo seleto de indivíduos, que, por pura vocação ou por demanda de mercado, mantinham uma carreira consistente de geração de novas tecnologias. Assim, além do salto quantitativo, os programas devem objetivar a formação de profissionais motivados a transpor o nível tecnológicos de seus predecessores. O presente estudo teve como objetivo responder à questão como formar e motivar uma nova geração de profissionais da área de microbiologia do solo. O tema foi abordado de duas maneiras. A primeira consistiu do envio de um questionário a dezenas de profissionais doutores na área de microbiologia do solo no Brasil visando identificar os elementos que eles consideraram imprescindíveis na sua formação acadêmica. A segunda foi discutir o tema em um grupo de professores e alunos do programa de pós-graduação em Ciência do Solo da UFPR. A rodada de questionários identificou que todos os entrevistados estão satisfeitos com a carreira profissional. E, que os fatores determinantes na sua formação profissional foram, por ordem de importância: (1) incentivo e apoio dos seus professores orientadores, (2) alto nível de exigência de conteúdos programáticos de seus programas de pós-graduação; e, (3) oportunidade de planejar e executar pesquisa. O debate em grupo confirmou a importância da capacitação dos professores orientadores para a formação profissional e a necessidade de instituir projetos que permitam a interação de alunos de graduação e pós-graduação. Com relação às técnicas de ensino adotadas (disciplinas e projeto de pesquisa), verificou-se que as mesmas, quando plenamente executadas, são eficientes para a formação de bons profissionais em microbiologia do solo. Entretanto, é importante ressaltar que aprender e ensinar são processos nos quais, resultados satisfatórios dependem de constante reavaliação e reformulação de metas e atividades.

Palavras-chave: Pós-graduação; Inovação; Recursos humanos.

SESSÃO VIII

SOJA: O CARRO-CHEFE DA FBN NA AMÉRICA DO SUL

IMPACTO DE LA INOCULACIÓN Y FBN EN SOJA EN ARGENTINA

Alejandro Peticari

INTA, Hurlingham, Argentina, peticari.alejandro@inta.gob.ar

En Argentina el cultivo de soja partir de los años 70 tuvo una fuerte expansión que no se detuvo hasta el día de hoy, la cadena soja en el sector agrícola y agroindustrial mantiene su vigencia y es crucial para el sostenimiento de la economía argentina, con una superficie de siembra estimada para el ciclo agrícola 2015/2016 en 20,3 millones de ha y con un rinde estimado en 30,3 a 30,5 qq/ha. El crecimiento de la producción estuvo acompañado de un paquete tecnológico que incluía variedades, manejo agronómico, control de plagas, distintos insumos y maquinaria y como componente principal la inoculación apropiada con rizobios específicos. La falta de respuesta a la inoculación es determinante para alcanzar la máxima producción del cultivo en particular en lotes sin rotación con soja. Los estudios de selección de cepas de rizobios realizados desde 1990 en distintas regiones cultivadas con soja determinaron como resultado a *Bradyrhizobium japonicum* E 109 como la cepa más adaptable a la diversidad de ambientes cultivados y aún se mantiene como la recomendable para la producción de inoculantes. A inicios del 2000 se inició un Proyecto de estudio y difusión denominado "Proyecto Inocular" INTA en conjunto con 25 empresas productoras de inoculantes, donde se evaluó los efectos de la inoculación en las distintas condiciones del cultivo los parámetros evaluados fueron nodulación, biomasa aérea total R6 (BAT), N fijado y Rendimiento en grano (RG). Se organizó una base de datos con la información disponible. Los tratamientos inoculados aumentaron significativamente el número y peso de nódulos en Raíz Primaria, se determinaron efectos positivos significativos en BAT para la mayoría de los ambientes con la inoculación, y este tratamiento adicionalmente permitió incorporar en promedio más de 18 kg de N extra por ha. Los niveles de altos de N disponible en el suelo afectaron en forma negativa la FBN. En ambientes con menores niveles de N la respuesta en FBN fue elevada. El promedio de FBN a nivel nacional es cercano al 60% con oscilaciones entre 30 a 80%. La respuesta estimado en RG es de 243 kg.ha⁻¹, con valores oscilantes entre 5 a 10%, y en años secos la respuesta disminuye. La baja respuestas podrían estar asociadas a la calidad de la nodulación, se observó que cuando la nodulación no es adecuada en etapas tempranas los niveles de FBN y de respuesta en RG son imperceptibles, lo mismo podría suceder cuando los nódulos sufren procesos de estrés en etapas reproductivas y pierden o frenan su capacidad de fijar. Se concluye que la inoculación de soja tiene un efecto positivo verificable y significativo cuando las condiciones de temperatura, humedad y de manejo agronómico son adecuadas para lograr su máxima expresión.

Palabras clave: Bradyrhizobium; E 109; Nodulación.

FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO EM SOJA: A SIMBIOSE PERFEITA?

Fabio Martins Mercante, Auro Akio Otsubo

Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS, Brasil, fabio.mercante@embrapa.br

A elevada demanda de nitrogênio (N) pela cultura da soja exige um funcionamento eficiente do sistema simbiótico com bactérias diazotróficas, capaz de garantir o suprimento desse nutriente nos diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, visando a obtenção de níveis elevados de produtividade. Neste sentido, o crescimento da produção e o aumento da capacidade competitiva da soja brasileira estão associados aos avanços científicos e à disponibilização de tecnologias ao setor produtivo. De modo geral, diversas estratégias utilizadas pela pesquisa resultaram na independência da cultura em relação aos fertilizantes nitrogenados, sendo fundamental para viabilizar economicamente a cultura da soja no País. Entre estas estratégias destacam-se: utilização do dobro da dose de inoculantes em áreas de primeiro cultivo de soja; inoculação a cada ano (reinoculação) em áreas tradicionais de cultivo de soja; não aplicar fungicidas e/ou micronutrientes juntamente com o inoculante microbiano para evitar o possível efeito de toxicidade destes produtos sobre a bactéria; aplicação dos micronutrientes cobalto (Co) e molibdênio (Mo) em pulverização foliar, nos estádios de desenvolvimento V3-V5; evitar a adição de fertilizantes nitrogenados, em qualquer estágio de desenvolvimento das plantas, devido ao fato de não contribuir para o aumento significativo da produtividade da cultura, além de prejudicar a nodulação e o processo de fixação de N_2 (FBN). Assim, não se recomenda adubação mineral nitrogenada em cultivos de soja no Brasil. Sugere-se, também, a utilização de sistemas de manejo que reduzem os estresses de temperatura e umidade no solo, como o sistema plantio direto, que favorece a sobrevivência dos rizóbios nas sementes de soja e no solo, potencializando a nodulação e a FBN. Além disso, deve-se considerar as exigências elevadas da cultura, em geral, aos macronutrientes. Quanto à disponibilidade de fósforo (P), há um alto requerimento para a FBN, que pode ser afetada drasticamente pela sua deficiência. Da mesma forma, a deficiência de cálcio (Ca) pode afetar o desenvolvimento da planta, o estabelecimento da bactéria e a interação planta-rizóbio. Todas estas estratégias são fundamentais para maximizar o processo de FBN na cultura da soja, capaz de reduzir a emissão dos gases de efeito estufa (GEE), por meio da troca do N-fertilizante pelo uso do inoculante microbiano, estimada em torno de 45 milhões de t de $e\text{-CO}_2$.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill; Inoculante; Bactérias diazotróficas.

BNF BY SOYBEANS IN URUGUAY: CONTRIBUTION TO A SUSTAINABLE AGRICULTURE IN A NEW SCENARIO OF INTENSIFICATION

Elena Beyhaut, Agustín Nuñez, Stella Zerbino, José Terra

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria,
Montevideo, Uruguay, ebeyhaut@inia.org.uy

Symbiotic nitrogen fixation (SNF) can play a major role in the competitive profitability of soybean production in Uruguay. Concurrently, it provides ecological benefits by reducing the use of synthetic N-fertilizers, preventing the degradation of water sources. However, internationally reported percents of N derived from the atmosphere (%Ndfa) by soybeans are widely variable. This research focuses on assessing the proportion of symbiotically-fixed N (%Ndfa) by soybeans in Uruguay, using the ^{15}N natural abundance method. For descriptive and exploratory purposes, unreplicated measurements from commercial soybean paddocks were taken in three growing seasons totalling 40+ sites. Replicated experiments were established to depict the relationships among %Ndfa, inoculation procedures, soil properties, and the addition of phosphorus (P), potassium (K) and sulfur (S). Inoculation procedures involved time from inoculation to sowing, and product and dose of seed-applied fungicides. Soil properties comprised pH, organic carbon, potentially mineralizable nitrogen (PMN), and available P. One fourth of the commercial soybean paddocks derived less than 33% of N from the atmosphere, two fourths of the sites ranged from 33 to 66 of %Ndfa, and only the remaining fourth of the sites were able to derive more than 66% of N from the atmosphere. Principal component analysis (PCA) from combined replicated experimental plots and from commercial paddocks showed that %Ndfa was strongly and negatively associated to PMN. There was no association with available P, nor with soil organic carbon. No responses in %Ndfa were found to the supply of P+K+S in most cases. Further analyses are being conducted to depict the impact of inoculation procedures on %Ndfa. This communication shows the current contribution of biological N fixation to commercial soybeans at a national scale in Uruguay, and discusses optimized management practices if %Ndfa is to be maximized.

Keywords: ^{15}N ; BNF; Sustainability.

SESSÃO IX

A FBN EM CULTURAS DE MENOR IMPACTO ECONÔMICO E GRANDE IMPORTÂNCIA SOCIAL E AMBIENTAL

RIZÓBIOS PARA FORRAGEIRAS, ADUBOS VERDES E FLORESTAIS NO BRASIL: OPORTUNIDADES PARA O SEQUESTRO DE CARBONO

Jerri Édson Zilli

Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, jerri.zillii@embrapa.br

No período recente, o homem tem contribuído para o aquecimento global, em especial pela emissão de gases de efeito estufa (GEE) como o CO_2 , CH_4 e N_2O . O principal reservatório de N encontra-se na atmosfera sob a forma inerte, N_2 . Para a sua utilização pela maioria dos organismos, o N_2 precisa passar para formas reativas, como NO_3^- , NH_4^+ , entre outras, e a fixação biológica de N_2 (FBN), além das descargas elétricas naturais e indústria são os principais meios que tornam o N reativo. O Brasil possui um grande desafio de ofertar N à agricultura e reduzir as perdas com N_2O visando mitigar os GEE. Para cada unidade de N na forma de ureia utilizada na agricultura, cerca de 11 de equivalentes de CO_2 são emitidas, sendo o N_2O a principal molécula. Boa parte desta emissão (40%) ocorre antes do N-fertilizante chegar à lavoura, devido aos processos industriais e transporte. Ao contrário, com a FBN é desprezível a emissão de GEE fora da lavoura, mostrando ser uma estratégia para ingresso de N mais adequada. Além disso, tem sido mostrado que a relação C:N da matéria orgânica do solo tende a ser estável (8-10:1), indicando que só há acúmulo/sequestro de C orgânico com o aumento do N. Novamente, nos sistemas agrícolas, a FBN desponta como um processo viável, possibilitando um ingresso de N de barato e sem impactos negativos. O Brasil, com a cultura da soja, possui o maior exemplo de uso da FBN no mundo. Para outras culturas, no entanto, como a adubação verde, perdeu-se a tradição de uso. Nas décadas de 60 a 80 foram pujantes as pesquisas para diversos adubos verdes, forrageiras e florestais, levando a seleção de mais de 100 estirpes para mais de 50 leguminosas. A maioria destas estirpes, apesar de terem sido recomendadas, pouco foram utilizadas comercialmente. As principais razões para a não utilização são a falta de respostas positivas à inoculação, mercado pouco atraente, dificuldade de manuseio de dezenas de estirpes bacterianas na indústria e, a queda no uso de leguminosas como adubos verdes. Hoje, boa parte das indústrias apenas investe em inoculantes para soja e, às vezes, para poucas outras culturas, e há uma grande dificuldade para se adquirir sementes de adubos verdes, forrageiras e florestais. As principais oportunidades para sequestro de C no solo com o uso da FBN parecem ser: i) Criar programas de seleção e manutenção de bancos de sementes, ii) selecionar leguminosas com maior teor de lignina visando a produção de palhada para uso em plantio direto, ii) selecionar estirpes de rizóbios para a produção de inoculantes eficientes para várias culturas e iv) considerar que muitas leguminosas, especialmente as tropicais nativas, fixam grande quantidade de N, porém nem sempre respondem a inoculação.

Palavras-chave: FBN; Nitrogênio; Leguminosas.

IS THERE HOPE FOR BNF IN COMMON BEANS?

Iêda Carvalho Mendes¹, Fabio Martins Mercante²,
Fábio Bueno dos Reis Junior², Enderson Petrônio de Brito Ferreira³

¹Embrapa Cerrados, Brasília, Brazil, ieda.mendes@embrapa.br;

²Embrapa Agropecuária Oeste; ³Embrapa Arroz e Feijão

Although since 1984 there are *Rhizobium* strains available for common bean inoculation in Brazil, a survey in 2014 showed that only 15% of the Brazilian farmers adopt inoculation as a routine practice. Part of this disbelief in relation to common beans inoculation can be attributed to the fact that supposedly, bean inoculation would not be able to support increased yield levels in high-tech farms, being appropriate only for small farms. A series of demonstration units carried out since 2012, under farm conditions in the Cerrado region, have showed that a 10.8% mean increase in yield were obtained only with inoculation in relation to the treatment without inoculation and without nitrogen fertilization (whose average yield was 3163 kg ha⁻¹). It was also found that inoculation with supplementation of 60 kg ha⁻¹ of N promoted yield levels (4010 kg ha⁻¹) higher than those with 120 kg ha⁻¹ N as urea (3411 kg ha⁻¹). These results confirmed that bean inoculation replaces successfully half of the nitrogen fertilizer commonly used in high-tech farms. Only for the irrigated areas in the Cerrado region and in the Southeast of Brazil we estimate an yearly economy of US\$ 14 million dollars with the use of inoculation, not mentioning the environmental benefits of the reduced use of nitrogen fertilizers. Along with the results already available for small-scale agriculture and with the recent release of new *Rhizobium* strains, more efficient than the commercial ones, we can see that yes there is hope for bean inoculation. In the horizon of research teams, challenges related to seed-treatment with pesticides, inoculant formulation and inoculation methods will need special attention.

Keywords: Rhizobium; Inoculation; Cerrado region.

***Phaseolus lunatus* X rhizobia symbiosis: PERSPECTIVES AND POTENTIAL FOR GRAIN PRODUCTION IN FAMILIAR AGRICULTURE**

Ademir Sergio Ferreira de Araújo

UFPI, Teresina, Brazil, asfaruaj@yahoo.com.br

The lima bean (*Phaseolus lunatus*) is considered the second most economically important species of *Phaseolus* being an important source of protein for population from South America, Africa, and Mexico. It also has great relevance in Brazil, mainly in the Northeast, where it is used as an alternative food source and as an economic crop. This crop shows high capacity of adaptation and can resist to long dry periods and it is an important characteristic for the semi-arid region of Northeast Brazil. As a legume plant, lima bean has the ability to perform biological nitrogen fixation (BNF) due to symbiosis with nitrogen-fixing bacteria. Although this crop had been scarcely studied, some studies have found lima bean being nodulated by fast and slow growing rhizobia groups, such as *Bradyrhizobium* and *Rhizobium*. These few studies evaluated the genetic diversity among rhizobia from lima in a relative wide collection from geographic locations including Peru, Mexico, and Brazil. In Brazil, the studies have focused on isolation and characterization of rhizobia from Northeastern soils and found eight isolates with higher N accumulation and N_2 -fixation efficiency compared with the reference strains CIAT 899 and NGR 234. Also, the studies have shown a broad spectrum of rhizobial groups associated with lima bean, including *Bradyrhizobium* as main symbiont. Nowadays, we are focusing to prospect new isolates present in several soils from different regions of Northeast, Brazil, aiming to evaluate these isolates with different genotypes of lima bean from United States, Mexico, Peru and Brazil. There is a great potential for implementation of a program of inoculation and nitrogen fixation in Lima bean and the research is focusing the isolation, characterization and evaluation of rhizobia associated with the plant breeding program. This effort will increase the perspective for obtaining recommended strains for Lima bean and will contribute for increasing the crop yield.

Keywords: *Biological nitrogen fixation; Legumes; Rhizobia diversity.*

SESSÃO X

INDÚSTRIA E NEGÓCIOS

OS INOCULANTES SOBREVIVERÃO À NOVA REALIDADE CORPORATIVA DAS MULTINACIONAIS?

Solon Cordeiro Araújo

Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes,
Campinas, Brasil, solon@scaconsultoria.com.br

A produção comercial de inoculantes no Brasil iniciou-se em 1956, em Pelotas, RS, sob orientação do Dr. J. R. Jardim Freire, da Universidade Federal do R. G. do Sul. A partir de 1970, com a expansão da cultura da soja surgiram novas fábricas em especial no sul do país. A característica marcante, que predominou por muito tempo, foi a de produção do insumo por pequenas empresas, todas elas nacionais. Talvez pelo baixo preço do inoculante, não atraía as multinacionais. Na década de 90 uma grande empresa passou a comercializar inoculante, mas não com produção própria, apenas incluindo em seu portfólio. Com o crescente uso de inoculante e, em especial com a introdução do tratamento das sementes de soja com fungicidas e mais tarde, com inseticidas, houve um despertar de empresas maiores, muitas delas gigantes no mundo do agronegócio para este mercado. Atualmente, com as grandes empresas de agroquímicos produzindo inoculantes, um novo panorama se apresenta para o setor. Até então as empresas nacionais eram competidores de um porte aproximadamente semelhante. Agora terão que competir com gigantes multinacionais, portadoras de portfólios quase que completos para atender às necessidades da agricultura nacional. Por outro lado, as pequenas empresas sempre foram muito ligadas, até mesmo parcialmente dependentes, da pesquisa para seus projetos de desenvolvimento, pois por seu porte não podem fazer elevados investimentos em pesquisa e desenvolvimento. Assim, parece haver um desbalanceamento em favor das empresas maiores, mas isto pode não ser verdadeiro, se as empresas menores souberem fazer valer sua maior agilidade no sentido de introduzir inovações mais constantes. É conhecido na área de administração que as empresas de menor porte são sempre mais ágeis na introdução de novidades, enquanto as grandes corporações, por sua estrutura mais burocrática, tardam em se adequar às rápidas mudanças de mercados. Do ponto de vista do uso de inoculantes pelo agricultor, parece-nos até saudável a entrada destas grandes companhias. Até mesmo por erros de marketing o inoculante foi mal posicionado, aparecendo como um produto de baixa tecnologia. A entrada de empresas internacionais, vistas como profundamente ligadas à tecnologia, poderá dar mais “respeitabilidade” (do ponto de vista de mercado) para o inoculante. Entretanto, é fundamental que estas grandes empresas de fato façam uma “imersão” em inoculante, mudando parte de sua cultura, pois o trabalho com produtos biológicos requer uma especialização que estas empresas, voltadas durante anos para agroquímicos, terão que buscar com afinco.

Palavras-chave: Inoculantes; Comercialização; Mercado.

PRE-INOCULACIÓN DEL CULTIVO DE SOJA: OPORTUNIDADES Y AMENAZAS

Gustavo González Anta

Rizobacter, Pergamino, Argentina, vvitale@rizobacter.com.ar

La Fijación Biológica de Nitrógeno junto con la fotosíntesis constituye dos de los más importantes procesos biológicos que existen en la naturaleza para asegurar la producción de proteínas e hidratos de carbono. Asegurar la reducción del nitrógeno atmosférico y transformarlo en amonio para que pueda ser empleado en la producción de proteínas vegetales, es la función fundamental que tienen los procesos de simbiosis y en particular el de la simbiosis determinada por la asociación de plantas de soja con bacterias del género *Bradyrhizobium* sp. Consecuentemente, lograr una buena interacción entre el macro simbiote y el micro simbiote siempre ha sido el objetivo perseguido con las técnicas de inoculación a los efectos de potenciar la productividad de los cultivos de leguminosas. Las tecnologías de aplicación de inoculantes son diversas y han ido evolucionando con el transcurso del tiempo con el objetivo de satisfacer demandas y requerimientos de los nuevos manejos agrícolas. Es así que en los últimos años se ha planteado con gran interés la posibilidad de lograr pre-inoculaciones de semilla que sin ser perjudiciales desde el punto de vista de eficiencia agronómica de la simbiosis y de sus beneficios sobre la producción de los cultivos permitan pre-inocular las semillas para facilitar el manejo y asegurar tratamientos más seguros y eficientes de las semillas de soja. Estos tratamientos de pre-inoculación son el resultado de diferentes tecnologías basadas en los siguientes pilares científico-tecnológicos: 1. Selección de cepas microbianas por su capacidad de resistir condiciones de estreses abióticos al ser aplicados sobre la superficie de las semillas. 2. Empleo de protectores microbianos que confieren además de nutrientes esenciales para la vida celular, condiciones óptimas de humectación a la semilla. 3. Utilización de tecnologías de Osmoprotección a través del uso de formulaciones con sustancias osmoreguladoras y técnicas de producción industrial que mejoran la supervivencia microbiana bajo condiciones de estreses abióticos. 4. Evaluación y estudio de la compatibilidad de las diferentes tecnologías de pre-inoculación con distintos agroquímicos con los que se tratan las semillas. 5. Profesionalización del tratamiento de las semillas, desde el tratamiento per se hasta el almacenamiento y distribución de las semillas profesionalmente tratadas. En definitiva los tratamientos de pre-inoculación son el resultado de la combinación de tecnologías complementarias y sinérgicas que aseguran óptimas simbiosis y alta FBN cuando logramos una adecuada utilización, implementación, seguimiento y eficiencia de los cinco pilares científico-tecnológicos mencionados.

Palabras clave: Fijación Biológica de Nitrógeno; Simbiosis; Técnicas de inoculación.

MICROALGAE: RENEWABLE ENERGY FEEDSTOCK FOR BIOENERGY AND AGRICULTURAL APPLICATION

Diva de Souza Andrade

IAPAR, Londrina, Brazil, diva@iapar.br

Microalgae represent a diverse group of photosynthetic fast-growing unicellular or simple multicellular microorganisms, including prokaryotes and eukaryotes that can use light, dioxide of carbon (CO_2) or organic substrate to growth. Although commercial large-scale cultivation started in the early 1960's, the use of microalgae biomass as sources for generating renewable energy provoked heightened interest during crisis in the 1970's. These microorganisms seem to be the most feasible option to obtain sustainable feedstock for liquid fuels that could meet the global demand due to high growth rates, CO_2 fixation capability and large accumulation of oil compared to other oleaginous crops. In spite of the many advantages, the bottleneck of this technology is still represented by the costs of the process, both from the economic and energetic points of understanding. For example, harvesting and drying of microalgae biomass from high volume of water are an energy consuming process. Compared to the conventional agriculture practice, microalgae farming are more costly and complicated. These limitations could be minimized or overcome by designing advanced high photosynthesis efficiency photobioreactors, and developing low cost technologies for biomass harvesting, drying and oil extraction. Most microalgae grow photoautotrophic, but numerous heterotrophic or mixotrophic genera exhibit considerable metabolic versatility and flexibility. Thus, these mixotrophic species that can utilize nutrients from most wastewater growth using agroindustrial byproducts, for example, pig slurry, vinasse of sugar cane, dairy wastes and orange juice wastes what add value to the process of biomass production. In this talk, our purpose is to present some data from our project at Instituto Agronômico do Paraná aiming to study microalgae strain selection, physiological and genetic characterization, media and growth conditions based on biomass, lipid and pigments production. In addition, we illustrate with few figures the response of the common bean, soybean, maize and wheat to the co-inoculation of microalgae with rhizobia or *Azospirillum* authorized strains for commercial inoculants in Brazil aiming increase grain production. However, these technologies are still in the early stages and most have not been applied on a commercial scale.

Keywords: Biomass; Co-inoculation; Lipid.

HAY ESPACIO PARA PEQUEÑAS INDUSTRIAS DE INOCULANTES EN AMÉRICA LATINA?

Renato Valenzuela Bedregal

Agroindustrias Lucano SRL, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, renato@fertimax.com

Una revisión del proceso rutinario del uso de inoculantes en el cultivo de soya en Santa Cruz (Bolivia), nos permitirá apreciar la dinámica del comportamiento comercial de este insumo biológico como parte del tratamiento de semilla al momento de la siembra. Varios años de incisivo trabajo de comunicación reforzando conocimientos básicos de las ventajas de la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN), fortaleciendo su importancia y demostrando eficiencia a campo a través de la oferta de inoculantes producidos localmente, promovió una variada oferta de marcas importadas con un fuerte respaldo de mercadotecnia en desmedro de la estabilidad de una manufactura local de tipo semi-industrial. El aumento gradual del área de producción de soya y por tanto de la demanda de insumos, refuerza una agresiva estrategia de apropiación del mercado por grandes fabricantes. Aun así la oferta local resiste estoicamente y de forma exitosa marcando las pautas fundamentales en términos de calidad para convencer al agricultor sobre las ventajas de un producto propio, y también, marcando un referente que incide finalmente en que este usuario reciba al tiempo de la siembra productos de calidad probada y significativa eficiencia en campo. En esta ponencia analizaremos este proceso a fin de reconocer las prácticas que permiten a una pequeña industria local mantener un espacio en el mercado, de forma que estas experiencias puedan ser útiles a empresas similares que buscan establecerse proponiendo productos competitivos para las diferentes zonas productoras de leguminosas de los países que conforman la región Latino Americana.

Palabras clave: Fijación Biológica de Nitrógeno; Inoculantes; Cultivo de Soya.

ACADEMIA X INDÚSTRIA: DESAFIOS DE ADAPTAÇÃO DE ESCALA E DE OBTENÇÃO DE RESULTADOS

Ricardo Silva Araujo

Total Biotecnologia Indústria e Comércio S/A,
Curitiba, Brasil, rsaraujo@totalbiotecnologia.com.br

O maior desafio encarado pelas empresas voltadas à exploração comercial de biotecnologias reside em enfrentar as “dores do crescimento” sem perder o rumo. Na maioria dos casos, os resultados obtidos e protótipos de produtos desenvolvidos dentro de instituições de pesquisa de excelência não se adaptam à realidade da indústria, seja por demandarem a utilização de insumos de custo elevado, por exigirem adequações muitas vezes impossíveis às empresas nas suas linhas de produção, ou simplesmente por serem tecnologias viáveis apenas em escala laboratorial. Nesse sentido, a celebração de parcerias entre a indústria e a academia reveste-se de grande importância para que muito do que é desenvolvido em escala laboratorial acabe por se tornar um produto comercialável e cuja exploração econômica seja interessante. É preciso entender que as empresas jamais investirão em testes para o desenvolvimento de produtos para os quais não haja demanda de mercado, ou que venham a constituir redundâncias. O carro-chefe para as empresas é a inovação, mas com a expectativa de que os investimentos realizados pela indústria para o desenvolvimento e a produção da nova tecnologia venham a ser ressarcidos pelas vendas. Assim, é importante que academia e indústria caminhem juntas, em projetos colaborativos, visando ao desenvolvimento de produtos e ou tecnologias para os quais a indústria já detectou a demanda, dispondo-se a co-financiar as mais diversas etapas de desenvolvimento. Em alguns casos, as linhas de produção já existentes na indústria estarão adequadas à nova tecnologia, enquanto em outros serão necessárias adequações que podem representar elevados custos. Existem casos em que a tecnologia é desenvolvida unicamente pela academia, faltando informações sobre o escalonamento para produção em nível industrial. Novamente, torna-se importante o estreito relacionamento entre academia e indústria no sentido de avaliar a viabilidade de produção em escala industrial de tecnologias desenvolvidas em laboratórios. Em qualquer caso, nenhum resultado positivo será alcançado se não houver, por parte da indústria, interesse e disponibilidade financeira para investir nos estudos de escalonamento e viabilidade de produção. A elaboração de propostas de projetos de parcerias, submetidos a editais de financiamento público, pode ser uma alternativa viável para obter os recursos necessários a essas etapas. Em qualquer caso, é preciso ter sempre em mente que as maiores chances de sucesso decorrem do bom entendimento entre academia e indústria.

Palavras-chave: Parceria; Inovação tecnológica; Investimento.

PALESTRA DE ENCERRAMENTO

MÁS DE UN SIGLO DE INOCULANTES: DE LA BACTERIA A LA MOLÉCULA

Manuel Megías, Francisco Javier Ollero Márquez

Universidad de Sevilla, España, megiasg@us.es

La inoculación de plantas con bacterias beneficiosas se conoce desde hace siglos. A finales del siglo XIX se practicaba la técnica de mezclar suelo “inoculado naturalmente” con semillas de leguminosas, recomendándola como práctica agrícola para la inoculación de semillas en USA. En 1896, se patenta el primer inoculante a base de rizobios y se denominó “Nitragrin”. Desde entonces, en los últimos 100 años los inoculantes de rizobios se han introducido a lo largo y ancho del mundo. Un inoculante biológico es un producto a base de microorganismos: hongos y/o bacterias, que aplicados a las plantas permiten aumentar o mejorar el crecimiento vegetal e incrementar el rendimiento de cosechas eliminando o reduciendo sustancialmente los insumos químicos utilizados en la agricultura del primer mundo. Aplicados en las plantas, los inoculantes pueden mejorar la nutrición, estimulan el crecimiento vegetal y protegen a los vegetales frente al estrés biótico o abiótico. Los inoculantes moleculares son aquellos inoculantes biológicos en los que se les añaden moléculas que proceden de microorganismos beneficiosos y excepcionalmente de plantas, que permiten mejorar significativamente la eficiencia de los inoculantes microbianos cuando se aplican a plantas de interés agrícola. Las moléculas utilizadas para generar los inoculantes moleculares pueden ser moléculas de comunicación entre plantas, microorganismos o plantas y microorganismos; enzimas o metabolitos bacterianos o moléculas estructurales de los propios microorganismos. Los inoculantes sólidos se suelen formular sobre sustratos orgánicos o inorgánicos. Se pueden fabricar inoculantes granulados utilizando sustratos inorgánicos como el alginato. Actualmente, se están formulando inoculantes mediante microencapsulación utilizando polímeros que permiten la protección de los microorganismos o la liberación lenta de los mismos. Uno de los problemas fundamentales para el buen funcionamiento de un inoculante radica en su método de aplicación. Pueden aplicarse en semillas con formulaciones sólidas como líquidas. Se pueden aplicar en surco, en el momento de la siembra, para lo que se utiliza normalmente inoculante granular o líquido. La aplicación foliar del inoculante está siendo muy utilizada por su facilidad de aplicación aunque solo se pueden utilizar inoculantes líquidos. La aplicación en fertirriego es una práctica que actualmente está en desarrollo, aplicados fundamentalmente para cultivos intensivos y deben ser inoculantes líquidos o granulados pero solubles en agua. Finalmente, hoy en día el aplicar directamente el inoculante en semilla, es decir vender semillas pre-tratadas, sería el mayor avance en el mundo del inoculante.

Palabras clave: Extractos metabólicos; Rizobios; Productividad de los cultivos.

RESUMOS DOS PÔSTERES

SESSÃO PÔSTER I

BIODIVERSIDADE, TAXONOMIA, EVOLUÇÃO E ECOLOGIA DE RIZOBACTÉRIAS

ANÁLISE POLIFÁSICA DO GÊNERO *Bradyrhizobium* APONTA A EXISTÊNCIA DE UMA NOVA ESPÉCIE

Jakeline Renata Marçon Delamuta¹, Renan Augusto Ribeiro², Jerri Édson Zilli³,
Jean Luiz Simões de Araújo³, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, Brasil, jake_renata@hotmail.com;

²CNPq; ³Embrapa Agrobiologia

A fixação biológica de nitrogênio, realizada por bactérias em simbiose com plantas leguminosas, é um processo fundamental para a produção agrícola e a sustentabilidade ambiental, incluindo a redução do uso de fertilizantes nitrogenados. Diversas estirpes do gênero *Bradyrhizobium* são altamente eficazes em fixar nitrogênio, sendo que muitas estão hoje disponíveis para utilização em inoculantes comerciais. No entanto, ainda são escassos os estudos que permitam compreender melhor a elevada diversidade que existe nesse gênero tão intrigante. De tal modo, neste trabalho, três estirpes de *Bradyrhizobium* - BR 446, BR 510 e BR 511 - isoladas de *Stylosanthes* spp., uma importante leguminosa forrageira tropical, foram investigadas sob uma abordagem polifásica, incluindo dados filogenéticos, genéticos e fenotípicos. Para avaliar a relação evolutiva entre as estirpes e as demais espécies do gênero, a técnica de MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*) foi empregada, utilizando-se genes *housekeeping* concatenados (*dnaK*, *glnII*, *gyrB*, *recA* e *rpoB*) e os resultados foram comparados com aqueles obtidos com o gene ribossomal 16S. Em ambas as análises, as estirpes formaram um grupo isolado e apresentaram maior relação genética com a espécie *B. huanghuaihaiense*. Um dendrograma da região ITS, situada entre os genes ribossomais 16S e 23S, também agrupou as estirpes em um clado isolado, com um nível de similaridade inferior a 93,4% em relação às demais espécies de *Bradyrhizobium*. O *fingerprinting* obtido pela reação de BOX-PCR revelou alta similaridade entre as três estirpes, de 87,9%. Dados de hibridização DNA-DNA, considerando valores expressos pela diferença de ΔT_m (diferença na temperatura de desnaturação das fitas de DNA), mostraram que as estirpes BR apresentam menos de 5°C de ΔT_m entre seus genomas, valor dentro do limite necessário para se considerar estirpes como sendo da mesma espécie, e mais de 6,7°C com *B. huanghuaihaiense*. A análise dos genes relacionados às características simbióticas, *nifH* e *nodC*, posicionaram as estirpes em um clado distinto das outras espécies do gênero. A avaliação morfofisiológica das estirpes incluiu a fermentação de diversas fontes de carbono, crescimento em diferentes temperaturas e pH, tolerância a salinidade e a antibióticos, além da análise do perfil de ácidos graxos. De acordo com as normas do Comitê Internacional de Sistemática de Procariotos (ICSP), os dados polifásicos obtidos indicam que as estirpes BR representam uma nova espécie dentro do gênero *Bradyrhizobium*, além de contribuir para o maior conhecimento da diversidade de rizóbios.

Palavras-chave: Taxonomia polifásica; Diversidade genética; Fixação biológica de nitrogênio.

ANÁLISES GENÔMICAS NA DEFINIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES

Renan Augusto Ribeiro¹, Douglas Fabiano Gomes², Jakeline Renata Marçon Delamuta²,
Marco Antonio Nogueira², Mariangela Hungria²

¹CNPq, Londrina, Brasil, renan.ribeiro@embrapa.br; ²Embrapa Soja

Nas últimas décadas houve uma significativa preocupação com o meio ambiente devido aos estudos climáticos e ambientais que apontam uma exponencial degradação do planeta, fazendo com que políticas severas de redução de emissões de gases e poluentes entrem em um caminho sem volta. É notável que a inoculação de microrganismos promotores de crescimento em plantas é uma técnica altamente recomendável para a redução da emissão desses gases, pois diminui a utilização de fertilizantes nitrogenados derivados de petróleo. Por trás da inoculação, existe um amplo estudo para selecionar as melhores estirpes, e com isso é primordial um estudo taxonômico, para que se saiba exatamente com qual microrganismo se está trabalhando. Devido à evolução tecnológica, a maneira como os microrganismos são diferenciados uns dos outros vem mudando, fazendo com que a Taxonomia moderna esteja cada vez mais conectada ao desenvolvimento de programas na área da computação, matemática e estatística, além de equipamentos mais eficientes, o que a torna uma ciência moldável ao longo do tempo para acompanhar as novas necessidades. Neste contexto destacam-se as novas plataformas para sequenciamento de genomas, que consistem em sequenciar o genoma total de um organismo. Até poucos anos a principal técnica obrigatória para a descrição de uma nova espécie era a hibridação DNA-DNA, a qual possui inúmeras desvantagens, entre elas a utilização de isótopos radioativos, a dificuldade de reprodutibilidade entre os laboratórios e a impossibilidade de manter um banco de dados comum em todo o mundo. Com isso, a técnica de ANI (Average Nucleotide Identity) vem sendo fortemente recomendada pelas revistas especializadas na descrição de novas espécies procarióticas. Esta técnica consiste em sequenciar o genoma ou utilizar genomas já depositados em banco de dados públicos (NCBI, EBI), para realizar uma comparação de identidade entre as suas sequências nucleotídicas. Para isso podemos usar plataformas gratuitas e online, como <http://enve-omics.ce.gatech.edu/ani/> ou através de programas computacionais gratuitos como o JSpecies. Outra informação que pode ser obtida através do sequenciamento do genoma é a porcentagem de seu conteúdo GC, a qual também é obrigatória para a descrição de uma nova espécie. Recentemente nosso grupo de pesquisa publicou artigos em periódicos científicos com a descrição de novas espécies de rizóbios, além da informação de seus genomas completos sendo eles: *Bradyrhizobium viridifuturi* Strain SEMIA 690T, *Rhizobium ecuadorensense* Strain CNPSO 671T, *Bradyrhizobium tropiciagri* Strain CNPSO 1112T, *Bradyrhizobium pachyrrhizi* Strain PAC48T, demonstrando a importância desses estudos genômicos dentro da taxonomia procariótica moderna.

Palavras-chave: Rizóbio; ANI (Nucleotide Average Identity); *Bradyrhizobium*.

AUTENTICAÇÃO DOS GENES *nodC* E *nifH* POR DUPLEX-PCR EM RIZÓBIOS DE TRÊS LEGUMINOSAS ARBÓREAS DA CAATINGA

Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra¹, Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos²,
Maria Luiza Ribeiro Bastos da Silva¹, Ana Dolores Santiago de Freitas²

¹IPA; ²UFRPE, Recife, Brasil, ana.freitas@depa.ufrpe.br

Para facilitar o trabalho de autenticação de rizóbios, nódulos de bactérias de leguminosas arbóreas, utilizou-se a técnica de duplex-PCR com os genes *nodC* e *nifH* em 27 isolados das leguminosas arbóreas *Mimosa tenuiflora* (jurema preta-JP), *Piptadenia stipulacea* (jurema branca-JB) e *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá-S). Usamos os primers: PolF(*nifH*) (TGCGAYCCSAARGCBGACTC) e PolR(*nifH*) (ATSGCCATCATYTCRCCGGA), NodCF (AYGTHGTYGAYGACGGTTC) e NodCR(I) (CGYGACAGCCANTCKCTATTG). O mix de reação foi: tampão Taq Polimerase Invitrogen 1X, MgCl₂ (2,5 mM), dNTP(1,2 mM), Taq DNA Polimerase (0,3U), primers (1μM *nifH* + 0,6μM (*nodC*), DNA molde (40 ng). As condições de amplificação: desnaturação 94°C por 5 min, 35 ciclos (1 min a 94°C), anelamento (45seg a 55°C) e extensão (1 min a 72°C), um ciclo de extensão final (72°C por 1 min). Três isolados de jurema preta (JB02, JB09 e JB18) não mostraram amplificação com nenhum dos genes. Os demais (JB13, JB06, JB12, JB16, JB05, JB11, JB14 e JB42) mostraram-se extremamente polimórficos na duplex-PCR, com fragmentos que poderiam ser considerados para os dois genes. Apenas um dos isolados de sabiá (SB10) não amplificou. Os isolados JB15, JB01, SB20, SB02, SB06, SB04 e SB14 mostraram-se polimórficos para os dois genes *nif* e *nod*. Os isolados JB06 e JB02 amplificaram dois fragmentos. Apenas JP08.2, amplificou três bandas: 500,400 e 300 pb. Interessantemente, estes mesmos primers foram usados em estirpes tipo de *R. tropici*, *Ensifer* sp, *Bradyrhizobium* sp., *B. japonicum*, *A. brasilense*, *H. seropedicae* em duplex-PCR e geraram fragmentos de 360 pb para o gene *nifH* e de 980 pb para o gene *nodC*. Diante da variação encontrada pelos genes *nifH* e *nodC* neste estudo, observamos que os dois genes destes isolados possuem características distintas das encontradas pelas estirpes tipo citadas acima, pois encontramos um padrão de bandas com muita variação. Muitas características do gene *nifH*, com base em árvore filogenética, são inteiramente consistentes com a filogenia do 16S rRNA das bactérias fixadoras de N₂. Porém, a diversidade dos genes *nifH* permite uma maior representação da diversidade taxonômica das bactérias fixadoras, que pode ser usada para estudos de diversidade da comunidade bacteriana fixadora de nitrogênio. Estudos realizados comparando filogenia dos genes 16S rRNA, *nif* e *nod* suportam a ideia da transferência lateral de genes simbióticos. Concluímos que a autenticação com os genes *nifH* e *nodC* ainda é muito confusa, visto que ambos os genes são altamente polimórficos entre espécies e biovars. Como os isolados são de regiões de caatinga e de plantas pouco estudadas, podemos ter uma variação muito grande nestes genes e, portanto para estes isolados pouco conhecidos, esta técnica não é aconselhável. Fonte financiadora: CNPq, Processo 472997/2012-2.

Palavras-chave: Semiárido; Fixação de N₂; Nodulação.

BACTÉRIAS FIXADORAS DE N₂, SIMBIÓTICAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS, TÊM ALTA DIVERSIDADE FUNCIONAL E GENÉTICA

Juliana dos Santos Costa, Rayssa Pereira Vicentin,
Amanda Azarias Guimarães, Fatima Maria de Souza Moreira

UFLA, Lavras, Brasil, amandaazarias@gmail.com

A maior diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL) pode maximizar o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em áreas degradadas, devido ao fato destas poderem realizar simbiose com várias espécies de leguminosas, aumentando a resiliência do processo. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biodiversidade e a eficiência simbiótica de bactérias que nodulam mudas de leguminosas arbóreas produzidas no viveiro pertencente à Mina Córrego do Meio, Propriedade da VALE, no município de Sabará, MG. No viveiro, havia 20 espécies de leguminosas, mas somente 11 apresentaram nódulos, os quais foram coletados e armazenados em sílica gel para transporte. Posteriormente, os nódulos foram macerados em placas de petri, contendo meio de cultura 79 sólido, e todos os morfotipos obtidos foram isolados e caracterizados culturalmente. Para autenticar, ou seja, verificar a capacidade nodulação, e avaliar a eficiência simbiótica dessas estirpes em siratro (*Macroptilium atropurpureum*), um experimento em tubete foi conduzido por 45 dias, em casa de vegetação. A diversidade genética foi avaliada a partir do sequenciamento parcial do gene 16S rRNA de estirpes representantes dos grupos culturais. Foram obtidas 90 estirpes em cultura pura, as quais formaram oito grupos culturais distintos, considerando o tempo de crescimento e a reação do indicador de pH do meio. No experimento de autenticação e eficiência simbiótica, 82 estirpes nodularam e apresentaram eficiência relativa variável, sendo que nove estirpes se destacaram, por apresentarem eficiência relativa superior ao tratamento controle sem inoculação e com N mineral. As estirpes foram identificadas como pertencentes a gêneros de BFNNL [*Bradyrhizobium* (21), *Rhizobium* (8) e *Burkholderia* (3)] e a gêneros não reconhecidos como simbiontes [*Bacillus* (3), *Paenibacillus* (3), *Lysinibacillus* (1), *Bosea* (1), *Cohnella* (1) e *Leifsonia* (1)]. Com exceção de uma estirpe do gênero *Bradyrhizobium*, uma *Cohnella* e uma *Paenibacillus*, todas nodularam siratro em condições axênicas. A diversidade fenotípica e genética de BFNNL associadas às leguminosas dos biomas da Mata Atlântica e Cerrado foi elevada. Além disso, o presente trabalho apresenta os primeiros passos para o desenvolvimento de novas pesquisas relacionadas à produção de inoculantes para as leguminosas de origem das estirpes. Apoio financeiro: VALE, FAPEMIG, CAPES (PROEX 590/2014), CNPq.

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio; Leguminosas Florestais; *Macroptilium atropurpureum*.

***Bradyrhizobium* ISOLATES FROM SUGARCANE ROOTS FORM A NEW PHYLOGENETIC GROUP WITH POTENTIAL FOR THE DEVELOPMENT OF INOCULANTS**

Gustavo Feitosa de Matos¹, Janaina Costa Ribeiro Rouws², Jean Luiz Simões de Araújo², Veronica Massena Reis², José Ivo Baldani², Luc Felicianus Marie Rouws²

¹UFRRJ, Seropédica, Brazil, gustavo.ufrrj@yahoo.com.br; ²Embrapa Agrobiologia

Molecular biological studies have demonstrated the presence of *Bradyrhizobium*-related nifH mRNA phylotypes in sugarcane, suggesting a role of this bacterial genus, which is well known as legume microsymbiont, in biological nitrogen fixation (BNF) associated with sugarcane, a Poaceae family member. In a follow up study, the use of cowpea as a 'trap plant' allowed the cultivation of a diverse collection of *Bradyrhizobium* spp. endophytes from sugarcane roots. In this collection of 109 isolates, 36 isolates were highly similar as determined by BOX-PCR analysis. A greenhouse growth promotion experiment was carried out and the representative strain, P9-20, of this group showed a significant positive effect on sugarcane root volume after 30 days growth. In addition, the acetylene reduction assay demonstrated that strain P9-20 had a low but consistent nitrogenase activity in vitro in a semi-solid culture medium. Based on these results, four representants of the group with 36 isolates (P9-20, P4-7, P5-24 and P7-18) were selected for a more detailed characterization. Multilocus sequence analysis (MLSA) involving four 'housekeeping' genes (recA, dnaK and glnII and atpD) of these isolates placed them in the *B. japonicum* superclade, on an independent branch near *B. huanghuaihaiense*, a soybean microsymbiont. A similar phylogeny was observed for the nodC gene, although inoculation assays showed that our strains were unable to nodulate soybean. Sequencing and annotation of the whole genome of strain P9-20 revealed the presence of 43 genes involved with nitrogen fixation including two copies of nifHDK. Phylogenetic analyses of the nifH1 and nifH2 genes showed that they were divergent in terms of nucleotide sequence, which is unusual in other studied species/strains of the genus *Bradyrhizobium*. Possibly this result is related with the specific lifestyle of these new isolates. These results indicate that these new sugarcane *Bradyrhizobium* isolates represent a new species with agrobiotechnological potential.

Keywords: Plant growth promoting bacteria; Multilocus sequence analysis; Non-legumes.

CAN ARBUSCULAR MYCORRHIZAS MEDIATE INTERACTIONS BETWEEN PLANTS OF DIFFERENT SUCCESSIONAL STAGES AND N-CYCLING MICROORGANISMS?

Artur Berbel Lirio Rondina¹, Brenda Cristye Tonon¹, Carolina Honda¹,
Enio Massao Matsuura¹, Bianca Machado Silva¹, Mariangela Hungria²,
Marco Antonio Nogueira², Waldemar Zangaro¹

¹UEL, Londrina, PR, Brazil, arturrondina@hotmail.com; ²Embrapa Soja

Plants of distinct successional stages have different relationships with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). These fungi can regulate rhizodeposition and, so, the amount and activity of other microorganisms in the rhizosphere. We carried out a field investigation to verify if mycorrhizal root colonization affects the amount and activity of N-cycling microorganisms in rhizosphere over the succession. Samplings were performed in August 2014, December 2014, and March 2015, in sites at different successional stages of an Atlantic Semideciduous forest located in Londrina, Paraná, Brazil: a site with herbs (site 1), a site with herbs, shrubs and early trees (site 2), a secondary forest (site 3) and a mature forest (site 4). At each sampling, seven samples of rhizosphere and the corresponding bulk soil were sampled. Carbon of microbial biomass (CMB), ammonification (AR) and nitrification (NR) rates, number of ammonifiers (AMO) and N₂-fixing bacteria that use glucose as C-source (NFG) were assessed. Fine roots were obtained to quantify the mycorrhizal colonization (MC). The ratio rhizosphere/bulk soil (R/B) was calculated for all variables, except for MC. Anova followed by Tukey's test was used to compare MC and R/B ratios among the four sites. Pearson's correlation analysis was performed between MC and the other variables in rhizosphere, considering all the sites together. The ratio R/B for CMB was higher in site 4 (2.07) than in the other sites (site 1 = 1.43, site 2 = 1.53 and site 3 = 1.59). The sites 2, 3 and 4 exhibited higher R/B ratios (1.82, 1.44 and 1.59, respectively) for AR than site 1 (-0.95). The ratios R/B for AMO in sites 3 (5.75) and 4 (7.58) did not differ between them but they differed from sites 1 (1.38) and 2 (2.40). The ratios R/B for NFG in sites 3 (6.45) and 4 (7.24) were higher than in sites 1 (1.68) and 2 (2.30). The ratio R/B for NR was higher in site 1 (1.70) than in sites 2, 3 and 4 (1.03, 0.98, and 1.00, respectively). The MC reduced over the succession. It was higher in sites 1 (67%) and 2 (69%) than in sites 3 (51%) and 4 (17%). MC was correlated with CMB ($r = -0.51$), AMO ($r = -0.50$) and AR ($r = -0.79$) in the rhizosphere. AMF and most of N-cycling microorganisms depend on photosynthates from plants as C-source. AMF are inside the roots and they can intercept C from plants before its exudation, which can reduce the amount of resources for rhizosphere microbial communities. The lower R/B ratios of almost all variables in the early-successional sites where MC is high and the negative correlation between MC and CMB, AMO and AR support the hypothesis that AMF can work as mediator of rhizosphere interactions between plants and N-cycling microorganisms at distinct successional stages.

Keywords: N-fixing bacteria; Rhizosphere; Tropical forest.

CAPACIDAD ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL DEL GÉNERO *Bacillus* AISLADAS DE FRIJOL

Miriam Memenza-Zegarra, Doris Zúñiga-Dávila

Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología,
Lima, Perú, estemir65@gmail.com

El cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es originario del continente Americano y en el Perú es una de las leguminosas de mayor consumo por su alto contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y minerales. Los principales problemas que merman la producción de frijol es el daño causado por hongos fitopatógenos y pobre nutrición. Bacterias del género *Bacillus* habitantes de la rizósfera de diferentes plantas cultivadas usualmente muestran actividad promotora del crecimiento de plantas (PGP) incluyendo la capacidad de inhibir el crecimiento vegetativo de hongos fitopatógenos. En este contexto, se estudió la presencia natural de estos microorganismos en la rizósfera de plantas de frijol cultivadas en el valle de Ica, Perú. Una colección de cincuenta y ocho cepas del género *Bacillus* fueron evaluadas a nivel in vitro en su capacidad antagonista contra los hongos fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* utilizando el método de cultivo dual. Del total de las cepas evaluadas, solo trece presentaron capacidad antagonista, de las cuales trece (36%) redujeron el crecimiento micelial del hongo patógeno *S. sclerotiorum*; once cepas (31%), contra *F. oxysporum* y; nueve cepas (25%), contra *R. solani*. Las cepas antagonistas también fueron caracterizadas en otras actividades PGPR. 100% de las cepas produjeron 3 - ácido indolacético en diferentes valores iguales o superiores a la cepa control *Bacillus amiloquefaciens*, y el 31% presentaron crecimiento progresivo en fosfato bicálcico y tricálcico con halos de solubilización en un rango de 7 mm a 14 mm y de 1 mm a 2 mm respectivamente. En la evaluación de la actividad antagonista por las células de *Bacillus* IcBac01-4 e IcBac02-1, así como, por sus metabolitos extracelulares, se observó la reducción del crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* a nivel in vitro. En el caso de biomasa, ambas cepas controlaron el crecimiento del hongo patógeno en todos los momentos de evaluación sin diferencias significativas; mientras que, en el caso de metabolitos extracelulares, la cepa IcBac01-4 solo presentó antagonismo a las setenta y dos horas de evaluación con un porcentaje de inhibición del 65%. La cepa IcBac02-1 redujo el crecimiento micelial recién a las ciento veinte horas de crecimiento bacteriano hasta el final de la evaluación con un máximo porcentaje de inhibición del 76.4%. El análisis filogenético reveló que las dos cepas mencionadas pertenecieron a las especies *Bacillus halotolerans* y *Bacillus jamilae*. Los resultados sugieren que la rizósfera de frijol es una fuente de especies antagonistas contra hongos patógenos del suelo con potencial a ser utilizadas como bacterias PGP para mejorar el cultivo de frijol en campo.

Palabras clave: Metabolitos; Biomasa; Antagonismo.

CAPACIDADE DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA BORAL (SULFENTRAZONE) POR CONSÓRCIO BACTERIANO COMO ESTRATÉGIA DE TOLERÂNCIA

P. K. A. Paula, V. J. B. F. Nascimento, L. R. Olchanheski,
Jesiane Stefania da Silva Batista, J. Emiliano, S. A. V. Pileggi, M. Pileggi

UEPG, Ponta Grossa, Brasil, vjanoni@gmail.com

O herbicida Boral, cujo princípio ativo é o Sulfentrazone, é utilizado em culturas da cana-de-açúcar, soja, milho e fumo, atua inibindo a enzima protox, envolvida na formação da clorofila. Este herbicida tem alta persistência em solo, com meia vida entre 110 e 280 dias, caracterizando um problema importante em agricultura, o efeito residual. A degradação microbiana, inclusive por consórcios indígenas, foi caracterizada como um mecanismo importante na dissipação do herbicida, já que sua degradação é muito mais lenta em solos esterilizados. Sulfentrazone é uma molécula potencialmente tóxica, devido a sua estrutura química poder gerar Espécies Reativas de Oxigênio, o que podem levar à uma condição de estresse oxidativo em células microbianas. Bactérias podem apresentar, contudo, mecanismos estruturais e enzimáticos para diminuir estes efeitos deletérios. Este trabalho teve como objetivo verificar uma estratégia de tolerância ao Sulfentrazone, por meio da capacidade de degradação por meio de isolados microbianos de solo. Bactérias tolerantes foram isoladas de solo tratado com Boral em meio seletivo. Um consórcio composto por um grupo de quatro linhagens bacterianas, identificadas como *Bacillus megaterium* S29, *B. megaterium* S31, *B. pumilus* e *B. megaterium* S35, degradaram 50% do sulfentrazone, de acordo com dados obtidos por meio de HPLC. Deste grupo, apenas *B. megaterium* S35 apresentou uma taxa mensurável de degradação de 20%. Quantificações de peróxido de hidrogênio e de MDA mostraram que a presença do Sulfentrazone aumenta os indicadores de estresse oxidativo nas bactérias já na dose de campo, porém a viabilidade e o crescimento celular são afetados somente a partir de concentrações de herbicida de 10 x a dose de campo. Conclui-se que sulfentrazone aumenta significativamente o estresse oxidativo nas bactérias isoladas, porém um sistema de respostas, incluindo o potencial degradador de consórcios bacterianos e mecanismos antioxidativos enzimáticos, permitiram uma adaptação de microbiotas em solos contaminados com este herbicida.

Palavras-chave: Biodegradação de xenobióticos; Estresse oxidativo; Consórcios bacterianos.

CARACTERIZAÇÃO E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO ISOLADAS DE *Stylosanthes* spp. EM SAVANA AMAZÔNICA

Josimar da Silva Chaves¹, Krisle da Silva²

¹UFRR; ²Embrapa Roraima, Boa Vista, Brasil, krisle.silva@embrapa.br

Entre as leguminosas forrageiras adaptadas as condições edafoclimáticas de regiões tropicais, o gênero *Stylosanthes* destaca-se com ampla adaptação e por estabelecer simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, tornando-se alternativa para a melhoria da qualidade das pastagens. O objetivo deste trabalho foi caracterizar geneticamente e avaliar a eficiência simbiótica de bactérias isoladas de *Stylosanthes* spp. As bactérias foram obtidas de diferentes espécies de estilosantes coletadas na savana de Roraima e são mantidas na Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Roraima. Trinta e um isolados, autenticados como nodulíferos foram crescidos em meio 79 líquido por quatro dias e o DNA genômico foi extraído para a amplificação e sequenciamento do 16S rRNA. Além disso foi avaliada a eficiência simbiótica das novas estirpes em *Stylosanthes capitata*, genótipo lavradeiro. Os tratamentos foram os 31 novos isolados, um controle com a inoculação da estirpe BR 446 (*Bradyrhizobium* sp.) e dois controles (com e sem nitrogênio mineral), totalizando 34 tratamentos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e em vasos com uma mistura de areia e solo (1:1) esterilizada. O sequenciamento do gene 16S mostrou que os isolados pertencentes a α -proteobactéria, sendo os gêneros *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* e *Mesorhizobium* e β -proteobactéria (*Burkholderia* e *Herbaspirillum*). Quando avaliados a eficiência em *S. capitata*, 15 isolados proporcionaram maior número de nódulo, destes, três, ERR 1025, ERR 917 e ERR 1072, também proporcionaram maior massa de nódulos, os quais não diferiram da estirpe BR 446. Entre os isolados com maior número de nódulos, três (ERR 1178, ERR 917 e ERR 921), apresentaram maior produção de biomassa das plantas e apenas o ERR 1178 proporcionou maior acúmulo de nitrogênio, diferindo da estirpe BR 446. Os resultados obtidos neste estudo indicaram que existem ao menos cinco gêneros bacterianos capazes de nodular *Stylosanthes* spp. na savana de Roraima. Tanto α -proteobactéria quanto β -proteobactéria são capazes de nodular *Stylosanthes* spp. Os isolados ERR 942 e ERR 1178, ambos do gênero *Bradyrhizobium*, apresentam potencial para serem testadas em condições de campo com *Stylosanthes* spp.

Palavras-chave: Rizóbios; 16S rRNA; Forrageiras.

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E FILOGENÉTICA DE *Burkholderia* ISOLADAS DE NÓDULOS DE *Phaseolus vulgaris* EM SOLOS DO “CERRADÃO”

Rebeca Fuzinato Dall’Agnol¹, Fábio Plotegher¹,
Renata Carolini Souza², Iêda Carvalho Mendes³, Fábio Bueno dos Reis Junior³,
Gilles Béna⁴, Lionel Moulin⁴, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja; ²UFPR, Curitiba, Brasil, renata.kerolini@gmail.com;

³Embrapa Cerrados; ⁴IRD, France

Espécies de *Burkholderia* capazes de nodular e fixar N₂ em plantas leguminosas (também chamadas beta-rizóbios) representam um grupo especialmente interessante dentro do gênero, uma vez que tais bactérias possuem diversos potenciais biotecnológicos, agronômicos e ambientais. Ao explorar a diversidade de *Burkholderia* existente em determinado local pode-se elucidar aspectos relacionados às suas funções ecológicas e atribuições ligadas à manutenção do solo. Com o objetivo de avaliar a diversidade intra e interespecie de rizóbios existentes em áreas não-perturbadas do Cerrado brasileiro – uma das regiões mais importantes para a agricultura nacional e um dos biomas considerados prioritários para a conservação da biodiversidade – utilizamos o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) como planta-isca, em solos cobertos pela fitofisionomia “cerradão”. Primeiramente, realizou-se uma caracterização genética dos 181 isolados por meio da metodologia de BOX-PCR, que avalia a diversidade intraespecífica e constatou-se alta intra e interdiversidade entre as estirpes. Posteriormente foi realizado uma abordagem por RFLP-PCR do gene 16SrRNA das 84 estirpes representativas – estirpes que apresentaram perfis únicos nas análises de BOX-PCR – resultando em dois grupos principais: um pequeno grupo composto por estirpes de *Rhizobium* e outro composto por estirpes de *Burkholderia*, os quais foram identificados através do sequenciamento do gene 16SrRNA. Devido ao maior número de *Burkholderia* encontrado, as análises subsequentes foram realizadas apenas com isolados deste gênero. De acordo com a filogenia de genes conservados do genoma – gene ribossomal 16SrRNA e genes housekeeping recA e gyrB – os isolados formaram um agrupamento com a estirpe-tipo de *B. nodosa* e foram, portanto, caracterizados como pertencentes a esta espécie. Na filogenia do gene simbiótico nodC as estirpes foram igualmente posicionadas no mesmo grupamento de *B. nodosa*. Todos os isolados foram testados quanto à sua capacidade de nodular e fixar N₂ em feijoeiro, sendo os parâmetros avaliados número e massa de nódulos secos, teor de N e N total da parte aérea. Com exceção de três estirpes identificadas como eficientes noduladoras e fixadoras de N₂ em feijoeiro, os isolados apresentaram baixa capacidade de fixação. Os solos do Cerrado caracterizam-se por apresentar baixo pH, alta saturação de alumínio e baixo teor de nutrientes, incluindo o N, sendo que estas propriedades associadas a outras características edáficas podem ter contribuído para a predominância de *B. nodosa* nesta região, indicando que esta espécie possivelmente desempenha um papel importante na conservação e manutenção deste ecossistema.

Palavras-chave: Filogenia; Rizóbios; Feijoeiro.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ISOLADOS DE *Crotalaria juncea* PARA PRODUÇÃO DE ADUBO VERDE NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Mario Andrade Lira Junior¹, Adeneide Candido Galdino Saraiva²,
Jessica Santos Silva¹, Clarissa Mayra Bastos Gomes¹

¹UFRPE, Recife, Brasil, mario.alirajr@ufrpe.br; ²UFRPE/CAPES

Nos últimos anos há uma crescente preocupação com fontes de energia renováveis, dentre elas a produção de álcool a partir da cana-de-açúcar. O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, porém as maiorias das áreas de cultivos apresentam solos com baixa fertilidade, principalmente em relação à concentração de nitrogênio. Assim, como o fertilizante nitrogenado representa um dos grandes custos para a cana-de-açúcar, a possível identificação de novas estirpes mais promissoras para uso na adubação verde poderia maximizar a fixação biológica de nitrogênio podendo apresentar alto impacto eco-sócio-econômico. O objetivo da pesquisa foi caracterizar morfológicamente isolados rizobianos de *Crotalaria juncea*, para adubação verde. As coletas de solo foram feitas nas usinas Coruripe (AL), Trapiche (PE), Petribu (PE) e Japungu (PB). Através destas amostras de solo foram obtidos nódulos que foram caracterizados morfológicamente para a construção de um dendograma de similaridade e cálculo da diversidade. A caracterização morfofisiológica destes isolados, foi feita através da observação da velocidade de crescimento, pH, cor, viscosidade, produção de muco, tamanho, superfície e borda da colônia. Foram caracterizados 67 isolados. De maneira geral, os isolados de rizóbios obtidos no presente estudo apresentaram crescimento muito rápido. A ocorrência generalizada de estirpes de crescimento rápido talvez esteja ligada a resistência a estresses abióticos, estas estirpes são mais comuns em ambientes áridos, porque a habilidade para fixar N não é a maior prioridade para os rizóbios, sobreviver no solo é muito mais importante. Quanto ao pH do meio 29 (26%) apresentaram-se neutros, 20 (38%) alcalinos e 27 (36%) pH ácido. O pH do meio é influenciado por fatores como gênero de microrganismo e principalmente fonte de carbono utilizado. As maiorias das colônias apresentaram forma circular e puntiforme com 42 e 41%, respectivamente. A produção de muco foi variada 40% apresentaram baixa produção de muco, 22% foram consideradas moderadas e 38% de produção abundante. A 100% de similaridade foram formados 53 grupos. Os resultados demonstram que os isolados apresentam ampla diversidade nas características morfológicas e isso pode ser confirmado pela baixa similaridade (<50%) encontrada entre eles. De acordo com o índice de Shanon –Wiener a maior diversidade foi obtida para os isolados da usina Trapiche (1,41) seguido das usinas Japungu, Petribu e Coruripe, possivelmente a maior fertilidade do solo da usina Trapiche contribuiu para maior diversidade. Foi obtida grande diversidade entre os isolados, o que indica a possibilidade de existência de bactérias fixadoras de nitrogênio promissoras.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Trópico úmido; Rizóbio.

Centrolobium paraense* NODULA COM DIVERSAS ESPÉCIES DE *Bradyrhizobium

Daniele Cabral Michel¹, Alexandre Cardoso Baraúna¹, Samuel Ribeiro Passos¹,
Jean Luiz Simões de Araújo², Jerri Édson Zilli²

¹UFRRJ, Rio de Janeiro, Brasil, danielecamichel@gmail.com; ²Embrapa Agrobiologia

Na natureza, micro-organismos chamados de procariotos são responsáveis pelo processo de Fixação biológica de nitrogênio (FBN). Dentre eles está o grupo dos rizóbios. Dentro desse grupo, o gênero *Bradyrhizobium* parece representar o maior número de rizóbios isolados de espécies arbóreas da família *Leguminosae* na floresta tropical brasileira. E, dentre as espécies de leguminosas existentes no país, o *Centrolobium paraense* presente na Amazônia brasileira têm grande importância econômica, social e ecológica. Seu papel ecológico é exercido através do fornecimento de N através da FBN e proteção a processos erosivos. Além disso, têm um papel econômico, indústrias utilizam a madeira, e social pois as comunidades indígenas da região a utilizam para a construção e como combustível. De acordo com estudos anteriores, o *C. paraense* tem a capacidade de formar nódulos com rizóbios nativos dos solos amazônicos e a espécie *B. neotropicale* foi isoladas deste hospedeiro, porém o isolamento e a caracterização desses organismos ainda são poucos. Dessa forma, com o objetivo de realizar a caracterização taxonômica, 14 estirpes isoladas do *Centrolobium paraense* foram submetidas a caracterização polifásica –análises filogenéticas e diferentes testes fisiológicos como resistência a antibióticos e padrões metabólicos. As análises genéticas foram realizadas a partir do gene 16S rRNA e dos genes housekeeping (*recA*, *glnII*, *gyrB*). A análise do gene 16S rRNA das 14 estirpes mostrou que as mesmas formam dois diferentes grupos. O primeiro grupo formado por 4 estirpes e o segundo grupo formado por 10. As análises filogenéticas mostraram que um grupo das estirpes ficou próximo a *B. neotropicale*, isolada de *C. paraense*, e o segundo grupo próximo de *B. elkanii* e *B. pachyrhizi*. Os testes fisiológicos apresentaram alguns resultados diferentes das espécies mais próximas já descritas. Através dos resultados conclui-se que os dois grupos representam novas espécies.

Palavras-chave: FBN; Rizóbios; Taxonomia polifásica.

COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS DA EMBRAPA SOJA: BUSCA CONTÍNUA POR MELHORIA DA QUALIDADE

Lígia M. O. Chueire¹, Renan Augusto Ribeiro¹, Jakeline Renata Marçon Delamuta²,
Eduara Ferreira², Marco Antonio Nogueira², Mariangela Hungria²

¹CNPq, Londrina, Brasil, ligia.chueire@embrapa.br; ²Embrapa Soja

As coleções de organismos vivos são essenciais para o desenvolvimento de pesquisas científicas, pois catalogam os organismos de forma organizada e padronizada, além de armazená-los de forma segura para posterior utilização, evitando a perda de material biológico. A “Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja: Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas” (WFCC # 1213, WDCM Collection 1054) foi criada em 1991, estando localizada no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Desde a sua criação houve uma busca contínua para a implementação de metodologias que pudessem contribuir para uma melhor caracterização genética das estirpes, mas sempre procurando correlacionar os grupos genéticos com as propriedades simbióticas e de promoção de crescimento das plantas. Nos últimos dois anos, esforços têm sido alocados também para a implementação do sistema de qualidade com os princípios da OCDE (Organization for Economic Co-Operation and Development). As bactérias da coleção têm sido objeto de diversos estudos de taxonomia e filogenia, bem como de estudos aplicados sobre a fixação de nitrogênio e a promoção de crescimento vegetal, incluindo parceria com o setor privado. As atividades desenvolvidas na coleção de culturas visam garantir a qualidade de 2.800 estirpes armazenadas, sendo que muitas são distribuídas para instituições de pesquisa, para indústrias de inoculantes, ou para projetos conjuntos com a iniciativa privada. Além disso, a coleção de culturas conta com mais de 500 genes de interesse sequenciados, como genes ribossomais, genes relacionados à fixação de nitrogênio, além de outros genes conservados. As estirpes são caracterizadas morfológicamente e mantidas: 1) criopreservadas (-80°C) em meio líquido adequado para cada espécie misturado com 30% de glicerol; 2) criopreservadas (-150°C) no mesmo meio utilizado em (1); e 3) liofilizadas. A viabilidade das estirpes é verificada por amostragem (2% das estirpes) a cada ano quanto ao crescimento e propriedades morfofisiológicas. Para as estirpes de maior importância agrônômica, faz-se a verificação do crescimento de plantas inoculadas em condições de casa de vegetação a cada ano, garantindo a viabilidade das estirpes ao longo do tempo.

Palavras-chave: Rizóbio; Fixação de nitrogênio; Taxonomia.

COMPARATIVE GENOMIC ANALYSIS OF *nod* OPERON AND *nod* REGULON IN *Bradyrhizobium elkanii*

Jamile Queiroz Pereira, Ivan Luis Zenzen, Luciane M. P. Passaglia

UFRGS, Porto Alegre, Brazil, jamile_uni@yahoo.com.br

Establishment of a successful symbiosis between rhizobia and their legume host plants requires the products of bacterial nod gene expression, which are responsible for the synthesis of lipochitooligosaccharides nodulation signal molecules, also known as Nod Factors (NFs). In *B. diazoefficiens* USDA 110, the reference genome for this species, a wide nodulation gene set is present to carry out NFs assembly and modification, in such a way that its nodYABCSUIJnolMN0 operon transcription depends upon specific activators, the products of regulatory nod genes, which are usually responsive to flavonoid molecules released in the rhizosphere by host plants. *B. japonicum* and *B. elkanii* species are indeed the primary source for soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] inoculant industry, although they clearly differ in their physiology and consequently may show distinct patterns in nodulation. Comparison of *B. elkanii* draft genomes with the close relative *B. diazoefficiens* USDA 110, provides a framework on the genetic structure of nod operon and nod regulon in *B. elkanii*, revealing a conserved operon structure and organization of nodKABCSUIJnolOnodZ genes in strains CCBAU 05737, CCBAU 43297, USDA 94, USDA 3254, and USDA 3259, similar to the organization presented in *B. diazoefficiens* USDA 110 nod operon, with substitution of nodY for the corresponding nodK and the lack of nolMN genes. Despite the fact that most *B. elkanii* analyzed genomes show a conserved nod operon structure, this do not applies for strain SEMIA 587, where these respective genes are scattered in the chromosome and organized as nodKABCS, a second split block containing nodI, nodJ, nolO, and nodZ, and then nodU, which is separated from others genes of this operon. Similar to nolMN, nolZ could not be identified in the genomes of any *B. elkanii* strain, as well as nolY in the genomes of strains USDA 94, USDA 3254, and USDA 3259. nodD1 and nodD2 regulatory genes are present in all six *B. elkanii* genomes analyzed, as well as in *B. diazoefficiens* USDA 110 genome, following a similar organization in which they are positioned close to each other and close to the nod operon, although in opposite orientation. nodVW that code for the two-component regulatory elements was common to all six *B. elkanii* genomes, even though its relative location related to nod operon is varying according to each genome. nolA gene in turn, apparently shows a conserved location within *B. elkanii* genomes, close to nodD2, with exception of strain SEMIA 587, were it is located in another position apparently distant from nodD2. These subtle differences can result in distinct LCOs outcomes between species or even within the same species and thus may help to explain distinct nodulation patterns.

Keywords: Lipochitooligosaccharides; Nod factors; Nod genes.

COMUNIDADE BACTERIANA CULTIVÁVEL PRESENTE NA RAIZ E NA RIZOSFERA DE GERÂNIO (*Pelargonium graveolens*)

Thais Freitas da Silva¹, Beatriz do Carmo Dias¹, Joana Montezano Marques²,
Jackeline Rossetti Mateus de Lacerda¹, Renata Estebanez Vollú¹, Lucy Seldin¹

¹UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, thaisfs.bio@gmail.com; ²UFPA

A espécie *Pelargonium graveolens*, conhecida popularmente como gerânio, é uma planta aromática originária da África do Sul. O óleo essencial extraído de suas folhas tem como principal componente o geraniol, um composto largamente utilizado nas indústrias de perfumes e cosméticos. A propagação de espécies do gênero *Pelargonium* com propósito comercial tem sido um problema em todo o mundo devido à ocorrência de diversas doenças. Em regiões quentes e úmidas, como o Brasil, essas plantas são atingidas pela Antracnose, doença cujos agentes etiológicos são fungos do gênero *Colletotrichum*. Bactérias promotoras de crescimento (PGPB - *Plant Growth Promoting Bacteria*) associadas ao gerânio podem ser promissoras no combate a essa doença. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivos o isolamento e a identificação de estirpes bacterianas presentes na raiz e na rizosfera de *P. graveolens* e a seleção de PGPB, incluindo estirpes capazes de antagonizar o fungo *Colletotrichum acutatum*. Ao todo foram isoladas 169 estirpes bacterianas, sendo 127 da rizosfera e 42 da raiz, a partir de placas contendo os meios TSB ou King's B. Entre as 169 estirpes, foram identificados 33 gêneros diferentes (através do sequenciamento de parte do gene *rrs*) pertencentes aos filos Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria e Bacteroidetes, listados aqui em ordem decrescente de abundância. Desses, 24 gêneros foram encontrados exclusivamente na rizosfera, enquanto seis gêneros foram exclusivos da raiz. O gênero *Bacillus* predominou tanto na raiz quanto na rizosfera. De forma geral, as comunidades bacterianas da raiz e da rizosfera variaram em sua composição e em abundância relativa dos grupos encontrados. Quanto às características de PGPB, foram testadas a mineralização/solubilização de fosfato orgânico/inorgânico, produção de sideróforos e produção de compostos indólicos. Das 169 estirpes, 81 foram negativas para todas essas características e todas as outras apresentaram pelo menos uma das características testadas. As estirpes isoladas da raiz e da rizosfera apresentaram características de PGPB diferentes. Todas as estirpes bacterianas isoladas foram testadas quanto à capacidade de antagonizar o fungo *C. acutatum*. Resultados positivos foram observados para 14 estirpes de *Bacillus*, uma estirpe de *Pseudomonas* e uma estirpe de *Cellulomonas*. Os resultados obtidos demonstram que a raiz e a rizosfera de *P. graveolens* selecionaram diferentes comunidades bacterianas e que estirpes pertencentes ao gênero *Bacillus* apresentam potencial para antagonizar o fungo causador da antracnose em gerânio.

Palavras-chave: Diversidade bacteriana; Bactérias promotoras do crescimento de plantas; *Colletotrichum acutatum*.

Cupriavidus ARE THE PREFERRED SYMBIONTS OF NATIVE URUGUAYAN *Mimosa* SPECIES

Raúl Platero¹, Euan Kevin James², Cecilia Ríos¹, Andrés Iriarte¹, Laura Sandes¹,
María Zabaleta¹, Federico Battistoni¹, Elena Fabiano¹

¹Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay, rplatero@iibce.edu.uy; ²The James Hutton Institute, Invergowrie

Members of the genera *Burkholderia* and *Cupriavidus* in the Betaproteobacteria class have been found associated with legumes worldwide. However, this symbiotic interaction seems not to be widely distributed among legume species. Although Beta-rhizobia have been described associated with some members of South Africans endemic legumes in the sub-family Papilionoideae, by far the most common host of these symbiotic bacteria are *Mimosa* and others members of the tribe Mimoseae in the legume sub-family Mimosoideae. With more than five hundred species, the large legume genus *Mimosa* is known to be able to associate with both Alpha- and Betaproteobacterial symbionts. While Brazilian endemic species have been shown to be preferentially nodulated by *Burkholderia*, those in Mexico were found mainly associated with *Ensifer* and *Rhizobium* species. Little is known, however, about the symbiotic preferences of *Mimosa* spp. at the southern sub-tropical limits of the genus. With the aim of exploring the diversity of rhizobia associated with native *Mimosa* species from Uruguay, symbionts were isolated from field-collected nodules of native *Mimosa* species. Symbiotic ability of isolates was assayed by plant nodulation test and inspection of nodules structures by optical microscopy and immunohistochemistry. Sequences of housekeeping and symbiosis loci were determined for genus assignment and phylogenetic analyses. Cross inoculation experiments were carried out in order to evaluate the promiscuity of plant-bacterial associations. Results shown that all the bacterial isolates belonged to the genus *Cupriavidus*. However, none were in the well-described symbiotic species *C. taiwanensis*, but instead they were closely related to *C. necator*, and to species not previously known to be symbiotic, such as *C. pinatubonensis*. Sequences of symbiotic genes formed a separated group from the equivalent *C. taiwanensis* ones, suggesting horizontal gene transfer between the various species within the group. While isolated *Cupriavidus* were able to nodulate both native and non-native mimosa species, the well studied *Burkholderia phymatum* STM815 was only able to nodulate *M. pudica* suggesting symbiont preference for plant species. Soil analyses suggest that pH and organic matter content of soils are not the main factors involved in the *Cupriavidus* preference for Uruguayan *Mimosa* sp. Conversely, soil metal content and metal tolerance profile of isolated symbionts suggest that these particular soils may favor *Cupriavidus* over *Burkholderia*. Our results suggest that selection of these novel *Cupriavidus* symbionts by Uruguayan *Mimosa* spp. is likely due to their geographical separation, and to soil characteristics.

Keywords: *Rhizobial diversity; Beta-rhizobia; Cupriavidus.*

DETERMINAÇÃO DA FILOGENIA DE RIZÓBIOS POR MULTILOCUS SEQUENCE ANALYSIS (MLSA) COM IDENTIFICAÇÃO E DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES

Luisa Caroline Ferraz Helene¹, Jakeline Renata Marçon Delamuta²,
Renan Augusto Ribeiro², Mariangela Hungria²

¹UEL, Londrina, Brasil, *lully_verdevale@hotmail.com*; ²Embrapa Soja

Os microrganismos diazotróficos são de grande interesse para a agricultura, principalmente pela capacidade de fixar o nitrogênio (N₂) existente na atmosfera e proporcionar quantidades significativas do elemento para o desenvolvimento de algumas plantas. Esse grupo de bactérias é bastante vasto e diverso, contendo integrantes de vida livre no solo, e que se associam com algumas espécies de plantas em diferentes níveis de interação. As bactérias simbióticas fixadoras de N₂ infectam as raízes de plantas e formam estruturas especializadas externas chamadas de nódulos, que mantêm um ambiente favorável para o processo conhecido por fixação biológica do nitrogênio (FBN). Devido às propriedades benéficas dessas bactérias, estudos que focam a descoberta e a caracterização de novos grupos de rizóbios e suas relações filogenéticas são importantes e, também, impulsionam áreas como ecologia e biotecnologia. Os objetivos do presente trabalho envolvem a avaliação de 12 estirpes de *Bradyrhizobium* para: estabelecer suas relações filogenéticas, avaliar a presença de novos grupos, conduzir uma análise polifásica e sugerir a descrição dos novos grupos encontrados. Para verificar a filogenia, árvores filogenéticas foram construídas baseadas em informações de genes ribossomais e *housekeeping*, isolados, e concatenados. Para essas análises, as sequências dos genes 16S rRNA, *glnII*, *gyrB* e *recA* foram amplificadas, sequenciadas, alinhadas e cortadas, e apenas para metodologia *multilocus sequence analysis* (MLSA) as sequências *housekeeping* foram concatenadas. Posteriormente com o sequenciamento do genoma serão realizados testes como *average nucleotide identity* (ANI), identidade nucleotídica (IN) e conteúdo G+C, e como caracterização genotípica serão realizados testes de *fingerprinting* e hibridação DNA-DNA. As análises morfofisiológicas utilizadas na caracterização das estirpes envolvem: avaliar as colônias (forma, tamanho, cor, gomosidade), fontes de carbono, tolerância a antibióticos, capacidade de crescimento em diferentes condições de pH, temperatura e meios com ureia e sal, avaliação da composição de ácidos graxos entre outras. Dos testes já conduzidos, o MLSA aponta a existência de um novo grupo com as representantes SEMIAs 6399 e 6404 (isoladas de *Lonchocarpus costatus*), agrupadas entre si, mas isoladas de representantes das demais espécies já descritas. O maior valor de IN entre o grupo e as estirpes tipo, para sequências do MLSA, foi de 95,3% com *B. pachyrhizi* e inferior para as demais espécies, indicando fortemente um novo grupo, uma vez que o valor considerado para corte foi de 97%. As demais análises citadas estão em andamento apontando para descrição de uma nova espécie. Agência(s) de fomento: CAPES, CNPq.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium*; MLSA; Taxonomia de rizóbios.

DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS NA RIZOSFERA DE LULO CULTIVADO EM SOLOS SOB DIFERENTES MANEJOS

Monica Alzate, Karina Maria Lima Milani, Kamila Kock, Marcel Takahiro Moriwiki,
Maria Teresa de Paula, Amanda Aleixo, André Luiz Martinez de Oliveira

UEL, Londrina, Brasil, kamilakock@gmail.com

O lulo (*Solanum quitoense* Lam.) é uma planta pertencente à família da *Solanaceae* que tem seu centro de diversidade a região andina da Colômbia e do Equador, apresentando características e distribuição geográfica bem definidas em suas áreas de ocorrência natural. No Brasil, as informações a respeito dessa cultura são ainda escassas, principalmente em relação a biodiversidade associada as raízes, considerando que a rizosfera constitui um habitat fundamental para o desenvolvimento vegetal. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar a diversidade bacteriana diazotrófica associada a rizosfera de lulo plantado em solos sob diferentes tipos de manejos (mata secundária-MS, hortícola convencional-HC e orgânico-ORG). Para o isolamento bacteriano foram utilizados meios de cultura semissólidos livres de nitrogênio (JMV, LGI, LGI-P, JNFb, NFB), que permitem o isolamento de bactérias diazotróficas de diversos grupos taxonômicos. A identificação taxonômica dos isolados foi realizada com base no sequenciamento parcial do gene 16S RNAr e a diversidade bacteriana foi determinada usando o índice de Shanon-Wiener. Em relação ao isolamento, o lulo plantado sob manejo orgânico foi o que apresentou maior número de isolados diazotróficos (18), seguido do solo mata (15), e do solo hortícola (6). Considerando os diferentes meios de cultura utilizados, o meio semissólido que selecionou um maior número de bactérias foi o JMV (15 isolados), seguido pelos meios JNFb, LGI, NFB e LGI-P que selecionaram 12, 7, 3 e 2 isolados respectivamente. A partir dos resultados do sequenciamento parcial do gene 16S rDNA foram identificados 7 gêneros bacterianos, sendo que os gêneros mais abundantes na rizosfera do lulo foram *Rhizobium* e *Burkholderia*, representando 20% e 6% do total de isolados respectivamente. No solo de mata foram identificados os gêneros *Rhizobium* (7), *Burkholderia* (5) e *Pseudomonas* (2); no solo de horticultura os gêneros *Rhizobium* (4), *Bacillus* (1) e *Roseateles* (1); e no manejo orgânico foram identificados os gêneros *Rhizobium* (12), *Pseudomonas* (2), *Burkholderia* (2), *Massilia* (1) e *Variovorax* (1). Em relação a diversidade pelo índice de Shanon-Wiener, o manejo orgânico foi o mais diverso com um valor de 0,4689, seguido do solo de mata e horticultura, com 0,4309 e 0,3768, respectivamente.

Palavras-chave: 16S rRNA; Taxonomia; Diversidade genética.

DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM SOLOS SOB DIFERENTES TIPOS DE VEGETAÇÃO, NO QUADRILÁTERO FERRÍFERO, MG

Patrícia Freitas Costa¹, Lucas Lenin Resende de Assis¹, Amanda Azarias Guimarães¹, Márcia Rufini¹, Leonardo de Paiva Barbosa², Fatima Maria de Souza Moreira¹

¹UFLA, Lavras, Brasil, fmoreira@dcs.ufla.br; ²IFMG

As características edáficas do solo, assim como o tipo de cobertura vegetal, são fatores que influenciam a diversidade e funcionalidade microbiana. O quadrilátero ferrífero é a principal região brasileira de ocorrência de cangas que são afloramentos rochosos com alto teor de Fe. Em geral, essa área é caracterizada por solos com baixo pH e poucos nutrientes disponíveis, além de apresentar intensa atividade de mineração de Fe. A diversidade microbiana desse ambiente é pouco estudada, não havendo relatos na literatura sobre ocorrência e diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade fenotípica, genética e eficiência simbiótica de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL) em canga, em solo retirado de abertura de cavas de mineração e depositado em outros sítios, geralmente revegetados, com capim (*Melinis minutiflora*) e outros tipos de vegetação adjacentes (Mata, Cerrado e Eucalipto), localizadas no Quadrilátero Ferrífero, município de Sabará – MG. Avaliou-se ainda a efetividade das espécies promíscuas siratro e caupi no acesso à diversidade de BFNNL. Para a caracterização fenotípica foi avaliado: tempo de crescimento, cor, forma e tamanho das colônias, além de alteração do pH do meio de cultura 79. Para a caracterização genética das estirpes de BFNNL foram utilizadas as técnicas de sequenciamento parcial do gene 16S rRNA juntamente com o BOX-PCR. Essa última permitiu avaliar a diversidade intraespecífica, possibilitando melhor discriminação entre as estirpes. As áreas de mata e canga foram a mais e menos diversa, respectivamente. Alguns gêneros de BFNNL como *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*, foram capturados por ambas as espécies vegetais, porém outros gêneros foram capturados apenas pelo siratro ou apenas pelo caupi, evidenciando a importância do uso de mais de uma espécie vegetal em estudos de diversidade. Um grande número de estirpes obtidas tanto pelo caupi quanto pelo siratro se mostraram eficientes na fixação biológica de N₂, revelando potencial biotecnológico. O presente trabalho é o primeiro relato sobre diversidade e eficiência simbiótica de estirpes de BFNNL em ambiente de canga. Apoio financeiro: VALE, FAPEMIG, CAPES, CNPq.

Palavras-chave: BOX-PCR; 16S rRNA; Canga.

DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS ISOLADOS DE NÓDULOS DE *Mimosa gymnas* BARNEBY, NATIVAS DO PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ (PARANÁ, BRASIL)

Fabiane Paulitsch¹, Milena Serenato Klepa¹, Leandro Datola Tullio¹,
Marta Regina Barrotto do Carmo¹, Adriane Ribeiro da Silva²,
Jakeline Renata Marçon Delamuta³, Jesiane Stefania da Silva Batista¹

¹UEPG, Ponta Grossa, Brasil, *fabi_paulitsch@hotmail.com*; ²UFPR; ³Embrapa Soja

Levantamentos realizados na região dos Campos Gerais do Paraná (Sul do Brasil) apontam que Fabaceae está entre as famílias de maior diversidade florística, evidenciando a sua grande expressividade na flora regional. Neste sentido, foi realizado um estudo com a espécie *Mimosa gymnas* Barneby, um subarbusto endêmico do Brasil, apresentando a primeira descrição de ocorrência de nódulos radiculares, bem como isolamento e análise da diversidade de seus microssimbiontes pela filogenia dos genes ribossomal 16S e de nodulação nodC e também por rep-PCR. Dezenove isolados foram obtidos de plantas nativas nodulíferas, coletadas de maio a outubro de 2015 em diferentes pontos no Parque Estadual do Guartelá (Tibagi, PR), cujos solos são caracterizados como ácidos, pobres em elementos nutritivos e matéria orgânica, arenosos e com baixa capacidade de retenção de água. A árvore filogenética construída com o gene 16S rRNA separou os isolados em três grupos distintos, com alguns isolados mais relacionados a espécie *Burkholderia nodosa* enquanto outros apresentaram maior similaridade com *B. bannensis*, *B. unamae* e *B. tropica*. Interessantemente, sete isolados não agruparam com nenhuma espécie de beta-rizóbio conhecida. A análise do perfil genético por BOX-PCR também revelou uma elevada diversidade entre os isolados, no entanto, os grupos formados foram congruentes com aqueles observados na árvore do 16S rRNA. A filogenia do gene nodC agrupou todos os isolados em um clado bem suportado e distinto das demais espécies do gênero, indicando uma co-evolução entre as estirpes e a planta hospedeira. De fato, este estudo corrobora com a constatação de que estirpes de *Burkholderia* são os principais simbiontes de *Mimosa* na América do Sul e revela que a diversidade desse gênero é pouco conhecida. Além disso, considerando as características dos solos dos Campos Gerais bem como a ampla distribuição de *M. gymnas*, a capacidade de nodulação em ambientes nativos representa uma importante contribuição na incorporação de nutrientes a tal ecossistema.

Palavras-chave: *nodC*; *Burkholderia*; Campos nativos.

DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS NÃO SIMBIONTES ISOLADOS DA RIZOSFERA DE TOMATE CULTIVADO EM SOLOS SOB DIFERENTES MANEJOS

Monica Alzate, Karina Maria Lima Milani, Kamila Kock,
Marcel Takahiro Moriwak, Maria Teresa de Paula, Amanda Aleixo

UEL, Londrina, Brasil, yorlase@gmail.com

Espécies de rizóbios são bem conhecidas pela sua capacidade de estabelecer uma relação simbiótica com plantas leguminosas induzindo a formação de nódulos que atuam no suprimento de nitrogênio para a planta, via fixação biológica de nitrogênio (FBN). Contudo, nos últimos anos vários trabalhos têm demonstrado que estirpes de rizóbios podem se associar com plantas não-leguminosas sem que se observe a formação de nódulos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade genética de rizóbios isolados da rizosfera de tomate plantado em solos sob diferentes tipos de manejo (mata secundária-MS, hortícola convencional-HC e manejo orgânico-ORG). A partir de um estudo para identificar bactérias associativas presentes em elevadas populações (acima de 10^4 células g^{-1} de rizosfera/raízes), foram obtidos 49 isolados dos quais 32 foram identificados como sendo pertencentes ao gênero *Rhizobium* com base na sequência parcial do gene 16S rRNA. A avaliação da diversidade genética dos rizóbios foi realizada pela técnica de Box-PCR (iniciador BOX-A1R). O perfil polimórfico apresentado para cada isolado foi analisado com auxílio do programa Bionumerics (Applied Maths, v. 4.6), utilizando o algoritmo UPGMA e o coeficiente de similaridade de Jaccard e tolerância estabelecida em 2%. Os resultados demonstram uma alta diversidade genética dos rizóbios associados à rizosfera de tomate, sendo formados 11 grupos distintos considerando um nível de similaridade de 70%. Destes grupos, cinco continham apenas um único isolado (quatro grupos provenientes de manejo HC, e um de manejo MS). Foram também observados grupos exclusivos para os manejos ORG (quatro isolados) e MS (três isolados). O grupo com maior número de isolados continha 10 representantes, sendo que oito isolados foram provenientes de solo sob manejo HC, e 2 isolados obtidos da rizosfera de tomate cultivado em solo sob manejo MS. Com relação aos diferentes tipos de manejos, o tomate plantado sob manejo MS foi o que apresentou maior número de representantes distribuídos entre os grupos, estando presente em 6 grupos, sugerindo uma maior diversidade de rizóbios nestes solos, seguido do manejo hortícola e orgânico, com as estirpes distribuídas entre 5 e 3 grupos, respectivamente. Foram identificados isolados clonais em alguns dos grupos formados, entretanto estes casos refletiram isolados obtidos a partir de solo sob um mesmo tipo de manejo.

Palavras-chave: BOX-PCR; BPCV; Diversidade genética.

DIVERSIDADE GENÉTICA POR BOX-PCR DE RIZOBACTÉRIAS OBTIDAS DE SOLOS DO OESTE DO PARANÁ SOB DISTINTOS MANEJOS DE CULTIVO

Deisi Navroski¹, Amanda Favetta², Renan José Casarotto Appel², Anderson Jose Scherer², Thaís Luft da Silva³, Marco Antônio Bacellar Barreiros², Luciana Grange²

¹UEL, Londrina, Brasil, deisi.navoski@hotmail.com; ²UFPR; ³UNIOESTE

As bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) estimulam o crescimento vegetal por mecanismos que favorecem a assimilação de nutrientes essenciais do solo, produção de fito hormônios e de substâncias que inibem o crescimento de patógenos, além da fixação biológica de nitrogênio (FBN). O conhecimento das diversas espécies que compõem uma população microbiana presente na rizosfera pode auxiliar na compreensão de como as variações no ambiente podem ter influência na funcionalidade destas populações. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a diversidade genética de rizobactérias obtidas de solos de cultivo da região oeste do Paraná. Foram coletados amostras de seis áreas sob diferentes manejos (M) de cultivo: sistema agropastoril (M1), horticultura (M2), pastagem (M3), soja 1 (M4), mata nativa (M5) e soja 2 (M6). Para obter os isolados, 10 gramas de cada solo foram diluídas até as concentrações 10⁻² e 10⁻³ e plaqueadas (*spread-plate*) para obtenção de colônias puras. Estas, posteriormente foram agrupadas por similaridade para permitir a escolha das estirpes representativas para o estudo genômico. 64 estirpes foram selecionadas como representativas e submetidas a extração de DNA. A quantificação do DNA foi feita por comparação com padrões de peso molecular (*DNA Mass Ladder*) e a concentração e pureza foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1%. A caracterização genética foi realizada através da amplificação por *polymerase chain reaction* (PCR), usando o “*primer*” específico *BOX* (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') e a reação realizada de acordo com as condições descritas por Hungria et al. (2008). Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese e os perfis obtidos foram analisados pelo programa *BioNumerics* (*applied mathematics, kortrijk, Bélgica, versão 1.01*) utilizando o *1 kb plus DNA Ladder™* como padrão de peso molecular. O posicionamento no cladograma foi realizado a partir do algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean*) e o coeficiente de *Jaccard*. Os isolados obtidos dos diferentes manejos se agruparam em nove grupos distintos e quatro estirpes ficaram isoladas consideradas agrupamento único. O ponto de corte foi estabelecido a partir de 80% de similaridade. Todos os grupos apresentaram alta diversidade entre os isolados para os distintos manejos. O valor médio entre as similaridades encontradas dentro de cada grupo foi de 91%, revelando alta homogeneidade entre os isolados. Por outro lado, a posição de abertura dos ramos a uma nota de corte menor revela que há uma dissimilaridade considerável entre os distintos agrupamentos, isso pode apontar que existem grupos peculiares de espécies nestes manejos escolhidos para o estudo.

Palavras-chave: Bactérias; Rizosfera; Agrupamento.

DIVERSIDADE TAXONÔMICA E GENÉTICA DE *Burkholderia* SIMBIÓTICAS PROVENIENTES DE SOLOS DA MATA ATLÂNTICA

Rebeca Fuzinatto Dall'Agnol¹, Caroline Bournaud², Sérgio Miana de Faria³,
Gilles Béna⁴, Lionel Moulin⁴, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, Brasil, rebeca.fd@hotmail.com; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia ³Embrapa Agrobiologia; ⁴IRD, Cirad, Université de Montpellier, Montpellier, France

Bactérias fixadoras de N_2 e nodulantes de leguminosas que pertencem à classe β -Proteobacteria são chamadas de β -rizóbios e representam um grupo cada vez mais notório por suas propriedades agroecológicas e biotecnológicas, abrangendo um número crescente de espécies, especialmente do gênero *Burkholderia*. Tais espécies nodulam, principalmente, as leguminosas do gênero *Mimosa* ou gêneros relacionados, mas a sua diversidade ainda é pouco explorada. O Brasil é o país com maior número de espécies nativas e endêmicas de *Mimosa*, as quais podem estabelecer simbiose com diferentes espécies de *Burkholderia*, muitas ainda desconhecidas em relação às suas capacidades de nodulação e fixação de N_2 . Sendo assim, estudos que procurem avaliar a diversidade desses β -rizóbios são de grande valia para compreender como estes microrganismos se comportam em relação aos seus hospedeiros e às condições edáficas do ecossistema em estudo. A fim de conhecer a diversidade taxonômica e simbiótica de rizóbios em diferentes solos do bioma Mata Atlântica – um dos biomas mais ricos em biodiversidade e mais devastados pela ação humana – uma abordagem genética e filogenética dos genes 16SrRNA, *recA* e *nodC* foi realizada em isolados obtidos de duas plantas-isca de amplo espectro, *Mimosa pudica* e *Phaseolus vulgaris*. Do total, 436 isolados foram obtidos de seis solos diferentes e 96 estirpes representativas foram selecionadas de acordo com o sequenciamento parcial do 16SrRNA. A maioria das estirpes foi agrupada juntamente com estirpes-tipo de *Burkholderia* na filogenia dos marcadores taxonômicos 16SrRNA e *recA*. Dentre elas, seis grupos apresentaram-se em posições isoladas, indicando potenciais novas espécies, sendo duas já relatadas em estudos anteriores. Outros gêneros encontrados foram *Cupriavidus* e *Mesorhizobium*. Na filogenia do gene simbiótico *nodC* a maior parte dos agrupamentos formados foi similar aos encontrados na filogenia dos genes taxonômicos. Parâmetros tais como o pH do solo podem ter influenciado a predominância de determinadas espécies, bem como a prevalência de β -rizóbios, mesmo quando *P. vulgaris* é utilizado como planta-isca. É importante registrar a alta diversidade encontrada em uma área relativamente pequena da Mata Atlântica, considerando a extensão do bioma. Dessa forma, fica evidente a importância de se realizar estudos que busquem aumentar o conhecimento da diversidade de *Burkholderia* simbióticas, melhorando o entendimento de seus papéis ecológicos e possibilitando contribuições em futuras aplicações.

Palavras-chave: *Mimosa pudica*; *Phaseolus vulgaris*; β -rizóbios.

DOMINÂNCIA POR LEGUMINOSAS NODULANTES E TAXAS DE FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FLORESTAS TROPICAIS SECAS DO BRASIL

Ana Dolores Santiago de Freitas¹, Aleksandro Ferreira da Silva¹, Tânia Lúcia Costa¹, Paulo Ivan Fernandes², Lindete Míria Vieira Martins³, Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos¹, Kelly Alessandra Souza Menezes³, Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio¹

¹UFRPE, Recife, Brasil, ana.freitas@pq.cnpq.br; ²Embrapa Semiárido; ³UNEB

A compreensão sobre as taxas e os fatores que controlam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em florestas secas ainda é escassa. Esses ambientes apresentam presença marcante de leguminosas nodulantes, mas que nem sempre apresentam evidência de absorção de N atmosférico. O objetivo desse trabalho foi medir as taxas anuais de FBN em três fragmentos de caatinga com diferentes proporções de leguminosas nodulantes na vegetação e verificar a ocorrência de populações nativas de microssimbiontes nos solos. Foram quantificados as biomassas de folhas de todas as plantas abustivas e arbóreas e as quantidades de N fixado nas leguminosas nodulantes. Mudanças de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. foram cultivadas em casa-de-vegetação em vasos contendo amostras de solo coletadas nas áreas estudadas. Em todos os fragmentos, leguminosas representaram alta proporção (40 % a 97 %) do número de indivíduos, área basal e biomassa de folhas, com predominância de espécies nodulantes. *M. tenuiflora* foi leguminosa mais importante nos três fragmentos, representando entre 84 % e 100 % da biomassa de folhas de espécies nodulantes. Os sinais médios de $\delta^{15}\text{N}$ nas folhas das leguminosas nodulantes só foram estatisticamente menores que os das plantas referência em um dos fragmentos, resultando em um aporte anual maior que 18 kg ha⁻¹ de N fixado. Nos demais fragmentos, os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ foram muito variáveis, não possibilitando uma estimativa precisa da FBN. Entretanto, é provável que alguns indivíduos apresentem fixação, e as taxas de FBN podem variar entre 0 e 13 kg ha⁻¹ ano⁻¹. As taxas de FBN baixas em relação às proporções de leguminosas fixadoras não podem ser explicadas pela ausência de microssimbiontes. Nos solos dos três fragmentos existem populações nativas de bactérias capazes de nodular *M. tenuiflora*, mas com provável variação de tamanho e eficiência.

Palavras-chave: Abundância natural do ¹⁵N; Jurema preta; Rizóbio.

EFEITO DE DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS NA DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS CAPAZES DE NODULAR SABIÁ (*Mimosa caesalpiniiifolia*)

Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos¹, Ana Dolores Santiago de Freitas¹,
Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra², Vinícius Santos Gomes¹,
Newton Pereira Stamford¹, Aleksandro Ferreira da Silva¹,
Cíntia Caroline Gouveia da Silva¹, Juscélia da Silva Ferreira¹

¹UFRPE, Recife, Brasil, ettenne@depa.ufrpe.br; ²IPA

Os diferentes manejos agrícolas utilizados principalmente em regiões semiáridas, com longos períodos de estiagem e temperaturas elevadas, exercem grande influência sobre os micro-organismos do solo e seus processos, com implicações sobre a diversidade e outros serviços ambientais, por serem indicadores biológicos sensíveis a mudanças na cobertura vegetal. Na região semiárida de Pernambuco, o sistema de agricultura é chamado de itinerante, no qual a mata é derrubada e queimada para a introdução de agrossistemas, seguido de um período de pousio. Entretanto, na maioria das vezes o período de pousio não é suficiente para uma recuperação adequada e isso contribui para a degradação e empobrecimento do solo, podendo contribuir com o processo de desertificação, e os rizóbios que são responsáveis pela fixação biológica de N₂ são dependentes da presença de plantas leguminosas, nativas ou não para continuar a função. A retirada da mata para introdução de monoculturas reduz a diversidade dessas bactérias e sua capacidade de associar com plantas hospedeiras. O objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade de rizóbios da região semiárida do Pernambuco, nordeste do Brasil, que formam nódulos em raízes de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*). Coletaram-se amostras de solos em três diferentes sistemas de uso da terra (mata de caatinga preservada, sistema agroflorestal e área de cultivo convencional com monoculturas de milho e banana) em dois municípios (Serra Talhada e Belo Jardim). Um experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se vasos contendo 2 kg de solo onde foram plantadas 5 sementes de sábia para a obtenção de coleção de rizóbios capazes de nodular raízes de sabiá, esta coleção foi caracterizada fenotipicamente. Após a caracterização dos rizóbios, foi feito um estudo de diversidade e eficiência simbiótica. A área de mata de caatinga preservada apresentou a maior diversidade e a maior eficiência, proporcionando maior rendimento de massa seca da parte aérea e raiz, maior teor de N total e acúmulo de N na parte aérea, e maior número de nódulos e massa fresca e seca dos nódulos. O sistema convencional com monocultura apresentou a menor diversidade e eficiência dos rizóbios, o que contribuiu para um menor desenvolvimento das plantas de sabiá. Já o sistema agroflorestal e o policultivo, apresentaram resultados semelhantes aos encontrados na área de mata de caatinga preservada, indicando que o cultivo convencional reduz a diversidade e a eficiência de rizóbios nativos da região semiárida do nordeste do Brasil.

Palavras-chave: Fixação biológica do nitrogênio; Rizóbios; Caracterização fenotípica.

EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES ACESSOS DE *Mimosa scabrella*

Silmar Primieri¹, Murilo Dalla Costa², João Frederico Mangrich dos Passos²,
Julio Cesar Pires Santos³

¹IFSC, Lages, Brasil, silmar.primieri@ifsc.edu.br; ²Epagri; ³UDESC

A fixação biológica de N é um processo reconhecidamente importante para a incorporação desse elemento nas plantas, principalmente nas leguminosas. Para *M. scabrella*, importante leguminosa arborea que ocorre nos estágios iniciais do desenvolvimento da floresta ombrófila mista, bactérias do gênero *Burkholderia* são as principais fixadoras de N. Neste trabalho testou-se a eficiência e eficácia simbiótica de duas bactérias do gênero *Burkholderia* em três acessos de *M. scabrella*. As sementes foram coletadas de três regiões distintas do estado de SC. Inicialmente, as sementes foram esterilizadas superficialmente com etanol 96% (1 m), hipoclorito de sódio 3% (5 m) e lavadas com água destilada. A quebra de dormência das sementes foi realizada por imersão em água à 80°C (5 m), deixando-as em repouso durante 18 h. Em seguida, as sementes foram pré-germinadas em folhas de papel absorvente Gear Box®, umedecidas, em câmara do tipo B.O.D. a 25°C, até a radícula alcançar 2 cm. As sementes pré-germinadas foram transferidas e cultivadas em vasos contendo 1,8 L de substrato estéril (areia e vermiculita, 1:1, v/v) e alocadas em câmara de crescimento com temperatura (28°C) e fotoperíodo (14 h) constantes. Após sete dias, as mudas foram inoculadas com 1 mL de suspensão bacteriana. O experimento foi conduzido sob delineamento fatorial, com 2 estirpes bacterianas e 3 acessos, com cinco repetições. Um controle sem fertilização nitrogenada e outro com (100 mg de nitrato de amônio) foram adicionados para cada acesso. Os resultados demonstraram que houve diferença estatística entre as plantas de diferentes áreas, principalmente as plantas da área 3, que apresentaram menor massa seca da parte aérea (MSPA) em relação às outras. As bactérias inoculadas demonstraram eficiência quando inoculadas nas plantas, produzindo maior MSPA em relação aos seus respectivos controles, com exceção para um dos acessos, onde nenhuma das bactérias foi capaz de aumentar o crescimento da planta. Não houve interação das bactérias com os diferentes acessos, sendo que os resultados para a bactéria B1 não foram diferentes dos resultados para a bactéria B2. A eficácia da B1 foi de 61% e 64% para plantas da área 1 e área 2, respectivamente e para a B2 foi de 68% e 43%. Ao contrário da MSPA, o número de nódulos não apresentaram mudanças significativas com a inoculação das BFN e não houve interação. No entanto, os resultados da massa seca de nódulos foram estatisticamente menores para os nódulos obtidos das raízes de plantas da área 3, em relação aos nódulos de plantas da área 2, no caso da B1 e menores em relação à área 1, no caso da B2. Sendo assim, concluímos que o acesso de *M. scabrella* pode influenciar no desempenho da bactéria fixadora de nitrogênio.

Palavras-chave: Simbiose; *Burkholderia*; Santa Catarina.

ESTUDO DE VIABILIDADE MICROBIANA DE SOLOS SOB SEMEADURA DIRETA DE SOJA COM PLANTAS DE COBERTURA

Jorge Rodrigo Arndt¹, Leandro Paiola Albrecht¹, Alcides de Oliveira Gomes², Mateus Dalpubel Mattiuzzi¹, Lucas Mateus Hass¹, Jhonathan Rafael Hartmann Hister¹, Samara Moreira Perissato¹, Luciana Granje¹, Marco Antônio Bacellar Barreiros¹

¹UFPR, Palotina, Brasil, jorgerodrigoarndt@gmail.com; ²UEM

As diferentes plantas de cobertura aproveitam o solo de forma diversificada e geram resíduos específicos, trazendo mudanças positivas ao meio e possibilitando o desenvolvimento de microrganismos. Os produtos residuais desses processos de decomposição vão estabelecendo as relações sintróficas e antagônicas, mantendo o equilíbrio da comunidade biológica do solo. Essa ilimitada sucessão de ciclos biológicos constitui o solo fértil, pois fornece, escalonadamente, os nutrientes necessários à nutrição das plantas. Neste contexto, o presente trabalho avaliou a viabilidade microbiana de solos sob semeadura direta de soja com plantas de cobertura através da técnica de espalhamento em superfície (spread-plate) para contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). O delineamento experimental foi de blocos inteiramente ao acaso, com quatro repetições, cujos tratamentos foram constituídos por sete culturas de coberturas: nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), linhaça (*Linum usitatissimum* L.), triticale (*Triticum turgidocereale* Kiss), centeio (*Secale cereale* L.), canola (*Brassica* ssp. L.); crambe (*Crambe abyssinica* Hochst), aveia (*Avena sativa* L.) e área de pousio. As culturas de cobertura foram conduzidas em três anos agrícolas, utilizando a mesma casualidade, cada espécie foi cultivada no mesmo local nos três anos. Para o isolamento das colônias de bactérias retirou-se uma pequena alíquota de 10 g de solo e manteve-se em agitação em solução salina durante 30 minutos, após decantar 30 minutos, retirou-se 1 mL do sobrenadante e realizou-se a diluição seriada até 10^{-4} , após a diluição colocou-se as bactérias para crescimento em placas de petri à 27°C, a contagem de células viáveis foi avaliada através da contagem das UFC. Os resultados obtidos foram normalizados e analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KW) utilizado para comparar três ou mais populações. De acordo com os resultados não houve diferença significativa entre os diferentes sistemas de cobertura e o pousio. Porém, é preciso ressaltar que a precipitação pluvial registrada durante o ciclo das culturas de cobertura foi de 83 mm, enquanto durante o ciclo da cultura da soja, os valores acumulados foram de 498 mm. Levando este fator em consideração, foi possível observar que os solos sob as coberturas com triticale e crambe foram os que apresentaram maior UFC, já que estas culturas são consideradas rústicas, com alta tolerância a pH e a falta de água. As outras coberturas que apresentaram UFC considerável foram o nabo forrageiro e a aveia, provavelmente por serem os cultivos com maior massa úmida, proporcionando assim maior volume de rejeito a ser decomposto, estimulando assim um maior número de indivíduos microbianos.

Palavras-chave: Microrganismos; Decomposição; UFC.

EVALUATION OF *Bacillus* spp. FOR THE MINERALIZATION AND SOLUBILIZATION OF PHOSPHOROUS IN SOILS

Cerecceto Victoria, Abreo Eduardo, Beyhaut Elena, Altier Nora

INIA Uruguay, Las Brujas, Uruguay, eabreo@inia.org.uy

Phosphorous (P) is the second limiting macronutrient in agroecosystems. Despite soil total P is generally high, P concentration in the soil solution is often low because of a strong P fixation by organic compounds, and by complex reactions with iron, aluminum and calcium. Therefore, low P availability is a major constraint to plant growth and development. Phytate-mineralizing and phosphate solubilizing bacteria can be selected to be used in the development of novel biofertilizers to address this situation. This research explores the diversity of isolates in the INIA collection of *Bacillus* spp. for their ability to mineralize and solubilize P. First, DNA was obtained from pure cultures and amplified with primers 27F and 1492R targeting the 16S rDNA. Sequences of the PCR products were used in a phylogenetic analysis for the identification of species. Then, the strains were tested in vitro in solid media added with different phosphorus compounds as the sole P source, such as Sodium Phytate, Tricalcium Phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), Aluminum Phosphate (AlPO_4) and Iron Phosphate (III) (FePO_4). Strains that produced a halo were tested in liquid media for quantification of mineralization. Isolates belonged to *Bacillus cereus* s.l., *B. aryabhattai*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* and *Lysinibacillus xylanilyticus*. Among the tested strains in solid media, none of the strains were able to use AlPO_4 or FePO_4 as the sole P source. However, 40% of this strains were able to use Sodium Phytate and 50% were able to use $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ as P source. The four strains that were positive halo producers in solid media amended with Sodium Phytate, were also tested in liquid media, and from this test it was found that *B. aryabhattai* ILBB 592 was quantitatively the most promising strain. Notably, this strain was also positive in solid media amended with $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Next, the promising strains will be subjected to plant bioassays to assess their ability to enhance plant intake of P. Results are auspicious for the development of microbial products with the ability to enhance available P in soils for plants. Financial support: ANII, INIA.

Keywords: Phosphorus; Biofertilizers; Phytate.

GENETIC AND FUNCTIONAL DIVERSITY ANALYSIS OF CULTIVABLE DIAZOTROPHIC RHIZOBACTERIA

Silvia Aparecida Ferreira Albuquerque¹, Rafael Mazer Etto¹, Rafaela Furmam¹,
Adrian Richard Schenberger Santos², Fernanda Carolina da Silva¹,
Lucia Satomi Hirooka¹, Fábio de Oliveira Pedrosa², Ligia Dombroski dos Santos¹,
Ricardo Antônio Ayub¹, Carolina Weigert Galvão¹

¹UEPG, Ponta Grossa, Brazil, carolinawgalvao@hotmail.com; ²UFPR

Plant growth promoting Bacteria (PGPB) stimulate the development of their host plant by fixation of atmospheric nitrogen; production of phytohormones, siderophores, protease, indole compounds, cyanide and cellulose; solubilization of minerals; reduction of harmful effects of plant pathogens, among others. In this study, we analyzed the diversity and the biochemical activities of cultivable potential PGPB isolated from the rhizosphere of maize treated with different PGPB and doses of nitrogen (0, 30 and 160 kg/ha N; 0N, 30N and 160N). Five nitrogen-free media (NFb, JNFb, JMV, LGI and LGI-P) were used to isolate the seventy seven bacteria predominately classified at the β and γ -proteobacteria classes (59% and 18 %, respectively) and at *Burkholderia* sp. genus (52%). Phylogenetic trees based on 16S rRNA gene sequence or whole-cell mass spectrometry suggested the occurrence of new species or strains of this genus. The diversity of the isolates was higher in the maize treated with *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6, *Rhizobium* sp. 8121, *Azospirillum* sp. L26, *A. brasilense* Abv5 or in the non-inoculated maize. The isolates of the *Burkholderia* genus showed positive correlation ($p < 0.05$) with the maize inoculated with *Azospirillum* sp. L26, *A. brasilense* HM053 and non-inoculated (30 and 160N) maize. From the six biochemical activities tested, only the production of cyanide, siderophore and protease showed positive correlation ($p < 0.05$) with maize inoculated with *A. brasilense* AbV5/AbV6, *Rhizobium* sp. 8121, *Enhydrobacter* sp. 4331 and *A. brasilense* Abv5 and the non-inoculated (30 and 160N) maize. All analyzed bacteria showed at least one activity of plant growth promotion and 55% showed three or more activities. The cyanide production was rare, being detected in only 4% of isolates. The *Burkholderia* sp. and *Luteibacter* sp. isolates showed positive correlation ($p < 0.001$) with protease and siderophore production, and phosphate solubilization. The *Bacillus* sp. and *Luteibacter* sp. isolates showed positive correlation ($p < 0.001$) with indole compounds and cellulase production. The *Pseudomonas* sp. isolate showed positive correlation with cyanide ($p < 0.05$), protease, siderophore, indole compounds and cellulase ($p < 0.001$). In summary, the treatment with different PGPB and nitrogen doses did not interfere in the composition of the diazotrophic cultivable bacterial community of the maize rhizosphere. The ability to promote plant growth demonstrated by isolates of the genus *Bacillus*, *Burkholderia*, *Luteibacter* and *Pseudomonas*, turn them into promising biofertilizers. Supported by: INCT/MCT; CNPq; Capes; Fundação Araucária.

Keywords: Plant growth promotion; Mass spectrometry analysis; 16S rRNA sequencing.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CARACTERIZACIÓN PGPB DE *Bradyrhizobium* EFICIENTES EN CAUPÍ AISLADAS DE LA SELVA CENTRAL DEL PERÚ

R. A. Valdez-Núñez¹, Eulogio J. Bedmar², B. Soriano-Bernilla³, A. Castellano-Hinojosa², Doris Zúñiga-Dávila⁴, M. Matsubara⁴, A. Valladolid⁵, G. Prado⁶, D. Zavaleta⁶, W. F. Ríos-Ruiz¹

¹Universidad Nacional de San Martín, Argentina; ²Estación Experimental del Zaidín, CSIC, España; ³Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú, bsoriano@unitru.edu.pe; ⁴Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú; ⁵Asociación PROMENESTRAS TEX, Perú; ⁶Universidad César Vallejo, Perú

Justificación: El caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) es una leguminosa de importancia económica en la zona norte del Perú, valorizándose en 69 millones de dólares en el periodo 2011-2014. Este se cultiva en suelos poco fértiles donde la simbiosis rizobio-caupí es la principal fuente de nitrógeno. *Bradyrhizobium* es frecuente en aislamientos de nódulos de caupí. En este estudio se emplearon cepas seleccionadas por su buen desempeño simbiótico en caupí a nivel de campo. **Objetivos:** Estudiar la afiliación taxonómica de 3 cepas de *Bradyrhizobium* y analizar sus características como bacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPB). **Material y métodos:** Se utilizaron 3 cepas de *Bradyrhizobium* eficientes con caupí procedentes de suelos de Ucayali-Perú. Las cepas se cultivaron en medio YEM y se obtuvo el ADN genómico, llevándose a cabo la amplificación parcial de los genes 16S rRNA y genes esenciales *atpD*, *recA* y *glnII*. Las secuencias obtenidas se compararon en el GenBank (BLASTN), el análisis filogenético se desarrolló con Geneious versión 8.1.3 y los árboles filogenéticos visualizados con MEGA 5.0. Se evaluó la producción de ácido indol acético (AIA) y de sideróforos, la actividad ACC desaminasa y la solubilización de fosfato tricálcico. **Resultados y Discusión:** La secuenciación parcial del gen 16S rRNA de las cepas en estudio mostró que pertenecen al género *Bradyrhizobium*. Asimismo, el gen 16S rRNA y el análisis concatenado de los genes esenciales confirmó que la cepa Rc-352-01 es *B. liaoningense* y las cepas Rc-458-01 y Rc-391-01 son *B. yuanmingense*. Las cepas produjeron niveles moderados de AIA (8,98-21.60 µg AIA µg proteína⁻¹), los cuales de manera indirecta pueden mejorar la fijación biológica de nitrógeno. La producción de sideróforos (5.02-59.52 % US µg proteína⁻¹) fue similar a lo reportado por otros autores. La actividad ACC desaminasa de las cepas fue bajo (17.39-51.84 nmol α-cetobutirato mg⁻¹ h⁻¹), quizás suficiente para reducir los niveles de etileno producidos durante la infección y nodulación. Ninguna cepa solubilizó fosfato tricálcico. Estas propiedades PGPB explicarían el óptimo desempeño simbiótico de las cepas de *Bradyrhizobium* con caupí. **Conclusiones:** Se han caracterizado cepas de *B. liaoningense* y *B. yuanmingense* eficientes en la simbiosis rizobio-caupí en suelos de Ucayali-Perú con buen potencial PGPB, lo que las convierte en candidatas para la producción de inoculantes bacterianos. **Agradecimientos** al MINAGRI, PRONABEC-Perú y Junta de Andalucía (España).

Palabras clave: Genes esenciales; AIA; ACC desaminasa.

INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS DO SOLO NA PRESENÇA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM SIMBIOSE COM DIFERENTES ESPÉCIES DE *Mimosa*

Raquel Castro Pires¹, Fábio Bueno dos Reis Junior², Jerri Édson Zilli³,
Euan Kevin James⁴, Marcelo Fragomeni Simon⁵

¹UnB/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil, raquel.castropires@gmail.com; ²Embrapa Cerrados; ³Embrapa Agrobiologia; ⁴James Hutton Institute; ⁵Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Até quinze anos atrás, apenas membros da subclasse α -proteobacteria, da ordem Rhizobiales, eram considerados capazes de formar nódulos em simbiose com as leguminosas. No entanto, trabalhos feitos particularmente com o gênero *Mimosa*, comprovaram que membros da classe β -proteobactéria também nodulam com essas plantas. Essas β -proteobactérias pertencem aos gêneros *Burkholderia* e *Cupriavidus*. No Brasil, a grande maioria das bactérias encontradas nos nódulos de *Mimosa* pertence ao gênero *Burkholderia*. Por outro lado, no México, há uma predominância de α -proteobactérias. Provavelmente, essa diferença entre simbiontes nos dois países estaria relacionada às características dos solos, sobretudo sua fertilidade. Nesse trabalho, se buscou avaliar a especificidade hospedeira e a influência do tipo de solo sobre a simbiose entre *Mimosa* e bactérias diazotróficas. Foi conduzido um experimento com plantas armadilha onde se utilizou sementes de seis espécies de *Mimosa* e solos oriundos de três diferentes locais, Cavalcante – GO (*Mimosa* sp., *M. kalunga*), Posse – GO (*M. acutistipula*, *M. xanthocentra*) e Brasília – DF (*M. clausenii*, *M. radula*). O sítio de coleta em Cavalcante é do tipo cerrado rupestre, que possui vegetação arbóreo-arbustiva e ocorre em ambientes rochosos, com fertilidade e pH baixos. Já o local de coleta em Posse apresenta floresta estacional decidual, com solo fértil e pH alto. O sítio de Brasília é um cerrado típico sob um latossolo profundo, com baixa fertilidade e pH baixo. Após o cultivo das diferentes espécies de *Mimosa*, em casa de vegetação, por quatro meses, os nódulos presentes foram destacados e utilizados para o isolamento das bactérias simbióticas. O DNA de cada um dos isolados obtidos foi extraído para posterior amplificação e seqüenciamento do gene do 16S rRNA. As bactérias isoladas de nódulos de plantas cultivadas nos solos provenientes de Cavalcante e Brasília foram identificadas como *Burkholderia* spp., enquanto aquelas isoladas a partir de plantas cultivadas no solo de Posse, em sua maioria, foram identificadas como *Rhizobium* spp. Os resultados desse trabalho confirmam que os microssimbiontes de *Mimosa* spp. diferem de acordo com as características do solo, aparentemente com pouca influência da planta hospedeira.

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio; *Burkholderia*; *Rhizobium*.

LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES DE FABACEAE NODULÍFERAS NATIVAS DOS CAMPOS GERAIS (PARANÁ-BRASIL)

Milena Serenato Klepa¹, Fabiane Paulitsch¹, Marta Regina Barrotto do Carmo¹,
Adriane Ribeiro da Silva², Jesiane Stefania da Silva Batista¹

¹UEPG, Ponta Grossa, Brasil, milenaserenato@gmail.com; ²UFPR

Algumas espécies da família Fabaceae estabelecem relação simbiótica com rizóbios compatíveis, resultando no desenvolvimento de estruturas radiculares especializadas denominadas nódulos. No interior dos mesmos, formas modificadas dos rizóbios são capazes de fixar nitrogênio, disponibilizando-o diretamente aos tecidos vegetais. O presente trabalho apresenta o primeiro levantamento de plantas nodulíferas nativas de áreas de reserva localizadas nos Campos Gerais do Paraná - Brasil, região fitogeográfica cujos solos são caracterizados como ácidos, pobres em elementos nutritivos e matéria orgânica, arenosos e com baixa capacidade de retenção de água. As amostragens foram realizadas no Parque Estadual de Vila Velha, Parque Estadual do Guartelá e Parque Nacional dos Campos Gerais, de maio a outubro de 2015. Algumas das espécies de plantas nativas encontradas já haviam sido relatadas como nodulíferas, tais como: *Desmodium incanum*, *Zornia diphylla*, *Stylosanthes hippocampoides*, *Chamaecrista ramosa* e *Mimosa lanata*. No entanto, a ocorrência de nódulos radiculares foi constatada pela primeira vez nas espécies *M. micropteris*, *M. paranapiacabae* e *M. gymnas*. Os rizóbios foram isolados dos nódulos e cultivados em meio YMA com vermelho congo, permitindo a constatação de grandes diferenças fenotípicas entre os mesmos. Quando cultivados em YMA com azul de bromotimol, poucas exceções de isolados mantiveram a neutralidade do meio, enquanto as demais provocaram acidificação. A maior parte dos rizóbios teve crescimento rápido ou intermediário, formando colônias viscosas ou gomosas. Inclusive, isolados de uma mesma espécie de planta hospedeira apresentaram distintos caracteres morfofisiológicos; tal diversidade pode estar relacionada com características específicas (componentes bióticos e abióticos) das diferentes áreas de coleta das plantas. O conhecimento da diversidade de microrganismos associados permite-nos compreender os mecanismos envolvidos com capacidades adaptativas específicas de espécies vegetais, compreender dados de diversidade florística por um novo ponto de vista, assim como fundamentar estratégias de recuperação em áreas degradadas. Além disso, como se tratam de espécies vegetais endêmicas, existe um grande potencial de identificação de novas espécies de rizóbios.

Palavras-chave: Diversidade fenotípica; Fixação biológica de nitrogênio; Leguminosas nativas.

METABOLISMO DE METALES Y COMPUESTOS AROMÁTICOS POR BETA-RIZÓBIOS ASOCIADOS A MIMOSAS NATIVAS DE URUGUAY

Laura Sandes, María Zabaleta, Andrés Iriarte,
Federico Battistoni, Raúl Platero, Elena Fabiano

Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable,
Montevideo, Uruguay, efabiano@iibce.edu.uy

Recientemente se ha encontrado que las leguminosas (particularmente aquellas pertenecientes al género *Mimosa*), son noduladas por Beta-Proteobacterias, denominadas beta-rizobios donde los dos géneros nodulantes reconocidos actualmente son *Burkholderia* y *Cupriavidus*. Nuestro grupo cuenta con una colección de microsimbiontes obtenidos a partir de diferentes Mimosas nativas de Uruguay: *Mimosa uraguensis*, *M. adpressa*, *M. pilulifera*, *M. ramulosa*, *M. reptans*, *M. chelata*, *M. magentea* y *M. schleidenii*. En este trabajo se logró identificar a nivel de género once aislamientos seleccionados de la colección mediante la amplificación y posterior secuenciación del gen que codifica para la subunidad menor del ribosoma (ADNr 16S). Se observó que todos los aislamientos eran beta-rizobios y diez de los once pertenecían al género *Cupriavidus*, lo cual afirma observaciones previas de nuestro laboratorio que indicarían que las Mimosas son preferentemente noduladas por *Cupriavidus*. Los once aislamientos presentaron una buena adaptación a cambios en el pH del medio. Considerando que este género bacteriano se caracteriza por tener una gran versatilidad metabólica y elevada resistencia a metales, decidimos ensayar la capacidad de algunas cepas de metabolizar compuestos aromáticos (fenol, tolueno), de usar n-butanol, citrato, succinato y glicerol como fuentes carbonadas y de crecer en presencia de metales pesados tales como Cd, Cu, Mn, Co, Zn, Ni, Ag y Fe. En general se obtuvo una buena respuesta de las cepas, excepto frente a Cd, Te y Ag. Interesantemente, algunas cepas formaron precipitados en presencia de CuSO_4 1 mM, K_2TeO_3 50 μM o CoCl_2 1 mM. También se analizó la presencia en el genoma de tres cepas, de genes relacionados a estos fenotipos. Los resultados muestran la presencia de genes y vías metabólicas implicadas tanto en la degradación de compuestos aromáticos como en la resistencia a metales pesados. Estas funciones, importantes para la adaptación ambiental de las bacterias, podrían tener uso en la biorremediación de suelos y otras aplicaciones biotecnológicas. De los ensayos en planta se obtuvo que todos los microsimbiontes nodularon *M. pudica*, *M. uraguensis* y *M. polycarpa* pero sólo algunas fueron capaces de promover el crecimiento significativamente. El fenotipo simbiótico no fue el mismo con los diferentes hospederos, indicando especificidad en la interacción. Las leguminosas tienen un gran valor a nivel nacional ya que pueden utilizarse como alimento, forrajeras y árboles en montes nativos, por lo que los microorganismos asociados a sus raíces incitan a abrir el campo de investigación en busca de inoculantes capaces de promover el crecimiento vegetal de esta familia.

Palabras clave: Beta-rizobio; Mimosas; Biodiversidad.

METAGENOMIC ANALYSIS OF DIAZOTROPHIC BACTERIA FROM HIGH-ELEVATION GRASSLANDS SOILS OF THE PARANA STATE

Rafael Mazer Etto¹, Barbara Schaedler Fidelis Schneider¹, Ederson da Conceição Jesus²,
Leonardo Magalhães Cruz³, Franklin Galvão³, Emanuel Maltempi de Souza³,
Ricardo Antônio Ayub¹, Fábio de Oliveira Pedrosa³,
Maria Berenice Reynaud Steffens³, Carolina Weigert Galvão¹

¹UEPG, Ponta Grossa, Brazil, *mazeretto@hotmail.com*; ²Embrapa Agrobiologia; ³UFPR

The High-Elevation Grasslands of the Parana State contain hydromorphic, acid and poor-nutrient soils. These ecosystems are essential for the maintenance of the Atlantic Rain Forest, one of the 25 hot-spots of biodiversity in the world. Although these ecosystems are closely linked to conservation issues, their microbial community ecology and composition remain poorly known. In this work, soil samples were collected from three acidic grassland regions during dry and rainy seasons and their chemical and microbial characteristics were evaluated. Culturing and culture-independent approaches based on *nifH* gene pyrosequencing were used to survey the diazotrophic community and to identify environmental factors which affect the biodiversity and microbial metabolic potential of the High-Elevation Grasslands soils. *NifH* sequence analysis showed the prevalence of *Proteobacteria* phylum (35.25%) followed by *Spirochaetes* (1.27%), *Firmicutes* (0.80%), *Cyanobacteria* (0.76%), *Chlorobi* (0.41%), *Actinobacteria* (0.10%) and *Bacteroidetes* (0.04%). The OTUs classified as *Proteobacteria*, *Calothrix*, *Spirochaeta*, *Halorhodospira*, *Rhizobiales*, *Alfaproteobacteria* and *Bradyrhizobium* at the lowest taxonomic level varied according to the period of sampling and significantly correlated to the rainy season. The OTU annotated as *Bradyrhizobium* showed strong correlation with the soil pH and calcium content. Despite of the changes in diazotrophic communities, rainfall did not affect the microbial metabolic potential of the High-Elevation Grasslands soils, as judged by the metabolic capabilities of the microbial community. Supported by: INCT/MCT; CNPq; Capes; Fundação Araucária

Keywords: *NifH*; Biolog Ecoplate; Microbial Ecology.

MONTAGEM DE BIBLIOTECA DE PERFIS MOLECULARES OBTIDOS POR MALDI-TOF MS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bradyrhizobium*

Lucas Ferreira Lima Sobreira Rolim¹, Fábio Bueno dos Reis Junior¹,
Iêda Carvalho Mendes¹, Helson Mario Martins Vale², Luciano Paulino da Silva³

¹Embrapa Cerrados, Brasília, Brasil, lucas.rolim@embrapa.br; ²UnB;

³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Estudos que demandam a identificação de estirpes de bactérias que nodulam a soja, com o objetivo de identificar quais seriam os isolados presentes em nódulos provenientes do campo, vêm sendo desenvolvidos a partir de métodos que se utilizam de imunoaglutinação. Porém, a produção de anticorpos é bastante complicada e esbarra em questões de bioética, que restringem cada dia mais essa prática. Além disso, apesar de apresentarem uma eficácia satisfatória, esses métodos se limitam à identificação apenas de bactérias esperadas, não elucidando completamente a ocupação nodular por outras estirpes e/ou espécies. A espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por matriz associada a tempo de voo (MALDI-TOF MS) é uma ferramenta tecnológica de alto rendimento que possui como uma das aplicações a comparação da impressão digital molecular, geralmente proteica, obtida a partir de células microbianas. Pela possibilidade de utilizar um protocolo simples e padronizado que, pode ser aplicado a qualquer tipo de isolado bacteriano, permite o estudo de bactérias provenientes de nódulos de soja, com a condição de que bibliotecas suplementares sejam montadas para subsidiar a identificação de possíveis amostras ambientais. Dessa forma, esse trabalho procurou avaliar a possível identificação e tipagem de isolados de *Bradyrhizobium*, provenientes de nódulos coletados no campo, por meio da construção de uma biblioteca suplementar de MALDI-TOF MS. Essa abordagem foi empregada para então investigar a viabilidade de utilização dessa ferramenta em estudos ecológicos de *Bradyrhizobium*. Utilizando bactérias parentais recomendadas comercialmente para inoculantes, construiu-se uma biblioteca suplementar por meio do programa computacional MALDI Biotyper (Bruker), e validou-se estatisticamente essa biblioteca por meio de análises de componentes principais (PCA) e Redes Neurais com o programa ClinPro Tools (Bruker). A montagem de uma biblioteca suplementar, a fim de identificar distintas estirpes de *Bradyrhizobium*, foi bem sucedida e se mostrou eficaz, abrindo caminho para sua utilização em estudos que envolvam a identificação rápida e acurada de isolados bacterianos presentes nos nódulos da soja.

Palavras-chave: Soja; Nódulos; Rizóbios.

NOVA ESPÉCIE DE *Rhizobium* PARA SIMBIONTE DE *Phaseolus vulgaris* L.

Andrey Barbosa Cordeiro¹, Renan Augusto Ribeiro²,
Rebeca Fuzinatto Dall'Agnol³, Mariangela Hungria³

¹UEL/Embrapa Soja, Londrina, Paraná, Brasil, abccordeiro@hotmail.com;

²CNPq; ³Embrapa Soja

Bactérias diazotróficas, conhecidas como rizóbios, são importantes para realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas, sendo, em alguns casos, utilizadas como inoculantes microbianos, substituindo o uso de fertilizantes nitrogenados. A identificação e a classificação dos microrganismos capazes de realizar a FBN são importantes por gerarem conhecimento sobre a evolução e a relação entre as espécies, permitindo estudar aquelas de maior interesse biotecnológico. O objetivo deste trabalho é determinar o grupo taxonômico e as relações filogenéticas de três estirpes de bactérias do gênero *Rhizobium* que estabelecem simbiose com plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), por meio de estudo polifásico. Os experimentos e análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja, Londrina, Paraná. As estirpes foram crescidas em meio de extrato de levedura e manitol com vermelho Congo ou azul de bromotimol para avaliar as características fenotípicas e os resultados foram comparados com estirpes de referência de espécies de *Rhizobium* simbiotes do feijoeiro. Em seguida, foram feitas análises fisiológicas, como o uso de diferentes fontes de carbono. As estirpes avaliadas apresentaram resultados típicos do gênero *Rhizobium*, como colônias circulares e convexas e, dentre 49 diferentes substâncias testadas como fonte de carbono, 10 foram positivas e similares às três estirpes. Para construção da árvore filogenética, as sequências dos genes de interesse foram coletadas no banco de dados do NCBI e o alinhamento múltiplo das sequências foi realizado pelo programa MEGA, versão 6.0, sendo a espécie *outgroup* a *Bradyrhizobium diazoefficiens*, com o intuito de verificar a posição taxonômica e a diversidade genética das estirpes em estudo. Para tanto, foi utilizado o gene ribossomal 16S rRNA e quatro genes *housekeeping* (*recA*, *glnII*, *gyrB* e *rpoA*), sendo que, para estes últimos, os resultados foram comparados individualmente e de forma concatenada. Em relação ao gene 16S rRNA, as estirpes CNPSo 661, 666, 668 foram agrupadas no grande grupo de *R. etli*, *R. pisi* e *R. ecuadorensense*. Entretanto, quando árvores filogenéticas foram construídas com os genes *housekeeping*, as estirpes ficaram agrupadas, mas em posições isoladas em relação às espécies já descritas, tanto nas árvores individuais, como na concatenada, com um suporte *bootstrap* de 100%, tendo como a espécie mais próxima *R. etli*. Os resultados deste trabalho demonstram que as estirpes CNPSo 661, 666 e 668 podem apresentar uma nova espécie ou subespécie. Avaliações adicionais, como a hibridização DNA-DNA e o perfil de ácidos graxos estão sendo conduzidas com a finalidade de confirmar essa hipótese.

Palavras-chave: Genética microbiana; Microrganismo fixador de nitrogênio; Feijoeiro.

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF COMMON BEAN RHIZOBIA OF THE CULTURE COLLECTION OF EMBRAPA AGROBIOLOGIA

Thiago Gonçalves Ribeiro¹, Fernanda dos Santos Dourado²,
Natalia Neutzling Camacho², José Ivo Baldani², Ederson da Conceição Jesus²

¹UFRRJ, Seropédica, Brazil, tfarllon@gmail.com; ²Embrapa Agrobiologia

The phenotypic and genotypic characterizations of rhizobial strains are important steps to taxonomic identification and fundamental steps to the understanding of biodiversity. This study aimed to characterize rhizobial strains isolated from common bean nodules sampled at several locations throughout Brazil and abroad, and deposited in the Johanna Döbereiner Biological Resources Center (CRB-JD) at EMBRAPA Agrobiologia. The DNA of 138 strains was analyzed by BOX-PCR and the PCR products were separated on 2% agarose gel and stained with ethidium bromide. The profiles were examined visually and with the Bionumerics software, and a dendrogram was constructed. We observed that 97,8% of bacteria presented rapid growth (≤ 3 days for colony appearance) and only 2,2% presented intermediate growth (between 4-5 days for colony appearance). Almost all strains showed an acid reaction. The analysis of the 16S rRNA gene classified 82% of the strains as belonging to the genus *Rhizobium*, 8,7% to the genus *Ensifer*, 3,6% to the genus *Burkholderia*, 2,2% to the genus *Bradyrhizobium* and the remainder 3,6% to other genera. Among the bacteria that induced an alkaline reaction or no pH changes in the culture medium are present *Bradyrhizobium* and *Burkholderia*. The BOX-PCR analysis showed a great genotypic diversity, forming 56 groups at the level of 85% similarity. We can conclude that the majority of the strains belong to the *Rhizobium*, confirming the preference for nodulation of common beans with this genus, and constitute a great genotypic diversity. Acknowledgements: FAPERJ, Capes, Embrapa.

Keywords: Biodiversity; *Rhizobium*; BOX-PCR.

PHYLOGENY AND POPULATION STRUCTURE OF SOYBEAN (*Glycine max* L. Merr.) NODULATING *Bradyrhizobium* IN EASTERN AND SOUTHERN AFRICA

Sanjay K. Jaiswal, Cynthia Gyogluu, Naamala Judith, Semira M. Beyan, Felix D. Dakora

Tshwane University of Tecnology, Pretoria, South Africa, sanjaysiswa@gmail.com

Bacterial species can remain distinct because of their genetic architecture or ecological adaptation. To establish the nature of species boundary within an indigenous bacterial population of Eastern and Southern Africa, nucleotide sequence analyses of different genome loci (*atpD*, *glnII* and *gyrB*), as well as the symbiotic gene locus (*nifH*) were done. Ribosomal gene sequencing and multilocus sequence analysis showed that all bacterial symbionts from root nodules belonged to *Bradyrhizobium* genus. However, the multilocus sequence and concatenated sequence analysis of soybean-nodulating bradyrhizobia were associated with a diverse group of symbionts (namely, *Bradyrhizobium elkanii*, *B. japonicum*, *B. diazoefficiens* and *B. yuanmingense*). The strains from Eastern Africa (i.e. Ethiopia) were assigned to *Bradyrhizobium elkanii*, *B. ottawaense* and a novel group of *Bradyrhizobium* spp, whereas those from Southern African (i.e. South Africa and Mozambique) delineated with *B. japonicum*, *B. diazoefficiens*, and *B. yuanmingense*. Some of the strains from the studied regions did not align with any known *Bradyrhizobium*, and can therefore be regarded as novel *Bradyrhizobium* species. The nucleotide sequences and population STRUCTURE analysis of the isolated soybean microsymbionts suggested that most isolates were of indigenous origin. Interlineage transfer of core genes was frequent, which suggests frequent recombination. Symbiotic gene (*nifH*) sequences of soybean nodule isolates also clustered with *B. japonicum*, *B. elkanii*, *B. diazoefficiens* and with novel lineages, which suggests the inheritance of this gene is predominantly by vertical transmission. These results have provided new insights into the ecology of *Bradyrhizobium* nodulating soybean under different environmental conditions, and confirmed the presence of indigenous rhizobia in Eastern and Southern African soils that can be used as inoculants for increased soybean production.

Keywords: Diversity; Novel lineage; Vertical gene transfer.

TIPAGEM MORFOLÓGICA DE *Pseudomonas* spp. OBTIDAS DA RIZOSFERA DE SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO E NATURAL

Anderson José Scherer¹, Gustavo de Souza Lamberti¹, Renan José Casarotto Appel¹,
Thaís Luft da Silva², Deisi Navroski³, Rafaela Cristina de Oliveira Bueno¹,
Marco Antônio Bacellar Barreiros¹, Luciana Grange¹

¹UFPR, Palotina, Brasil, ander.j.scherer@gmail.com; ²UNIOESTE; ³UEL

Embora algumas das espécies de *Pseudomonas* spp. sejam bem conhecidas como fitopatógenos, muitos membros deste gênero têm sido considerados promissores como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). Grande ênfase tem sido dada ao estudo do destes microrganismos em sistemas de produção agrícola devido a sua grande versatilidade nutricional, habilidade de crescer em uma ampla variedade de ambientes e grande potencial de colonização de raízes. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi isolar e agrupar morfologicamente bactérias de gênero *Pseudomonas* obtidos a partir de diferentes sistemas de cultivo e natural a fim de iniciar um processo investigativo em busca de isolados com potencial para promoção de crescimento vegetal e biocontrole. Para o trabalho, solos foram obtidos de 6 áreas: agropastoril (SAG), horticultura (HOR), pastagem (PAS), soja 1 (SJ1), mata nativa (MNA) e soja 2 (SJ2). Os solos foram obtidos por delineamento em transepto cuja as coletas foram realizadas a partir de 5 repetições por área constituídas por 5 sub-amstras para obtenção de amostra composta. Foram retirados 10 gramas de solo de cada amostra para serem diluídas em 90 mL de solução salina a 0,85% sob agitação e posterior obtenção das diluições 10-1, 10-2 e 10-3. O plaqueamento foi realizado em triplicata de 100 µL para cada diluição em meio específico. Colônias distintas foram caracterizadas morfologicamente quanto a: tamanho, forma, borda, homogeneidade, cor, transparência, elevação e muco. Os isolados selecionados foram repicados até obtenção de colônias puras. O agrupamento morfológico foi gerado a partir do programa Past (Paleontological Statistics), pelo uso do algoritmo UFGMA e cálculo da distância RANK, com ponto de corte de 70% de similaridade. A partir dos resultados obtidos foi possível observar que todos os manejos bem como a mata nativa apresentaram alta diversidade morfológica entre as características utilizadas. Dentre as características morfológicas avaliadas, as que mais permitiram diferenciar os indivíduos foram muco, forma, borda e elevação. A análise utilizada também apontou alta similaridade entre os agrupamentos formados, o que indica que pode haver um grupo de espécies como maior resiliência entre as regiões de coleta. O manejo que apresentou maior abundância foi o sistema agropastoril seguido da horticultura, apontando que a diversidade vegetativa contribui para a diversidade e sobrevivência de *Pseudomonas* bem como de outras bactérias benéficas em sistemas cultivados. O trabalho conseguiu proporcionar um processo de triagem para que o mesmo possa continuar as investigações em nível molecular e bioquímico.

Palavras-chave: Morfologia; BPCV; Diversidade.

USO DA TAXONOMIA POLIFÁSICA PARA CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE RIZÓBIO DE FEIJÃO COMUM EM SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL

Maira Rejane Costa¹, Renan Augusto Ribeiro²,
Fabio Martins Mercante³, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, PR, Brasil, mairarcosta@gmail.com; ²Embrapa Soja;

³Embrapa Agropecuária Oeste

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) é uma leguminosa importante do ponto de vista social e econômico. No entanto, um dos fatores que limita a produção reside na baixa capacidade do feijoeiro em adquirir nitrogênio para o seu desenvolvimento. Neste contexto, uma estratégia importante consiste na fixação biológica de nitrogênio, que é caracterizada pela capacidade de estabelecer relações simbióticas com rizóbios. Existe grande diversidade de rizóbios nos solos brasileiros capazes de nodular o feijoeiro, contudo, com frequência, com baixa capacidade de fixar nitrogênio. Nesse sentido, estudos de taxonomia e filogenia de bactérias fixadoras de nitrogênio são de fundamental importância, não só para entender os processos evolutivos e obter avanços no conhecimento sobre ecologia de rizóbios, como também para a produção de inoculantes microbianos. Através das análises de BOX-PCR, sequenciamento do gene 16S rRNA e análise Multilocus Sequence Analysis (MLSA), além das características fenotípicas, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a diversidade genética de 73 bactérias capazes de nodular o feijoeiro, isoladas de 45 locais de 22 municípios no Mato Grosso do Sul, Brasil. As relações evolutivas estabelecidas tanto com base no sequenciamento e alinhamento do gene 16S rRNA quanto na análise individual e concatenada de três genes housekeeping (*glnII*, *gyrB* e *recA*) revelaram que os isolados de rizóbio do feijoeiro CPAO 34.4F3 e CPAO 33.12F3 ficaram agrupados próximos a *Rhizobium radiobacter* ATCC 19358 nas filogenias apresentadas. Os cálculos de identidade nucleotídica obtida com a sequência concatenada dessas estirpes indicaram 100% de identidade entre a CPAO 34.4F3 e a CPAO 33.12F3 e quando estes mesmos isolados foram comparados com *R. radiobacter* ATCC 19358 o valor foi de 90,4%. De acordo com os resultados obtidos foi possível observar que existe, possivelmente, uma nova espécie de rizóbio nodulando *Phaseolus vulgaris* no Estado de Mato Grosso do Sul.

Palavras-chave: MLSA; Bactérias; Feijoeiro.

WHAT WE KNOW ABOUT THE NOVEL LEGUME-NODULATING *Microvirga vignae*?

Jakson Leite¹, Samuel Ribeiro Passos², Jean Luiz Simões de Araújo³,
Norma Gouvêa Rumjanek³, Gustavo Ribeiro Xavier³, Jerri Édson Zilli³, Viviane Radl⁴

¹UNEB, Euclides da Cunha, Brazil, jakleite@uneb.br; ²UFRRJ; ³Embrapa Agrobiologia;

⁴EGEN, Helmholtz Zentrum Munchen

Surveys on the diversity of cowpea root nodule bacteria in Brazilian semi-arid region allowed finding legume-nodulating strains recently described as *Microvirga vignae*. The new strains were 6 out of the 600 isolates obtained from a cowpea (*Vigna unguiculata*) root nodule bacteria collection. Later, in the same region, two strains classified as *M. vignae* were isolated from cowpea (1 out of 86 isolates) and *Stylosanthes capitata* (1 out of 81 isolates) nodules. Although *M. vignae* strains were found to nodulate *V. unguiculata* and *S. capitata*, those were sporadic events, being *Bradyrhizobium* the major symbiont in all cases. Thus, still little is known on the ecology of this novel legume symbiont. We aim to promote a reflection on the symbiosis of the legume-nodulating *M. vignae* based on the published data. At the moment, the genus *Microvirga*, from the family Methylobacteraceae (Alphaproteobacteria), has nine validated species, four of them are known as rhizobia: *M. lupine*, isolated from EUA (North America); *M. lotononidis* and *M. zambiensis*, isolated from Zambia (Africa); and *M. vignae*. According to the phylogenetic analyses, *M. vignae* is a sister taxa of the *M. lotononidis* and *M. lupine*, and far from *M. zambiensis*. All *Microvirga* strains carry *nifH* genes similar to those of *Rhizobium*. However, *M. vignae* has a similar phylogenetic evolution on the symbiotic nodulation gene *nodA* to the African strains *M. lotononidis* and *M. zambiensis*, indicating a possible similar behavior on the capacity for legume nodulation. The African strains were isolated from legumes of the tribe Crotalariaeae, as well as *Methylobacterium nodulans*, another rhizobia from the family Methylobacteraceae. In both case, *Microvirga* and *Methylobacterium* seem to nodulate with a specific taxonomic section within the tribe Crotalariaeae. Despite *M. vignae* has been isolated from cowpea, it does not seem to be the truth host. Analyses of 16S rRNA amplicons barcode libraries of soils and nodules samples from a cowpea field experiment, in a semi-arid region of Brazil, detected OTUs of *Microvirga* only in soils. The truth *M. vignae* host legume remains unknown. A survey on the native legumes from the seasonally dry forest in Brazilian semi-arid region is an important step for understanding the *M. vignae*-Leguminosae symbiosis, maybe with focus on the legumes from the tribe Crotalariaeae. The *M. vignae* type strain BR 3299 was shown to fix great amount of nitrogen in cowpea on field experiment, and its genome has a large number of genes related to stress response, with genes encoding heat shock proteins. These both symbiotic and genomic characteristics could be an advantage for a potential inoculant to improve crop production in semi-arid regions.

Keywords: Rhizobia; Symbiont; Alphaproteobacteria.

SESSÃO PÔSTER II

**GENÉTICA E GENÔMICA DE
RIZOBACTÉRIAS E LEGUMINOSAS**

ANÁLISE FILOGENÉTICA DA DIVERSIDADE DE RIZOBACTÉRIAS ATRAVÉS DOS GENES DA NITROGENASE E DA PORÇÃO 16S RIBOSSOMAL

Renan José Casarotto Appel, Anderson Jose Scherer,
Luciana Grange, Marco Antônio Bacellar Barreiros

UFPR, Palotina, Brasil, renanappel@gmail.com

Os microrganismos apresentam grande diversidade fenotípica e genética, desempenhando funções únicas e cruciais na manutenção dos mais variados ecossistemas. Através das enzimas nitrogenases, bactérias conhecidas como diazotróficas são capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio, contribuindo de forma direta para sua incorporação nos mais variados ecossistemas. A grande maioria dos estudos de filogenia da nitrogenase foram realizados utilizando o gene *nifH*, contudo, atualmente os bancos de dados de sequências para os demais genes da nitrogenase, aumentaram grandemente, possibilitando refinar os estudos de filogenia. As análises detalhadas destes genes promovem base para elaboração de teorias sobre a evolução destes genes que possibilitam a investigação do papel destas enzimas na ecologia dos fixadores biológicos de nitrogênio. Este projeto objetivou estudar a diversidade genética de bactérias diazotróficas através de estudos filogenéticos, utilizando os genes da nitrogenase *nifH*, *nifE*, e fração 16S ribossomal. O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia, Biologia Molecular e Melhoramento Vegetal, no Bloco IV da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Inicialmente foi realizada a seleção e *download* de 103 sequências dos genes da nitrogenase *nifH*, *nifE*, que possuíam também o gene 16S de organismos diazotróficos; no site do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Após o *download* das sequências, as mesmas foram organizadas com auxílio do programa EXCEL; para a realização do restante do trabalho, está sendo o programa BIONUMERICS 7.5 (APPLIED-MATH). As sequências selecionadas foram importadas para o banco de dados do *software* a fim de construir as árvores filogenéticas, utilizando o método de agrupamento de *Bio-Neighbour-Joining*. A análise estatística dos agrupamentos foi realizada através de permutação, utilizando-se 200 repetições. A análise filogenética do gene 16S das bactérias resultaram em 10 grupos distintos, sendo que estes foram utilizados para ver a manutenção dos *clusters* nas árvores filogenéticas dos genes da nitrogenase. Enquanto que o agrupamento através do gene *nifE* resultou em uma árvore filogenética praticamente idêntica a produzida pelas sequências do gene 16S, sugerindo que os dois genes evoluíram conjuntamente, a árvore do gene *nifH* apresentou uma grande diversidade de grupos taxonômicos, sendo que representantes do mesmo filo, família ou gênero sendo encontrado em grupos distintos. Assim, os fatores envolvidos nas alterações ocorridas ao longo do tempo no gene da fração ribossomal 16S e *nifE* diferem daqueles que resultaram na diversidade do gene *nifH*.

Palavras-chave: Diazotróficos; 16S; Nitrogenase.

ANÁLISE PROTEÔMICA DE *Rhizobium freirei* PRF 81 SOB ESTRESSE ÁCIDO

Leandro Datola Tullio¹, Douglas Fabiano Gomes², Luciano Paulino da Silva³,
Mariangela Hungria², Jesiane Stefania da Silva Batista¹

¹UEPG, Ponta Grossa, Brasil, *leandrotullio@gmail.com*; ²Embrapa Soja;

³Embrapa Cerrados

A estirpe PRF 81 de *Rhizobium freirei*, autorizada para a inoculação do feijoeiro no Brasil, é reconhecida por sua habilidade simbiótica e de tolerância a estresses abióticos, como temperaturas elevadas e acidez. O objetivo deste trabalho foi analisar alterações na expressão de proteínas totais de *R. freirei* após crescimento em pH ácido. A bactéria foi incubada (28°C, 120 rpm) em caldo TY pH 6,8 (controle) e pH 4,8 (ácido) e submetida à extração de proteínas totais. As proteínas foram separadas por eletroforese bidimensional e os perfis proteicos obtidos foram analisados em imagens de alta resolução. Os spots diferencialmente expressos ($p \geq 0,05$) foram selecionados para identificação por espectrometria de massa. Segundo análise das proteínas diferencialmente expressas identificadas, o principal mecanismo de tolerância de *R. freirei* ao pH ácido parece estar associado à alteração de vias metabólicas centrais, devido ao aumento na expressão de proteínas envolvidas com vias oxidativas (ZwF, KDPG e PckA), que convertem carboidratos em precursores de substratos passíveis de incorporação no Ciclo do Ácido Tricarboxílico, via oxidativa em aerobiose. A maior expressão destas enzimas sugere um aumento no consumo de carboidratos e consequente formação de NADH, que pode ser corroborado pelo aumento na expressão da subunidade NuoC do Complexo 1 da cadeia respiratória, que cataliza a conversão de NADH em NAD⁺ acoplada ao transporte de prótons para o meio externo, reduzindo a acidificação interna. Considerando o Complexo 1 como principal formador de radical superóxido e a maior expressão das enzimas antioxidativas Gsta e AhpC, há fortes indícios de que o estresse ácido induz ao estresse oxidativo em *R. freirei* por meio do aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Por outro lado, a menor expressão da proteína AccC pode estar relacionada a um direcionamento do metabolismo central ao consumo de ácidos em detrimento à biossíntese de ácidos graxos, processo em que AccC possui papel fundamental. A menor expressão da subunidade β do Complexo ATPase (AtpD) pode estar direcionada à redução na acidificação do pH interno, por meio da diminuição na entrada de prótons. A abrangência de vias metabólicas envolvidas sugere que a resposta adaptativa ao pH ácido possui caráter multigênico, cuja predominância de proteínas citoplasmáticas reforça a importância do metabolismo central. Ao contrário de trabalhos que enfocam genes ou mecanismos específicos de tolerância, nossos resultados mostraram, pela primeira vez, que o metabolismo central parece ser o principal mecanismo de tolerância ao pH ácido em *R. freirei* e que há fortes indícios da correlação entre estresse ácido e oxidativo por meio do aumento na formação de ERO.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; *Phaseolus vulgaris*; Estresse abiótico.

APROXIMACIÓN GENÓMICA PARA EL ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA ASOCIACIÓN BETA RIZOBIO–LEGUMINOSA

Cecilia Rodríguez Esperón, María Zabaleta, Andrés Iriarte,
Laura Sandes, Elena Fabiano, Raúl Platero

Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable,
Montevideo, Uruguay, crodriguez@iibce.edu.uy

Há vários anos que se sabe que vários pertencem a *Bradyrhizobium* gêneros bacterianos compreendem tanto o alfa- e beta-Proteobacteris para. Os mais estudados correspondem às associações estabelecidas entre alfa-rizóbios, enquanto beta-rizóbio, sendo descoberta mais recente, têm sido menos estudados. Uma das questões levantadas hoje é se o processo de interação simbiótica planta-bactérias e expressão gênica por bactérias em resposta à do hospedeiro, é semelhante entre alfa e beta-rizóbio. A fim de responder a esta pergunta nos propomos a estudar a expressão diferencial de genes por indivíduos RNA-Seq três etapas: livre - bactérias que vivem, as bactérias que enfrentam exsudatos radiculares e bactérias em fase simbiótica. Como uma estirpe modelo foi escolhido *Cupriavidus* sp. UYPR2.512 e como plantas hospedeiras *Mimosa pudica*. Com *Cupriavidus* sp. UYPR2.512 foi isolado por nosso grupo em um trabalho anterior, de nódulos *Parapiptadenia rigida* (angico) e mostrado para produzir nódulos eficazes sobre *M. pudica*. Atualmente, estamos conduzindo testes preliminares de cada etapa. Para obter exsudato mudas de raiz *M. pudica* foram cultivadas em condições hidropônicas em a presença de células *Cupriavidus* sp. UYPR2.512. As amostras de meio de cultura a diferentes tempos de incubação foram recolhidos. A presença de flavonoides e quantitativamente analisados qualitativamente por HPLC usando flavonoides comerciais como controle. Para analisar as plantas simbióticas foram cultivadas estágio em condições gnotobióticos Jensen sem agar para o apoio e nitrogênio e inoculadas com uma cultura de *Cupriavidus* sp. UYPR2.512. Uma vez nódulos desenvolvidos, que foram colhidas e armazenado sob azoto até à extração do ARN. Ele define a uma técnica para a extração de ARN a partir de linfa usando um kit comercial. Obtenção de cada fração permitirá armar de bibliotecas de mRNA, sequenciamento e posterior análise bioinformática. É expectável que os resultados irão permitir que a descrição das vias metabólicas para os genes identificados que contribuem para uma melhor compreensão do processo de fixação biológica em beta-Rhizobium.

Palavras-chave: Fijación Biológica del Nitrógeno; Beta-rizobios; *Cupriavidus*.

BLOCKADE OF N-ACYL HOMOSERINE LACTONES-BASED QUORUM SENSING IMPAIRS SOYBEAN-*Bradyrhizobium* AND MAIZE-*Azospirillum* SYMBIOSIS

Julia L. F. Abrantes¹, Josiane Fukami², Manuel Megías³,
Francisco Javier Ollero Márquez³, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, PR, Brazil, julialfernandes@gmail.com;

²UEL; ³Universidade de Sevilla

Quorum Sensing (QS) is a mechanism of communication in which chemical mediators trigger population-density dependent responses. The QS mechanism based on N-Acyl homoserine Lactones (AHLs) is broadly used by bacteria and important behaviors are controlled by it, such as motility and biofilm formation. Regarding to plant-bacteria interactions, several studies have shown that AHL-based QS is crucial for plant-pathogen interaction and establishment of diseases, but the role of this mechanism for symbiosis between plant and beneficial bacteria is only under recent investigation. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of AHL-based QS inhibition in growth parameters of soybean and maize plants inoculated with nitrogen (N)-fixing bacteria and plant growth-promoting rhizobacteria, respectively. The strains used were *Bradyrhizobium japonicum* CPAC 15 (=SEMIA 5079) for soybean inoculation and *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 and Ab-V6, separately) for maize inoculation. In order to block AHL-based QS the plasmid pME6863, responsible for encoding a lactonase, was introduced by conjugation in the three strains of interest. Initially, growth curves in vitro were obtained in order to compare the growth capacity of the wild type strains and their respective transconjugants. This analysis showed that only the strain Ab-V6 had its growth pattern negatively altered by the conjugation process. Next, soybean seeds (cultivar BRS 317) were inoculated with 1.2×10^6 cells.seed⁻¹ of CPAC 15 or its transconjugant, while hybrid maize seeds (DKB 350 YG) were inoculated with 1.2×10^5 cells.seed⁻¹ of Ab-V5, Ab-V6 or their respective transconjugants. The experiments were performed using Leonard Jars under aseptic and controlled greenhouse conditions at EMBRAPA Soja, Londrina, PR, Brazil. After 35 days of seedling emergence, agronomic parameters were evaluated [for soybean: nodule number (NN), nodule dry weight (NDW), chlorophyll content (CC) and shoot dry weight (SDW); for maize: height (H), stem diameter (SD), CC, N content (NC), shoot total N (STN) and SDW]. The AHL-based QS inhibition in CPAC15 clearly impaired N assimilation and growth of soybean, since NDW, CC and SDW were reduced by 21%, 23% and 25%, respectively. For maize, the negative effect of AHL-based QS inhibition was also observed for N assimilation with the transconjugant Ab-V5 (CC, NC and STN reduced by 18%, 27% and 43%, respectively). Altogether, these results suggest that AHL-based QS is an important mechanism for both the symbiosis by rhizobia and for the association of grasses with *Azospirillum*. This study opened new perspectives for future studies to try to understand the molecular basis of the benefic associations of plant and bacteria. Apoyo Financiero: Proyecto Fondef-IDeA CA12i10134.

Keywords: Polisacáridos; Antimicrobianos; Biofilms.

FUNCTIONAL INFERENCE OF HYPOTHETIC GENES OF THE SYMBIOTIC ISLAND OF THE STRAIN CPAC 15 OF *Bradyrhizobium japonicum*

Everton Geraldo Capote Ferreira¹, Mariangela Hungria², Fernando Gomes Barcellos¹

¹UEL, Londrina, Brazil, fgbarcel@yahoo.com.br; ²Embrapa Soja

Biological nitrogen fixation (BNF) in soybean (*Glycine max* (L.) Merr) occurs by means of the establishment of a symbiotic association with diazotrophic bacteria, the majority belonging to the *Bradyrhizobium* genus. Recently, after the sequencing of the genome of the strain CPAC 15 of *B. japonicum* CPAC 15, broadly used in commercial inoculants for the soybean crop in Brazil, approximately 50% of the genes were identified as coding for putative proteins. In this context, this study aimed at analyzing the expression of genes located within the symbiotic island and which encode hypothetical proteins that could be associated with BNF. The functional inference was performed based on the search for similarities with various databases and structural prediction programs such as signal peptides, among others. The evaluation of gene expression was performed by RT-qPCR. On the RT-qPCR assay, genistein induction was used during the cultivation of the bacteria for approximately 48 hours. The analysis of similarity with the RefSeq database showed that all putative proteins were distributed in several genomes of different strains and species of the genus *Bradyrhizobium*. The results obtained by RT-qPCR showed that all selected hypothetical genes had high levels of expression in the presence of genistein compared to the control consisting of CPAC 15 grown in the absence of the flavonoid. The majority of the hypothetical genes for which we found inferences were functionally related to the categories of transport, metabolic pathways of amino acids and degradation compounds, leading to the assumption that these genes may play a role not only in the symbiosis, but also in the saprophytic ability of the strain.

Keywords: Functional annotation; Genistein; RT-qPCR.

GENOMIC PANORAMA, FOCUSED ON THE SYMBIOTIC CONTEXT, OF *Bradyrhizobium elkanii* STRAINS SEMIA 587, SEMIA 5019 AND USDA 76^T

Fabíola M. Carvalho¹, Douglas Fabiano Gomes², Mauro Ortiz¹, Luiz Gonzaga Almeida¹, Rangel Celso Sousa¹, Ana Tereza Ribeiro Vasconcelos¹, Mariangela Hungria²

¹LNCC, Petrópolis, Brazil, fmarques@lncc.br; ²Embrapa Soja

Biological nitrogen fixation has significant impact in agriculture economy and environmental sustainability. The highest contribution of this process is attributed to the legume-rhizobia symbioses, many of them with bacteria belonging to the genus *Bradyrhizobium*. However, only few symbiotic *Bradyrhizobium* species have been described so far, grouped in two major clades, *B. japonicum* and *B. elkanii*, this last one encompassing the great majority of tropical strains. In Brazil, *B. elkanii* SEMIA 587 and SEMIA 5019 strains have been largely used in commercial inoculants for the soybean crop for more than 35 years, with high economic impact due to their high capacity of fixing nitrogen. Shotgun and Pair Ends sequencing libraries of both strains were prepared using 500 ng and 5 ug of genomic DNA, respectively, and sequenced on Roche/454 GS FLX system. The sequences were assembled using Newbler and WGS-Celera, and the ORFs (Open Reading Frames) were predicted by GeneMark. Genomic annotation was performed on System for Automated Bacterial Integrated Annotation (SABIA). Strains 5019, 587 and the type strain of the *B. elkanii* species USDA 76T were compared by the Best-Hit Bidirectional method, using as cutoff e-value of 1e-05 and 80% coverage. The genomic similarity between the strains ranged from 85 to 95%. SEMIA 5019 shared 811 proteins with SEMIA 587, and 450 proteins with USDA 76T, while this strain had 150 proteins in common with SEMIA 587; 7,167 CDSs were common to all three strains. The main differences among 5019, 587 and USDA 76T were related to non-clustered proteins, corresponding to 8%, 11% and 4% of the genomes, respectively. About 40 genes associated with nitrogen fixing and nodulation properties (*nif*, *fix*, *noe*, *nol*, and *nod*) were identified in these strains, apparently located in one of the genomic islands identified in the genomes. The genomic islands showed GC content variation and are composed by several hypothetical proteins delimited by transposases, integrases and/or recombinases, resolvases, as well as proteins associated with signal transduction mechanisms, intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport. In addition, the abundance of hypothetical products and repetitive elements in *B. elkanii* 5019, 587, and USDA 76T genomic islands was notorious. All together, these transposable and repetitive elements might indicate a high rate of horizontal gene transfer events, which might also be involved in the acquisition of nitrogen fixing genes.

Keywords: Comparative genomics; Biological nitrogen fixation; Bioinformatics.

IMPROVEMENT IN NITROGEN FIXATION CAPACITY COULD BE PART OF THE DOMESTICATION PROCESS IN SOYBEAN

Nacira Muñoz¹, Xinpeng Qi², Man-Wah Li², Min Xie², Yishu Gao²,
Ming-Yan Cheung², Fuk-Ling Wong², Hon-Ming Lam²

¹Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Córdoba, Argentina,
munioz.nacira@inta.gob.ar; ²The Chinese University of Hong Kong, China

Biological nitrogen fixation (BNF) in soybeans is a complex process involving the interplay between the plant host and the symbiotic rhizobia. Since nitrogen supply plays a crucial role in growth and development, higher nitrogen fixation capacity would be important to achieve bigger plants and larger seeds, which were important selection criteria during plant domestication by humans. To test this hypothesis, we monitored the nitrogen fixation-related performance in cultivated and wild soybeans after inoculation with the slow-growing *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. USDA 110 and the fast-growing *Sinorhizobium (Ensifer) fredii* CCBAU 45436. Our results showed that in general, cultivated soybeans gave better performance in BNF. Electron microscopic studies indicated that there was an exceptionally high accumulation of poly- β -hydroxybutyrate bodies in bacteroids in the nodules of all wild soybeans tested, suggesting that the C/N balance in wild soybeans may not be optimized for nitrogen fixation. Furthermore, we identified new quantitative trait loci (QTLs) for total ureides and total nodule fresh weight by employing a recombinant inbred population composed of descendants from a cross between a cultivated and a wild parent. Using nucleotide diversity ($\theta\pi$), divergence index (F_{st}), and distribution of fixed single-nucleotide polymorphisms as parameters, we found that some regions in the total ureides QTL on chromosome 17 and the total nodule fresh weight QTL on chromosome 12 exhibited very low diversity among cultivated soybeans, suggesting that these were traits specially selected during the domestication and breeding process.

Keywords: Domestication; Nitrogen fixation; Quantitative trait loci.

MAPPING IS ELEMENTS IN BRAZILIAN *Bradyrhizobium* STRAINS USED IN INOCULANTS AND THEIR PUTATIVE IMPACTS ON THE SYMBIOSIS

Gesiele A. Barros-Carvalho¹, Mariangela Hungria², Fabrício M. Lopes³, Marie A. Van Sluys¹

¹USP, São Paulo, Brazil, gesiele@usp.br; ²Embrapa Soja; ³UTFPR

The most abundant class of transposable elements (TEs) in prokaryotes is the insertion sequences (ISs). IS elements are relevant contributors to genetic/genomic variation due to their ability to promote various types of rearrangements, gene inactivation and modification of gene expression, among others. The genome sequencing of two important strains used in the commercial inoculants for the soybean crop in Brazil, *Bradyrhizobium diazoefficiens* CPAC 7 and *B. japonicum* CPAC 15, indicated a large concentration of transposases close to genes in the symbiotic island, where the genes responsible for nodulation and nitrogen fixation are concentrated. Knowing that the strains exhibit differences in competitiveness and efficiency in fixing nitrogen, this study aimed to analyze the putative impact of ISs on genes in order to find out possible factors responsible for phenotypic differences during biological nitrogen fixation (BNF). The analysis was performed using the ISSaga tool, ISfinder database and *in-house* Perl scripts. First, the IS elements complete in both genomes was defined including their genomic context. Second, each IS insertion was analyzed regarding the potential to disrupt surrounding genes or be inserted in regulatory regions. Next, the results were compared with other *Bradyrhizobium* genomes available in public databases. Furthermore, we verified whether the impacted genes and their respective ISs have already been identified as differentially expressed under symbiosis condition in studies of *B. diazoefficiens* USDA110. We annotated 77 complete ISs in CPAC 7 and 81 in CPAC 15, encompassing 15 different ISs families. The genomic context analysis informed that most insertions were in intergenic regions. However, disrupted genes and ISs inserted in the promoter regions on the symbiotic island were also found. These were genes involved in the BNF process such as ABC transporter, peptidase C58, type III secretion system genes, *modC*, *hypB*, among others. The comparison with other *Bradyrhizobium* genomes revealed that some insertion events are conserved among some strains, but there are also specific insertion events in the Brazilian *Bradyrhizobium* strains. Moreover, some impacted genes display differential expression in symbiosis condition, 21 and 28 days after inoculation, potentially revealing the importance of these genes. In conclusion, our results may help to understand the genomic basis that can contribute to clarify differences between strains in properties related to the symbiotic performance.

Keywords: Comparative genomics; Nitrogen fixation; Transposable elements.

NITROGEN FIXING VARIABILITY AND ITS ASSOCIATION WITH MORPHO-PHYSIOLOGICAL TRAITS IN PIGEONPEA (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.)

Albertha Joseph-Alexander, Pathmanathan Umaharan,
Adesh Ramsubhag, Gregory Gouveia

The University of the West Indies, St. Augustine C, St. Augustine,
Trinidad and Tobago, alberthaj@hotmail.com

Previous studies have shown that variation exist for biological nitrogen fixation (BNF) in legumes; however, this has not been investigated in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) nor used in breeding as a selection criteria. Furthermore, the extent of BNF ability in the newly developed short-duration pigeonpea varieties developed for year-round production at The University of the West Indies (UWI), remains unknown up to this time. This study therefore investigated whether variation also exists for BNF in these dwarf pigeonpea varieties and assessed criteria that can be used for selection in breeding programmes. Recombinant inbred lines (RILs) produced from crosses involving two popular indeterminate traditional varieties and a high yielding dwarf variety were screened separately in N-rich and N-depleted soils using a randomised complete block design with two replicates and subsequently classified as good, medium and poor fixers. Sixteen RILs, representing each cohort, were further evaluated for below ground morphological characteristics and leaf nitrogen content using a similar design. With a subset of 10 RILs, BNF was determined using ^{15}N (A-value) techniques. There was a general association between the classification groups determined based on response to N-application and total nitrogen fixed (kg/ha). Percentage N derived from fixation (%Nd_{fa}) was exceptional and ranged from 97 to 99% with an average of $98.4 \pm 0.08\%$, indicating limited genotypic variation for this trait. In contrast, there was a large and significant ($p < 0.001$) variation in total N fixed in plant and seed, ranging between 27 to 61 kg/ha and 3.3 to 35.5 kg/ha respectively. Both were correlated with total root matter, total leaf dry matter and total leaf nitrogen. It is recommended that the ability to produce leaf dry matter in N-depleted soils can be used as a selection criteria for BNF in breeding programmes. Authors wish to extend expressions of gratitude to: The U.W.I School for Graduate Studies and Research for funding the ^{15}N analysis of samples at UC Davis Stable Isotope Facility. The Soil Science Unit, Department of Food Production for use of lab facilities. Assistance with field work and preparation of samples from Greenhouse personnel of the Life Sciences and Food Production Department.

Keywords: ^{15}N ; Legumes; Recombinant Inbred Lines.

PLANT DERIVED PEROXIDASES AND CHITINASES ARE INVOLVED IN THE EARLY STEPS OF PEANUT-BRADYRHIZOBIA SYMBIOTIC INTERACTION

Fernando Ibañez, María Soledad Figueredo,
Johan Stiben Rodríguez Melo, Adriana Fabra

Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina, fibanez@exa.unrc.edu.ar

Peanut, like most legumes, develops a symbiotic relationship with rhizobia to overcome nitrogen limitation. Bradyrhizobial infection of peanut roots occurs through a primitive and poorly characterized intercellular mechanism, and nodule induction responds to an aeschynomenoid morphogenetic programme. In contrast to symbiosis development in model legumes, knowledge of the molecular determinants involved in peanut-bradyrhizobia interaction is scarce, and little is known about the molecules implicated in the symbionts recognition. Advances in the knowledge of the molecular bases of intercellular infection will contribute to the understanding of the evolution of symbiosis, and might allow the identification of target molecules for further improving the association through biotechnological applications. With the aim of gaining insight into the plant molecules involved in early recognition events in peanut-bradyrhizobium symbiosis, we determine the relative expression levels of *Ahprx1* and *Ahchi13* (genes encoding for a peanut peroxidase and a chitinase, respectively) after rhizobial inoculation. Real-Time PCR determinations were carried out with cDNA synthesized from RNA extracted at 0, 1, 8, 16 and 24 hours Post-Inoculation (PI), and the threshold cycle (Ct) was determined in triplicates. Relative transcription levels were calculated using actin as housekeeping gene by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. Results indicated that both genes (*Ahprx1* and *Ahchi13*) displayed different levels of upregulation at all the time points analyzed. These data indicate that these molecules are involved in the early steps of the molecular pathway that leads to nodule development in this particular symbiotic interaction. Afterwards, in order to assess if expression of these genes was Nod factor (NF) dependent, we also analyze their transcription levels after inoculation with a NF defective bradyrhizobial mutant. For *Ahchi13*, results showed a transcriptional profile similar to that obtained for plants inoculated with wild type strain, indicating that the expression of this gene is not induced by NF perception. On the other hand, *Ahprx1* was only upregulated at 16 and 24 hours PI with the mutant strain, suggesting that NF signalling can modulate the expression levels of this gene. Further experiments will reveal whether transcription of these genes is exclusively related to rhizobial perception or if they also respond to elicitors from other organisms. Financial Support: SECyT UNRC, CONICET, ANPCyT-SECyT.

Keywords: Nitrogen-fixing symbiosis; Molecular dialogue; Plant determinants.

PROBABLE ROLES OF THE *hsnT*, *nodF* AND *nodE* GENES IN *Rhizobium tropici* CIAT 899 NODULATION FACTOR BIOSYNTHESIS AND DECORATION

Douglas Fabiano Gomes¹, André Shigueyoshi Nakatani¹, Pablo del-Cerro²,
Francisco Javier Ollero Márquez², Manuel Megías², Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, Brazil, douglasfgomes@yahoo.com.br;

²Universidad de Sevilla

Brazil outstands as a country benefiting from biological nitrogen fixation (BNF), with an emphasis on the symbioses of rhizobia with several legumes, resulting in economy for the farmers and helping in the mitigation of environmental impacts caused by N-fertilizers. To get a better understanding of the symbiosis is critical to improve these benefits, and one major step includes studies about the initial steps of the nodulation of the host legume, comprising a complex exchange of molecular signals. The plant-rhizobia dialog begins with the exudation of molecular signals (mostly flavonoids) from the legume and is followed by the biosynthesis of nodulation (Nod) factors by the rhizobia, mediated by the expression of bacterial *nodD* regulatory genes. It is worth emphasizing that the Nod factors are molecules structurally diverse, varying in the number of unsaturated bonds and in length of the acyl chains, all of which can affect host range. The aim of our study was to analyze the potential roles of the *hsnT*, *nodF* and *nodE* genes in *Rhizobium tropici* CIAT 899 Nod factor biosynthesis, in the presence of flavonoid and under saline stress. To reach this purpose, all the five-*nodD* genes of CIAT 899 (*nodD1*, *D2*, *D3*, *D4* and *D5*) were mutated by the insertion of the Ω interposon, blocking the transcription process. After that, the total RNA was isolated using Trizol® and the relative expressions of the target genes were obtained, normalized and quantified. The Nod factor profiles of the wild type CIAT 899 and *nodD* mutants allowed us to infer probable roles of our target genes. *nodF* encodes an acyl carrier protein and *nodE* the β -acetoacetyl synthase, which participates in the biosynthesis of α , β -unsaturated fatty acids of some rhizobia Nod factors. Interesting, in contrast with the wild type and the *nodD2* mutant, two unsaturated Nod factors were absent in the *nodD1* mutant in response to apigenin, what could be explained by the strong down-regulation of both *nodFE* alleles. Regarding *nodD3* mutant, no structural differences in Nod factors, nor important alterations in the target genes expressions were detected. On the contrary, under saline stress some unsaturated Nod factors were absent in the *nodD4* and *nodD5* mutants, possible due to the down-regulation of more than 9- and 11-fold, respectively, in *nodE* expression. These mutants also did not present sulphated molecules of four units of N-acetyl-glucosamine under salt condition, probable due to the down-regulation of *hsnT*, a gene acting in Nod-factor decoration. These regulatory mechanisms suggest the potential roles of *hsnT*, *nodF* and *nodE* in the synthesis and decoration of Nod factors, and will help to get a better understanding of the functions of these molecules.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation; Symbiosis; Molecular Signals.

RNA-SEQ ANALYSIS OF *Rhizobium tropici* CIAT 899 GENOME IN THE PRESENCE OF APIGENIN AND SALT

Pablo del-Cerro¹, Francisco Pérez-Montaña¹, Irene Jiménez-Guerrero¹,
Francisco Javier López Baena¹, Manuel Megías¹,
Mariangela Hungria², Francisco Javier Ollero Márquez¹

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Sevilla, España, pdelcerro@us.es; ²Embrapa Soja, Brazil

Rhizobium tropici strain CIAT 899 is the most successful microsymbiont of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in tropical acid soils. This bacterium synthesizes a large variety of nodulation factors in response to *nod*-gene inducing flavonoids and, surprisingly, also under salt stress conditions. This study identifies genes that are differentially expressed in the presence of both inducing molecules and the promoter regions located upstream of these genes. The analyses by RNA-seq of CIAT 899 induced with apigenin or salt allowed the identification of 19 and 790 differentially expressed genes, respectively. 15 of these genes are located in the symbiotic plasmid and were up-regulated in both conditions. An *in silico* analysis of the promoter regions suggested that these genes are involved in the synthesis of both Nod factors and indol-acetic acid in CIAT 899. Transcription of these genes is presumably activated through binding of NodD to specific *nod*-box promoter sequences when the bacterium was induced by both apigenin and salt. Finally, under saline conditions, many other transcriptional responses were detected, including an increase in the transcription of ribosomal genes, trehalose catabolism, chemotaxis and protein secretion and a decrease in the transcription of genes involved in transmembrane transport. To our knowledge this is the first time that a transcriptomic study shows that salt stress induces the expression of nodulation genes in the absence of flavonoids. Thus, in the presence of both nodulation inducer molecules—apigenin and salt—*R. tropici* CIAT 899 up-regulated the same set of symbiotic genes. Besides, increases in the transcription of several genes related to nodulation under saline conditions could represent a strategy to establish the symbiosis under abiotic stressing conditions.

Keywords: Transcriptome; *Nod* genes; Nodulation.

RNA-SEQ OF *Sinorhizobium fredii* HH103 GENOME IN PRESENCE OF INDUCING FLAVONOIDS REVEALS NOVEL GENES INVOLVED IN SYMBIOSIS

Francisco Pérez-Montaño, Irene Jiménez-Guerrero, Sebastián Acosta-Jurado, Pilar Navarro-Gómez, Pablo del-Cerro, Francisco Javier Ollero Márquez, José Enrique Ruíz-Sainz, Francisco Javier López-Baena, José María Vinardell

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología,
Sevilla, España, fjom@us.es

Sinorhizobium fredii HH103 is a rhizobial species exhibiting an extremely broad host-range that includes soybean. Flavonoids exuded by legume roots induce the expression of rhizobial symbiotic genes through interaction with the bacterial protein NodD1, which binds to regulatory DNA sequences called nod boxes (NB) resulting in the expression of genes involved in the production of molecular signals called Nod factors. Flavonoid-activated NodD1 also regulates the transcription of *ttsI*, whose encoded protein binds to *tts* boxes (TB) inducing the transcription of genes that code for proteins involved in the assembly of the machinery necessary for secretion of proteins through the type 3 secretion system (T3SS). Interestingly, the very recently sequencing of the *S. fredii* HH103 genome allowed the identification of a high number of putative NB and TB whose functionality remained to be demonstrated. In this work, a *S. fredii* HH103 global gene expression analysis in the presence of a nod-gene inducing flavonoid, the genistein, was carried out. The RNA-seq and qRT-PCR data obtained allowed the determination of an expression map of the *S. fredii* HH103 whole genome in the presence of genistein. Three groups of genes differentially expressed upon treatment with inducing flavonoid were identified: genes controlled by NB, genes regulated by TB, and genes not preceded by a NB or a TB. Interestingly, we have found differentially expressed genes not previously studied in rhizobia, and many of them seem to be not related to Nod factors or to the T3SS. Future characterization of these putative symbiotic-related genes could shed light on the understanding of the complex molecular dialogue between rhizobia and legumes.

Keywords: Transcriptome; Type 3 secretion system; Nod-box.

SESSÃO PÔSTER III

FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DE RIZOBACTÉRIAS E LEGUMINOSAS

ANÁLISE DE CONGRUÊNCIA PARA VALORES DE PRODUÇÃO DE AUXINA (AIA) E SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS PRODUZIDOS POR RIZOBACTÉRIAS

Luciana Grange¹, Amanda Painter¹, Anderson Jose Scherer¹,
Renan José Casarotto Appel¹, Kamila Cock², Deisi Navroski²,
Marco Antônio Bacellar Barreiros¹

¹UFPR, Palotina, Brasil, lucianagrange@gmail.com; ²UEL

As relações existentes entre as plantas e o solo são mediadas por microrganismos, em sua maioria, conhecidos como rizobactérias. Elas podem trazer vários benefícios aos vegetais atuando diretamente como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), produzindo compostos que auxiliem na nutrição ou facilitem a entrada de nutrientes do ambiente para as plantas; ou indiretamente como agentes de controle biológico, reduzindo ou prevenindo a ação de pragas e doenças. Fitormônios, como o ácido 3-indolacético (AIA), são capazes de produzir modificações na morfologia das raízes atuando na divisão celular, consequentemente influenciando diretamente na absorção de nutrientes e água. Elementos como o fósforo desempenham funções metabólicas importantes nas plantas, pois participam como componentes estruturais de ácidos nucleicos, de fosfolipídios bem como de moléculas de adenosina trifosfato (ATP). O objetivo deste trabalho, foi analisar a congruência entre os dados de produção de auxina e solubilização de fosfatos por BPCVs obtidas a partir de solos sob diferentes manejos de cultivo, a fim de identificar estirpes e gêneros mais eficientes para tais parâmetros. As análises de agrupamento para os parâmetros avaliados foram realizadas através do módulo de caracteres do programa *Bionumerics* (*Applied Math*) utilizando-se a distância euclidiana e o algoritmo de agrupamento UPGMA. O módulo de sequências do *software Bionumerics* foi utilizado para a construção de uma árvore filogenética a partir das sequências parciais do gene da fração 16S ribossomal (aproximadamente 1400 pares de bases), utilizando-se o modelo de evolução K80 (KIMURA,1980) e o algoritmo *Neighbour-Joining*. Pelos resultados, foi possível observar a congruência entre um total de oito grupos (G). Os isolados do grupo dois (G2) apresentou alta eficiência quanto aos dois parâmetros de promoção de crescimento avaliados. O grupo quatro (G4) apresentou as médias de eficiência mais altas para a produção de AIA e para a solubilização de fosfato, porém este agrupamento foi composto por apenas três representantes. Os isolados dos dois melhores grupos são todos representantes do gênero *Enterobacter*. Os agrupamentos obtidos para os dois parâmetros separadamente em relação ao cluster pelo sequenciamento parcial do gene 16S rRNA também confirmam o potencial biotecnológico do gênero *Enterobacter* quanto a promoção do crescimento vegetal.

Palavras-chave: Planta; Crescimento; Rizosfera.

ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM MILHO (*Zea mays*) SUBMETIDAS À INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*

Josiane Fukami¹, Marco Antonio Nogueira², Manuel Megías³,
Francisco Javier Ollero Márquez³, Mariangela Hungria²

¹UEL, Londrina, Brasil, josifukami@hotmail.com;

²Embrapa Soja; ³Universidade de Sevilla, Espanha

É notório o conhecimento dos benefícios que os inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* representam às gramíneas. No entanto, ainda não estão bem elucidadas as mudanças fisiológicas e bioquímicas que esses microrganismos proporcionam às plantas. As plantas podem reconhecer a associação com *Azospirillum* como um fator de estresse e, conseqüentemente, produzir espécies reativas de oxigênio (ERO), desencadeando processos de peroxidação lipídica nas membranas celulares. Em resposta às ERO, as plantas desencadeiam mecanismos de defesa, ativando enzimas antioxidantes e, assim, conferindo sua proteção. O objetivo deste estudo foi analisar as respostas defensivas de milho (DKB 330PRO2) relacionadas ao estresse oxidativo quando inoculado com *A. brasilense*. O ensaio foi conduzido em fitotron na Universidade de Sevilla, na Espanha. Os tratamentos foram inoculados com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, individualmente, sob diferentes métodos de inoculação [via semente (IS) e pulverização foliar (PF)], pulverização foliar dos extratos bacterianos (EB), além da testemunha sem inoculação. Foram avaliadas, em folhas e raízes, as atividades das enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) e a peroxidação lipídica, pela quantificação de malondialdeído (MDA). Os dados foram submetidos à ANOVA (Tukey $p \leq 0,05$). Para a atividade de APX, em folhas, os tratamentos com a Ab-V6+IS e Ab-V5+EB, induziram o estresse oxidativo, verificando-se um incremento significativo na atividade desta enzima em relação à testemunha. Já nas raízes, todos os tratamentos apresentaram maior atividade de APX, sendo que os tratamentos com Ab-V5+PF e Ab-V6+EB diferiram estatisticamente. Para a atividade da CAT, tanto nas folhas, como nas raízes, todos os tratamentos também resultaram em maior atividade antioxidante, principalmente nos tratamentos Ab-V5+EB e Ab-V6+EB, diferindo estatisticamente em relação à testemunha. As membranas celulares, porém, não foram afetadas nos tratamentos com maior atividade enzimática, com exceção do tratamento com Ab-V5+raiz. Nessas condições, na cultivar de milho estudado, os extratos bacterianos de ambas as estirpes apresentaram maior resposta defensiva ao estresse oxidativo do que propriamente as bactérias, indicando a ativação de mecanismos antioxidantes das plantas e, assim, conferindo maior proteção celular.

Palavras-chave: Ascorbato peroxidase; Catalase; Malondialdeído.

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM SOLO COM O USO DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNO EM SISTEMA DE PLANTIO DIRETO E PLANTIO CONVENCIONAL

Maria Aparecida de Matos¹, Arnaldo Colozzi Filho¹, Nahyara Fernanda Pereira Cezário¹, Kelly Campos Guerra Pinheiro de Goes², Graziela Moraes de Cesare Barbosa¹, Marco Antonio Nogueira³

¹IAPAR, Londrina, Brasil, mariamatos@iapar.br; ²UEL; ³Embrapa Soja

O manejo do solo e a aplicação de dejetos líquidos de suínos (DLS) podem contribuir para o aporte de nutrientes e matéria orgânica em solos agrícolas. Os microrganismos são as principais fontes de enzimas presentes no solo, sendo que os estudos sobre a atividade enzimática, relacionados aos ciclos do fósforo e carbono, são considerados importantes indicadores biológicos para verificar efeitos decorrentes da aplicação de resíduos e sistemas de manejo do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade enzimática do solo, após a aplicação de doses de dejetos suínos em sistema de plantio direto (SPD) e plantio convencional (PC). O experimento foi desenvolvido em Palotina, Paraná, instalado há 17 anos, em Latossolo Vermelho distroférico de textura argilosa. Os tratamentos avaliados foram aplicações das doses de 0, 30, 60, 90 e 120 (m³ ha ano)⁻¹ de dejetos de suínos em solo cultivado com soja, em delineamento experimental em parcelas subdivididas em blocos casualizados, com três repetições. A análise de variância foi realizada pelo teste F a 5% de probabilidade e análise de regressão polinomial. Em outubro de 2014 foram coletadas amostras de solo, na profundidade de 0-10 cm e determinaram-se as atividades enzimáticas: celulase, fosfatase ácida e básica, β -glicosidase e hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). No SPD a atividade da celulase, β -glicosidase, fosfatase básica e ácida foram estatisticamente superiores em relação ao PC, no entanto para a enzima FDA não houve diferenças entre os sistemas de manejo do solo. Para todas as atividades enzimáticas avaliadas não houve efeito da interação entre os sistemas de preparo do solo e doses de DLS. Para as enzimas celulase, β -glicosidase e fosfatase ácida houve aumentos lineares com incrementos das doses de DLS, resultando em diferenças superiores e significativas no SPD comparados ao PC. A atividade da enzima FDA e da fosfatase básica respondeu de forma quadrática em função da aplicação das doses de DLS. No PC e SPD a enzima fosfatase básica apresentou valores médios de 46,2 e 56,49 μ g p-nitrofenol (g solo h)⁻¹ com a aplicação máxima das doses de DLS 71,2 e 74,9 (m³ ha ano)⁻¹, respectivamente. Considerando a similaridade para a enzima FDA entre os sistemas, observou-se valor médio de 108,86 mg de FDA (g solo 20 min)⁻¹ com a aplicação da dose máxima de 78,47 de DLS (m³ ha ano)⁻¹. O sistema de plantio direto aumenta a atividade das enzimas celulase, β -glicosidase, fosfatase básica e ácida. No PC e SPD a definição de doses acima de 71,2 e 74,9 de DLS (m³ ha ano)⁻¹ no solo é indicada para este grupo de enzimas, sendo que estas doses são limitadas devido a maior sensibilidade e redução da atividade da fosfatase básica no solo.

Palavras-chave: β -glicosidase; FDA; Fosfatase.

BACTERIA ISOLATED FROM SHALE BYPRODUCTS CAN ENHANCE PLANT GROWTH IN *Brachiaria ruziziensis* AND *Eucalyptus grandis*

Kelly Campos Guerra Pinheiro de Goes, Gisele Milani Lovato, Diva de Souza Andrade

IAPAR, Londrina, Brazil, diva@iapar.br

The process to mining and extract oil from oil shale generates tons of solid byproducts, such as the fine shale particles (FS) and the retorted shale (RS). These byproducts have potential to be used as bioformulations because contain some nutrients. Agricultural practice is moving toward a more sustainable and environmental friendly approach including the use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In this context, the aims of this study were to isolate bacteria present in FS and RS, to characterize and to evaluate their potential as PGPR. The strains were evaluated in terms of phosphate solubilization, indole-3-acetic acid and siderophore production, and survive in mineral medium supplemented with shale byproducts. To evaluate the effectiveness of bacterial strains as PGPR on *Brachiaria ruziziensis*, the following treatments were evaluated: control without inoculation; fertilized control; inoculation of IPR4883; bacteria mixture contained four strains [IPR4881 (*Paenibacillus pabuli*); IPR4883 (Not identified); IPR4884 (*Bacillus megaterium*) and IPR4897 (*B. megaterium*)], which grown separate (GS), bacteria mixture, which were grown in the same flask (GT); and *Azospirillum* strains AbV5 and AbV6. The effects of eight strains were assayed on *Eucalyptus grandis*, treatments consist in: IPR-4881; IPR-4883; IPR-4884; IPR-4897; IPR-4880 (*P. thuringiensis*); IPR-4896 (*P. pabuli*); IPR-4901 (*P. thuringiensis*); IPR-4918 (*Paenibacillus* sp.) and two controls were used, the FS and RS control. Among 43 bacterial strains, phosphate solubilization was observed in 22 and secretion of siderophore in 14, while most of them (41) were able to produce indole-3-acetic acid in tryptophan-supplemented medium, with values ranging from 0.33 to 86.12 μM auxin mL^{-1} . The ability to survive in mineral medium containing the shale byproducts as carbon source was demonstrated by several bacterial strains, after 40 days of incubation. Plant inoculation studies indicated that some isolates provide increase of *B. ruziziensis* and *E. grandis* growing in a sandy soil pot at greenhouse conditions. From the results of this study, we conclude that some bacterial strains isolated from shale byproducts are potential microorganisms for promoting plant growth and nutrients uptake. Further studies of the commercial application and effectiveness of these strains should be carried out under field conditions.

Keywords: *Bacillus*; 16S rRNA; IAA.

***Bradyrhizobium* sp. INOCULATION IN COWPEA MITIGATES OXIDATIVE STRESS INDUCED BY APPLICATION OF TANNERY SLUDGE COMPOSTED**

Ademir Sérgio Ferreira de Araújo¹, Nayara de Jesus Moraes¹,
Vicente Paulo da Costa Neto¹, Aurenivia Bonifacio², Artenisa Cerqueira Rodrigues¹

¹UFPI, Teresina, Brazil, asfaruaj@yahoo.com.br; ²UFT

The oxidative stress can strongly affect the biological nitrogen fixation (BNF) in nodules and therefore the antioxidant system works to reduce the damage caused by the deleterious effects of oxidizing compounds and maintain adequate BNF. In this sense, the objective of this work was to evaluate the parameters related to BNF and to oxidative metabolism in nodules of cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* sp. and grown in soil with application of different levels of tannery sludge composted. The experimental design was randomized blocks with a factorial scheme 4 x 2, being four doses of tannery sludge composted (0; 5; 10; and 20 t ha⁻¹) uninoculated and inoculated with *Bradyrhizobium* sp. Cowpea inoculated with *Bradyrhizobium* sp. showed better growth responses than plants inoculated with native rhizobia. It was recorded increase in the number of nodules, nodules dry mass, nitrogen fixation efficiency and nitrogen content in cowpea nodules inoculated with *Bradyrhizobium* sp. and grown in soil with tannery sludge composted. The level of hydrogen peroxide was lower in nodules cowpea inoculated with *Bradyrhizobium* sp., while the leghemoglobin these were maintained in the highest levels. The enzymes catalase and peroxidase phenols were positively modulated in nodules of cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* sp. It is concluded that the tannery sludge composted presence did not affect the establishment and development of the symbiosis of *Bradyrhizobium* sp. with cowpea, being this plants more able to control oxidative stress in their nodules than those who were nodulated by native rhizobia present in the soil. Given the above, the inoculation with *Bradyrhizobium* sp. can be a useful tool to minimize the deleterious effects of exposure to tannery sludge composted and ensure plant growth and productivity. Fonte Financiadora: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (proc. 471347/2013-2 e 305102/2014-1).

Keywords: Chromium; Hydrogen peroxide; Antioxidant enzymes.

CAPACIDADE DE MANUTENÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA SOB RESTRIÇÃO HÍDRICA

Vivian Nogueira Marques Cervantes¹, Paula Cerezini¹, Walkyria Neiverth¹,
Mariangela Hungria², Marco Antonio Nogueira²

¹UEL, Londrina, Brasil, vivianmcervantes@gmail.com; ²Embrapa Soja

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) em soja é vulnerável à seca. Essa sensibilidade pode ser mensurada pelo acúmulo de compostos nitrogenados, principalmente ureídeos, nos pecíolos e folhas de soja, em períodos de restrição hídrica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta de genótipos de soja à restrição hídrica, verificando-se o acúmulo de ureídeos e o rendimento de grãos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação utilizando-se os genótipos de soja: R01-581F e R02-1325, que apresentam FBN tolerante à seca; BRB-25, BRB-26, BRB-27, descendentes de um genótipo que apresenta fenótipo tolerante à seca; e BRS 317, controle comercial. O delineamento foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 6x2, sendo seis genótipos de soja, em duas condições hídricas: suficiência (300 mL de água L solo⁻¹) ou restrição hídrica moderada (90 mL de água L solo⁻¹), com dez repetições. O substrato utilizado foi um Latossolo Vermelho distrófico, que recebeu solução nutritiva isenta de N mineral. A inoculação foi realizada nas sementes, com uma mistura das estirpes SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) e SEMIA 5080 (*B. diazoefficiens*). Durante o período de florescimento dos genótipos (R2) foi induzida a restrição hídrica, por dez dias. Após esse período, seis repetições do experimento foram utilizadas para determinar o teor de ureídeos nos pecíolos e folhas. As demais repetições foram mantidas sob suficiência hídrica até o final do ciclo da cultura para obter o rendimento de grãos. Os ureídeos nos pecíolos aumentaram na maioria dos genótipos sob restrição hídrica em comparação com a condição de suficiência hídrica, havendo um incremento de 15% para R01-581F e mais de 120% para os genótipos BRS 317, BRB-25, BRB-26 e BRB-27. A exceção foram as plantas do genótipo R02-1325, que apresentaram redução de 52% dos ureídeos nos pecíolos. O teor de ureídeos nas folhas, dos genótipos BRS 317, BRB-25 e BRB-26 aumentou 104%, 135% e 24%, respectivamente, sob restrição hídrica, em relação às plantas sob suficiência hídrica. As plantas do genótipo BRB-27, por sua vez, tiveram uma redução de 17%. Além disso, as plantas dos genótipos R01-581F e R02-1325 não apresentaram diferenças significativas entre as condições hídricas para essa variável. A manutenção do rendimento de grãos foi diferente entre os genótipos de soja avaliados, sendo que a maior massa de grãos sob restrição hídrica foi observada nos genótipos R02-1325 e BRB-27, mas não diferindo de BRB-26. Assim, os genótipos R02-1325 e BRB-27 têm potencial para serem usados como recursos genéticos na pesquisa de características de tolerância à seca em soja, pois apresentaram melhor desempenho quanto ao rendimento de grãos, sem o acúmulo de compostos nitrogenados sob seca.

Palavras-chave: Tolerância à seca; Ureídeos; Rendimento de grãos.

EMISIÓN DE GASES INVERNADERO EN LA SIMBIOSIS *Bradyrhizobium*-SOJA

Melissa Obando Castellanos¹, Florencia Donadio¹, Eulogio J. Bedmar²,
Fabricio Dario Cassán¹, Yoav Bashan³, Luz de Bashan³

¹DCN. FCEFQyN. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto. Córdoba, Argentina, fcassan@exa.unrc.edu.ar; ²Estación Experimental del Zaidín. CSIC. Granada, España;

³The Bashan Institute of Science, EUA

El óxido nitroso (N_2O) es un gas de efecto invernadero (GEI) que intervienen en el calentamiento global. La aplicación de fertilizantes nitrogenados en suelos agrícolas contribuye a incrementar la emisión de estos gases, que se originan durante la nitrificación y sobre todo la desnitrificación. Argentina y Brasil ocupan el segundo y el tercer lugar en la producción de soja a nivel mundial y la inoculación de esta leguminosa se realiza con diferentes cepas del género *Bradyrhizobium*. Se ha reportado que los rizobios no son verdaderos denitrificantes, por lo que si se considera la superficie sembrada actual, la soja podría convertirse en una de las principales fuentes de emisión de GEI en la agricultura de América del Sur. El objetivo de este trabajo fue el de evaluar la actividad desnitrificante de *B. diazoefficiens* SEMIA 5079, 5080 y USDA110, *B. japonicum* E109 y *B. elkanii* SEMIA 5019 y 587, así como su emisión de N_2O en condiciones de *vida libre* y en simbiosis con plántulas de soja. Para ello, inicialmente se evaluó *in silico* y molecularmente la presencia de los genes de la desnitrificación (*napA*, *nirK*, *norC* y *nosZ*) en las cepas mencionadas. Así mismo, se comprobó la expresión de *nirK* y *norC* a través de la actividad de las enzimas nitrato y nitrito reductasa (NR y NiR). La emisión de N_2O se determinó mediante cromatografía de gases, tanto en cultivos bacterianos como a partir de raíces y nódulos de soja inoculadas y en sistemas hidropónicos de cultivo. Los resultados permitieron identificar la presencia de *norC*, la ausencia de *nosZ* y actividad enzimática NR y NiR, verificando la presencia de *nirK* y *norC*. Los resultados mostraron que todas las cepas excepto fueron productoras de N_2O *in vitro*, presentando los valores más altos SEMIA 5079, SEMIA 5019 y E109. En simbiosis, la producción de N_2O se comprobó en raíces inoculadas con todas las cepas, pero particularmente el tratamiento inoculado con SEMIA 5079 presentó emisiones máximas de 101.638,03 nmoles/mg proteína lo que superó hasta en 2.5 veces la producción de las demás bacterias. La producción de N_2O en nódulos presentó valores máximos en plantas inoculadas con SEMIA 5079, con una producción máxima de 694,39 nmoles/mg a las 288 horas. En el caso de las plantas inoculadas con USDA 110 (verdadera desnitrificante) la emisión de N_2O fue la menor (valor máximo: 12,64 nmoles/mg) y su producción fue de hasta un 70% menos que el resto de los tratamientos en estudio. Estos resultados permiten inferir que las cepas mayoritariamente utilizadas en sudamérica para la formulación de inoculantes son desnitrificadoras incompletas, lo que conlleva a la liberación de gases de tipo NOx (GEI) como productos intermedios de este proceso respiratorio.

Palabras clave: Desnitrificación; Gases del efecto invernadero; Rizobios.

ESTIRPES DE *Bradyrhizobium* COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTAR A TOLERÂNCIA À SECA EM SOJA

Paula Cerezini¹, Biana Harumi Kuwano¹, Anna Karolina Grunvald²,
Mariangela Hungria², Marco Antonio Nogueira²

¹UEL/Embrapa Soja, Londrina, Brasil, paulacerezini@yahoo.com.br; ²Embrapa Soja

Dentre as alterações climáticas, a seca é o fator que mais limita a produtividade da cultura da soja, com efeitos negativos à fixação biológica de nitrogênio (FBN). O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* em soja sob restrição hídrica. Foram conduzidos experimentos em casa de vegetação utilizando-se dois genótipos de soja: R01-581F, que apresenta FBN tolerante à seca, e NA5858RR, controle comercial. O delineamento foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 x 2, sendo três estirpes de *Bradyrhizobium*: SEMIA 587 (*B. elkanii*), SEMIA 5019 (=29W) (*B. elkanii*) ou SEMIA 5080 (=CPAC7) (*B. diazoefficiens*); em duas condições hídricas (suficiência hídrica ou restrição hídrica) entre 45 e 62 dias após a emergência (DAE). Aos 63 DAE, raízes com nódulos foram coletadas, congeladas em N₂ líquido e estocadas a -80 °C para posterior avaliação da atividade da enzima glutamina sintetase (GS), utilizando coluna Sephadex G-25 para extração. Determinou-se também o teor de ureídeos nos nódulos, pela técnica de hidrólise seletiva (ácida e alcalina) a glioxilato. A atividade da enzima GS apresentou diferentes respostas em relação à estirpe inoculada nos dois genótipos. No genótipo R01-581F, as plantas inoculadas com a estirpe SEMIA 587 não apresentaram diferenças significativas entre as duas condições hídricas para a atividade da enzima GS. Já nas plantas de R01-581F associadas à estirpe SEMIA 5019, houve redução de 19% na atividade da GS sob restrição hídrica, enquanto que plantas inoculadas com a estirpe SEMIA 5080 aumentaram 55% a atividade enzimática na mesma condição. No genótipo NA5858RR somente as plantas inoculadas com a estirpe SEMIA 5019 apresentaram redução de 15% da atividade da GS sob seca. O teor de ureídeos em nódulos do genótipo R01-581F aumentou na condição de seca, em relação à condição de suficiência hídrica, 276, 104 e 129% nas plantas associadas com as estirpes SEMIA 587, SEMIA 5019 e SEMIA 5080, respectivamente. No genótipo NA5858RR, o teor de ureídeos nos nódulos aumentou 19% e 51% sob seca nas plantas inoculadas com as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019, respectivamente, enquanto que as plantas associadas à estirpe SEMIA 5080 não apresentaram diferenças significativas entre as condições hídricas para essa variável. A severidade com que a FBN é afetada pode ser influenciada pela estirpe utilizada, sendo que o genótipo NA5858RR apresentou maior estabilidade quanto à atividade da enzima GS e ureídeos nos nódulos quando associado à estirpe de *B. diazoefficiens* SEMIA 5080.

Palavras-chave: *B. diazoefficiens*; Glutamina sintetase; Ureídeos em nódulos.

FOSFATASE ÁCIDA EM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO COM FORRAGEIRAS TROPICAIS SOB DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO E REGIMES LUMINOSOS

Ana Paula Zandoná, Maria Aparecida de Matos, Thainara Camila Fernandes de
Quadros, Arnaldo Colozzi Filho, Laíse da Silveira Pontes,
André Luiz Oliveira de Francisco, Giliard Stafin

IAPAR, Londrina, Paraná, Brasil, anapaulazandon@hotmail.com

A combinação da presença de árvores com o cultivo de forrageiras em solo com a aplicação de fertilizantes nitrogenados é um exemplo de sistema integrado de alto potencial. No entanto, tais componentes do sistema podem interagir entre si e exercer efeitos na atividade enzimática do solo, tais como redução na ação solubilizadora de fósforo exercida pela enzima fosfatase ácida (FA) promovida pela adubação nitrogenada. Objetivou-se avaliar a atividade da FA em áreas sombreadas e cultivadas com gramíneas e fertilizado com N mineral. O experimento foi conduzido a campo na estação experimental do IAPAR em Ponta Grossa, em Latossolo Vermelho-Escuro. Os tratamentos foram cinco espécies forrageiras (*Axonopus catharinensis*, *Urochloa brizantha* cv. Marandu, *Cynodon* spp. cv. Tifton 85, *Hemarthria altissima* cv. Flórida e *Megathyrsus maximus* cv. Aruana), em sub-bosque com *Eucalyptus dunnii* ou ao pleno sol, duas doses de N (0 e 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em arranjo fatorial (5 x 2 x 2) e três repetições. A amostragem de solo ocorreu em novembro de 2015, na profundidade de 0-20 cm, para determinação da atividade enzimática da FA no solo, segundo a metodologia de Tabatabai (1994). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e aplicou-se o teste de Tukey a 5% para separação das médias. Comparando-se as doses 0 e 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹, para a mesma espécie, não houve diferença significativa nos valores de FA. Verifica-se maior atividade FA quando submetida a adubação nitrogenada com a espécie *A. catharinensis*. A atividade da FA foi superior no solo que recebeu nitrogênio, independente da gramínea, resultando em 258,15 e 307,44 µg p-nitrofenol g⁻¹ solo h⁻¹, para a dose de 0 e 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹, respectivamente. Em relação aos ambientes, a pleno sol a atividade da FA foi significamente maior no solo cultivado com as gramíneas, Aruana, Marandu e Flórida. Altas luminosidades ativam a fosfatase no solo. A atividade da FA não diferiu em solo cultivado com as gramíneas *A. catharinensis* e *Cynodon* spp. Independente da gramínea, maior atividade da FA foi constatados a pleno sol (318,22 µg p-nitrofenol g⁻¹ solo h⁻¹) diferindo-se significativamente da condição de sombreamento. A atividade da FA para todas as gramíneas foi similar em cada ambiente e dose de N. Não houve interação entre as espécies gramíneas, doses de nitrogênio e ambiente. As gramíneas não influenciaram a atividade da FA, entretanto, condições de pleno sol e adubação nitrogenada aumentaram a atividade da enzima no solo.

Palavras-chave: Atividade enzimática; Fósforo; Gramíneas.

LA SOBREEXPRESIÓN DE SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD) CONFIERE TOLERANCIA A *M. loti* Y *S. meliloti* FRENTE A ESTRÉS OXIDATIVO

Pablo González¹, Miguel Fagiani², Ramiro Lascano³, Mariana Melchiorre¹

¹Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, Córdoba, Argentina, pabloj79@gmail.com; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; ³Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

La salinidad es uno de los factores abióticos que condicionan la fijación biológica del nitrógeno durante la simbiosis rizobio-leguminosa. En esta situación incrementan los niveles de especies activas del oxígeno activando el sistema antioxidante en los rizobios y en las plantas huésped. La enzima superóxido dismutasa (SOD), capaz de dismutar el anión superóxido a peróxido de hidrógeno es la primera línea de defensa. La hipótesis de este trabajo es que la sobreexpresión del gen *sodA* (*mlr7636*) en *M. loti* MAFF303099 y *S. meliloti* 2011 contribuye a mejorar la tolerancia a condiciones de estrés oxidativo y su comportamiento durante la interacción con *L. japonicus* y *M. sativa* respectivamente. El gen *mlr 7636* de *M. loti* MAFF303099 fue clonado en el vector pFAJ1708 bajo el promotor constitutivo *pnpII*, obteniendo el vector sobreexpresor pFAJsod con el que se transformaron *M. loti* MAFF303099 y *S. meliloti* 2011 por conjugación biparental. Frente a estrés oxidativo en vida libre, provocado por la generación de anión superóxido (hipoxantina/xantina oxidasa), o por la adición de 1 mM H₂O₂ hasta los 60 min., las cepas de *M. loti* *sod* y *S. meliloti* *sod* sobreexpresoras mostraron un marcado aumento en la tolerancia a estrés oxidativo respecto a las cepas salvajes y a las transformadas con el plásmido pFAJ1708vacío. *M. loti* *sod* sobrevivió sin cambios hasta los 30 min en presencia de .O₂ y el 90% de las UFC se recuperaron en presencia de H₂O₂, mientras la sobrevida de las no sobreexpresoras fue de alrededor del 10%. Hasta los 60 min., en presencia de .O₂ y H₂O₂, *S. meliloti* *sod* mostró una sobrevivencia de alrededor del 50%, mientras que la sobrevida de las no sobreexpresoras estuvo alrededor del 10%. La adición de catalasa a la reacción de generación de .O₂ aumentó la supervivencia de todas cepas indicando que probablemente sea el H₂O₂ producido por la dismutación del .O₂ el oxidante que más afectó a los rizobios. Los comportamientos simbióticos de las sobreexpresoras de SOD y sus controles de *M. loti* y *S. meliloti* fueron evaluados en ensayos de nodulación en pouch con sus socios específicos *L. japonicus* MG20 y *M. sativa* (cv Monarca INTA) respectivamente. En condiciones control no varió el número de nódulos inducidos por las sobreexpresoras respecto de sus controles, sin embargo, bajo 150 mM NaCl *M. loti* *sod* indujo 90% menos nódulos que las no transformadas. Del mismo modo bajo 200 mM la nodulación inducida por *S. meliloti* *sod* fue 86,5% menor que cuando se emplearon las cepas no sobreexpresoras. Nuestros resultados muestran que la sobreexpresión de SOD confiere a *M. loti* y *S. meliloti* tolerancia a estrés oxidativo en vida libre, pero impacta negativamente en el establecimiento de la simbiosis bajo estrés salino.

Palabras clave: Rizobio; Interacción; Salinidad.

PERFIL ENZIMÁTICO DE PLÂNTULAS DE TRIGO EM DIFERENTES ESTÁDIOS FENOLÓGICOS E CONDIÇÕES DE FERTILIZAÇÃO E INOCULAÇÃO

Sara Romani Ortolan¹, Amanda Kulzer², Camila Gazola Volpiano², Andressa Estevam², Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo², Marise Fonseca dos Santos², Lorrana Verdes Flores², Antonio Carlos Torres da Costa¹

¹UNIOESTE; ²UFPR, Palotina, Brasil, egvendru@gmail.com

O trigo é considerado o principal cereal da dieta da população mundial, entretanto nos últimos anos observa-se menores incrementos produtivo a despeito do aumento no uso de fertilizantes nitrogenados. O uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal, como a *Herbaspirillum seropedicae* SmRI entre outras, tem sido estudado para se obter o desenvolvimento de plantas com menor uso de fertilizantes químicos nitrogenados. Plantas podem reconhecer micro-organismos como patógenos desencadeando um estresse infeccioso modificando o metabolismo enzimático vegetal. O objetivo deste trabalho foi avaliar o metabolismo de carbono e nitrogênio através de algumas enzimas, metabólitos e índices relacionados à resposta ao estresse infecciosos em plantas de trigo cv CD120 em associação com a bactéria *H. seropedicae* em dois estádios fenológicos. Foram avaliados os níveis das enzimas Glutamina sintetase (GS) e Glutamato desidrogenase NADH (GDH NADH), isocitrato desidrogenase NADP (ICDH NADP) e fenilalanina amônia liase (FAL) em plantas de trigo coletadas aos 15 dias (perfilhamento) e 75 dias (emborrachamento). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 4 repetições constando de 4 condições de adubação/inoculação: 1-Controle (C); 2-Aplicação de fertilizante nitrogenado (50 Kg.ha⁻¹)(N); 3-Inoculação com *H. seropedicae* (106 células/semente) (Hs) e 4- Aplicação de fertilizante nitrogenado (50 Kg.ha⁻¹) e inoculação com *H. seropedicae* (106 células/semente)(N+Hs). Como resultados obtidos foram observado níveis enzimáticos distintos das enzimas nos diferentes estágio fenológicos avaliados. A GS apresentou níveis maiores pela aplicação de fertilização sendo que houve uma maior variação durante o perfilhamento. A GDH NADH apresentou níveis reduzidos nos tratamentos com aplicação da adubação e/ou inoculação. A ICDH-NADP apresentou também uma maior redução nos níveis pela aplicação da adubação e/ou inoculação, porém apresentou níveis maiores durante o emborrachamento quando tanto a ureia e a bactéria estavam presentes. Para a FAL os níveis foram mais alterados durante o emborrachamento e especificamente pela presença da bactéria. Pelos níveis enzimáticos, a inoculação aparentemente reduziu o estresse biótico, havendo mitigação deste efeito principalmente na fase de emborrachamento demonstrando uma associação benéfica entre planta e bactéria.

Palavras-chave: Bactéria promotora de crescimento; *Triticum aestivum*; Sistema antioxidante.

POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO ISOLADAS DE NÓDULOS DE FEIJOEIRO

Nahyara Fernanda Pereira Cezário, Kelly Campos Guerra Pinheiro de Goes,
Maria Aparecida de Matos, Diva de Souza Andrade

IAPAR, Londrina, Paraná, Brasil, naycezario@gmail.com

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta grande importância social e econômica no Brasil. Bactérias diazotróficas do solo estabelecem simbiose para esta cultura, resultando na formação de nódulos radiculares onde ocorre a fixação biológica do N_2 (FBN). A FBN é um processo bioquímico de conversão do N_2 em amônia e quando realizado por estirpes do gênero rizóbio eficientes permite reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados e com isso os custos de produção dessa cultura. Além da FBN, os rizóbios podem solubilizar fosfato de cálcio, produzir enzimas hidrolíticas, fitohormônios de crescimento vegetal entre outros. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de solubilização de fosfato de 52 bactérias isoladas de nódulos de feijoeiro de solo ácido. As bactérias foram isoladas de raízes de feijoeiro provenientes de um solo ácido com baixo teor de fósforo com e sem calagem e fósforo em ensaio conduzido na estação experimental do IAPAR. Essas estirpes estão depositadas na Coleção (IPR) de Micro-organismos de Interesse do Agronegócio do Laboratório de Microbiologia do Solo do IAPAR, Londrina/PR. A inoculação foi realizada em sementes de feijão em vasos Leonard, como controles positivos foram inoculados as estirpes SEMIA-4077, -4080 e -4088. Quando a nodulação foi positiva os teores de nitrogênio e a massa seca da parte aérea do feijoeiro foram avaliados. A formação de um halo claro em torno das colônias foi indicador de solubilização de fosfato. O índice de solubilização (IS) foi determinado pela relação: $IS = \frac{\text{Diâmetro do halo de solubilização}}{\text{Diâmetro da colônia da bactéria}}$. Os resultados preliminares dos teores de N total e matéria seca da parte aérea das plantas do feijoeiro demonstraram que as inoculações das estirpes IPRs 1514, 1516, 1521, 1524 e 1539 resultaram em 7,07 à 44,35 mg de N planta⁻¹. Os índices de solubilização de fosfato de cálcio variaram entre 1,3 à 7,0, sendo os maiores valores foram observados para as estirpes isoladas do solo sem calagem e dose baixa de P (1521, 1528, 1529, 1530, 1531, 1539, 1544), a IPR1518 (dose adequada de P) e as IPR 1526, 1548 e 1551 (com calagem). O fósforo é um elemento essencial para o desenvolvimento dos vegetais, em ambientes com baixos teores de fósforo a solubilização pelos microrganismos afetam positivamente a disponibilidade de P para as plantas. A produção de compostos indólicos foi observada em 30 isolados, com taxas variando entre 1,04 a 51,60 $\mu\text{M mL}^{-1}$ de AIA, sendo a maior produção de AIA apresentada pelo isolado IPR-1551. Nesse estudo, três estirpes (IPR1526, -1539 e -1560) se destacaram com potencial para uso inoculante, devido a produção de compostos de interesse biotecnológico e o potencial para disponibilizar o fosfato no solo.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Fixação biológica nitrogênio; Bactérias diazotróficas.

REACCIONES OXIDATIVAS DE LA BIOSÍNTESIS DE GIBERELINAS EN BACTEROIDES DE *Rhizobium etli* Y DE *Rhizobium phaseoli*

Mariana Montanares, Nathalie Fleiderman, Cecilia Baginsky, María Cecilia Rojas

Universidad de Chile, Santiago, Chile, mariana.montanares@gmail.com

La biosíntesis de fitohormonas diterpénicas (giberelinas) ha sido estudiada en detalle a nivel de las enzimas, genes y reacciones químicas tanto en sistemas vegetales como fúngicos, sin embargo hay escasa información para sistemas bacterianos. En nuestro grupo de investigación hemos demostrado que los bacteroides simbióticos de *Bradyrhizobium japonicum* presentan una alta actividad de oxidasas de giberelinas, enzimas que catalizan reacciones de oxidación secuenciales sobre el esqueleto carbonado del precursor *ent*-kaureno para formar el producto final GA₉. Este producto corresponde a una giberelina de 19 carbonos no hidroxilada, precursora de las giberelinas activas como fitohormonas, que sería sintetizada por la bacteria como parte de la interacción simbiótica con la planta. En este trabajo investigamos en dos especies de *Rhizobium* (*R. etli* y *R. phaseoli*) la capacidad de sintetizar giberelinas, a través de la determinación de la actividad de oxidasas en bacteroides simbióticos. Los bacteroides se aislaron desde nódulos radiculares de plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con cepas específicas y crecidas bajo condiciones controladas de laboratorio. Los bacteroides aislados se incubaron con dos precursores de giberelinas marcados con ¹⁴C: ácido *ent*-¹⁴C-kaurenoico y ¹⁴C-GA₁₂, y los productos de metabolización se aislaron y purificaron mediante partición líquido-líquido, cromatografía en fase sólida y cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (columna C18). Ambos precursores fueron transformados por los bacteroides en productos más oxidados, correspondientes a intermediarios de la biosíntesis de GA₉ y que no contienen hidroxilaciones en las posiciones 3 o 13 a diferencia de los intermediarios de plantas. La actividad de oxidasas de giberelinas se encontró, para todas las cepas ensayadas, en bacteroides simbióticos obtenidos de nódulos de plantas en floración. Los resultados sugieren que tanto *R. etli* como *R. phaseoli* presentarían la capacidad de sintetizar giberelinas durante la simbiosis con *P. vulgaris*. Apoyo financiero: Proyecto Fondecyt 1150797

Palabras clave: Fitohormonas; Bacteroides; Simbiosis.

RESPUESTA DE *Trifolium repens* INOCULADO CON RIZOBIOS PSYCHROFÍLICOS Y MESOFÍLICOS BAJO RESTRICCIONES TÉRMICAS

Mayo Juan Pablo¹, Daniela Gomez², Daniel Collino², Mariana Melchiorre²

¹Universidad Nacional Patagonia, Argentina; ²Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, Córdoba, Argentina, melchiorre.mariana@inta.gob.ar

Trifolium repens L. (trébol blanco) es una forrajera naturalizada en el Bosque Andino Patagónico de Argentina, con capacidad de asociarse en simbiosis con *Rhizobium leguminosarum* y de gran valor económico y ambiental. Mediante análisis de polimorfismos de BOX PCR, se seleccionaron aislamientos, a partir de muestras de nódulos de trébol de las localidades de Cancha Carrera (CC) (LS 51°24'13"10" LO 72°15'34") y Punta Gruesa (PG) (LS 51°33'10"; LO 72°07'35") que presentaron las mayores distancias según UPGMA y se los estudió en comparación con dos aislamientos mesofílicos de *R. leguminosarum* A70 y A73 del banco del IMYZA INTA. Con el objetivo de validar que cuando existen limitantes térmicas en el sistema planta-simbionte, los rizobios psychrofílicos (aislamientos patagónicos), poseen mayor capacidad que los rizobios mesofílicos para establecer simbiosis efectiva y eficiente y potenciar de trébol, se estableció un ensayo en condiciones controladas. Se evaluó la capacidad de los aislamientos de crecer en medio de cultivo LMA a 8°C y 28°C y establecer simbiosis con *T. repens* a 8°C y 25°C de temperatura de cultivo. La producción de biomasa aérea fue significativamente mayor cuando las plantas crecieron a 25°C respecto de 8°C y se inocularon con aislamientos cultivados a 28°C, sin diferencia entre ellos. La biomasa aérea y radicular de plantas cultivadas a 8°C inoculados con PG12 y CC4 y CC5 crecidos a 28°C (temperaturas óptimas), mostraron los mejores resultados aunque sin diferencias significativas entre aislamientos. En iguales condiciones, (plantas 8°C inóculos 28°C) el número de nódulos y la biomasa nodular fue significativamente mayor cuando se emplearon aislamientos psicrofílicos. Respecto de parámetros fisiológicos, como contenido de clorofilas, y antioxidantes no enzimáticos (FRAP) en el sistema en que los simbiontes crecieron a 28°C y las plantas se mantuvieron a 8°C los valores más altos de clorofilas y FRAP se obtuvieron con inóculos CC5 y CC4 respectivamente, aunque en estas mismas condiciones los valores de lípidos peroxidados (MDA) también fueron significativamente mayores. Este trabajo muestra que la inoculación con aislamientos específicos de las regiones con limitaciones térmicas han promovido mejor desarrollo de biomasa aérea y radicular de trébol, biomasa nodular y mejor comportamiento de variables fisiológicas clásicas en condiciones de estrés por frío respecto de los mesofílicos que potencialmente pudieran emplearse como inoculantes para esta pastura naturalizada en la Patagonia Argentina. Los datos de N derivado de la FBN están siendo analizados.

Palabras clave: *Rhizobium leguminosarum*; Baja temperatura; Biomasa.

SESSÃO PÔSTER IV

INTERAÇÕES ASSOCIATIVAS E ENDOFÍTICAS PLANTA/ RIZOBACTÉRIAS

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DE MILHO COM AÇÃO PROMOTORA DE CRESCIMENTO VEGETAL PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES

Lygia V. G. Terasawa¹, Mariangela Hungria², Ângela C. Ikeda¹,
C. Glienke¹, Vanessa Kava¹, B. Gomes¹

¹UFPR, Curitiba, Brasil, lgterasawa@gmail.com; ²Embrapa Soja

Foi estabelecida uma coleção de bactérias endofíticas colonizadoras de raiz de milho no Laboratório de Genética de Microrganismos da UFPR, Brasil. Sua composição final foi de 165 isolados e o objetivo foi identificá-los filogeneticamente ao nível de gênero e bioprospectar a presença de fixadores de nitrogênio e promotores de crescimento vegetal (PGPB). A metodologia incluiu testes de produção das enzimas amilase, celulase, pectinase, quitinase, urease, detecção de atividade esterásica e proteolítica, produção de ácido indol acético (AIA), presença de sideróforos, solubilização de fosfato, fixação biológica de nitrogênio (FBN) e presença do gene nifH, além de testes in vivo para os isolados mais promissores em genótipos de milho. O critério de avaliação contou com um “screening” inicial baseado na variável indicadora de promoção de crescimento, avaliada pelos testes de sideróforos e solubilização de fosfatos, no qual foram selecionados 93 isolados cujos resultados foram positivos para ambos os testes. Estes foram submetidos aos testes de FBN e produção de AIA, que permitiram a composição final de 12 isolados. Eles foram então submetidos aos demais testes de PGPB e à classificação de gênero por análise do gene codificador da subunidade 16S do rRNA. Este mesmo grupo foi direcionado para avaliação de desempenho em casa de vegetação, utilizando vasos de Leonard e delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. A inoculação das bactérias foi feita em duas variedades de milho. Foram usadas testemunhas sem nitrogênio, com adubação nitrogenada e o inoculante comercial contendo a estirpe Ab-V05. As médias dos tratamentos foram submetidas ao teste Tukey (0,05). Os parâmetros estimados foram: número de folhas, diâmetro de colmo (mm), altura até o último nó (cm), área foliar (cm²), comprimento (cm) e volume radicular (cm³), massa da raiz e da folha secas, nitrogênio e fósforo total das folhas (mg/g). Os resultados demonstraram variação significativa dos isolados quando comparados à testemunha nitrogenada e ao inoculante comercial. Destacou-se o isolado LGMB125 com 20,76 mg/g de nitrogênio nas folhas secas, estatisticamente superior ao inoculante comercial que apresentou 15,32 mg/g nestas condições experimentais. Isso representou um ganho superior a 30% na taxa de crescimento das plantas de milho. A seleção de bactérias capazes de colonizar raízes de milho de forma endofítica refletiu alto potencial de promoção de crescimento vegetal, com perspectivas reais de obtenção de produtos biotecnológicos comerciais, além da possibilidade de identificar outros isolados favoráveis presentes nesta coleção.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Produtos biotecnológicos; Bactérias endofíticas.

CHARACTERIZATION OF INDIGENOUS RHIZOBIA ISOLATED FROM SOYBEAN [*Glycine max* (L.) Merrill] GROWN IN MOZAMBIQUE

Amaral Machaculeha Chibeba¹, Maria de Fátima Guimarães¹,
Marco Antonio Nogueira², Steve K. Boahen³, Mariangela Hungria²

¹UEL, Londrina, Brazil, amaral_chibeba@yahoo.com; ²Embrapa Soja;

³International Institute of Tropical Agriculture

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] inoculation with effective rhizobia strains makes unnecessary the use of nitrogen fertilizers in the tropics. However, a frequently reported problem is the failure of the inoculant strain to overcome the competition imposed by indigenous rhizobial populations. The screening among native rhizobia for highly effective strains, already adapted to local conditions for use in inoculant formulations, is a promising strategy in overcoming inoculation failure. Therefore, the objective of this study was to characterize indigenous rhizobia and to identify strains that hold potential to be included in inoculant formulations for soybean production in Mozambican agroclimatic conditions, for both promiscuous and restricted soybean genotypes. A total of 105 isolates of indigenous rhizobia obtained from promiscuous soybean grown in Manica, Nampula, Tete, and Zambézia provinces, representing the major soybean production region in Mozambique, were screened under greenhouse conditions for N₂-fixation in Brazil. Eighty-seven isolates that formed nodules were genetically characterized by rep-PCR (BOX) fingerprintings and DNA sequencing of the 16S rRNA gene. Another greenhouse trial with the 13 most symbiotically effective isolates, selected from nine different phylogenetic clusters, inoculated on two promiscuous (TGx 1963-3F and TGx 1845-10E) and one restricted (BRS 284) soybean varieties, was conducted. Phenotypic characterization of the 13 isolates was also carried out including tolerance to acidity and alkalinity (pH, 3.5 and 9.0, respectively), salinity (0.1, 0.3 and 0.5 M of NaCl) and high temperatures (35, 40 and 45 °C), comparing optical densities of rhizobia grown under normal conditions with those grown under stress. Great variability in response to stressing conditions was observed. Isolates also exhibited high phylogenetic and symbiotic variability. Overall, the inoculation with indigenous rhizobia was more favourable to the promiscuous varieties than to the restricted one. Five representative isolates consistently showed high N₂-fixation efficiency, suggesting that the inoculation of soybean with indigenous rhizobia adapted to local conditions is a possible strategy for soybean production in Mozambique.

Keywords: *Symbiotic Nitrogen Fixation; Promiscuous varieties; 16S rRNA.*

CO-INOCULATION OF *Bradyrhizobium* sp. AND *Bacillus* sp. ON PEANUT: EFFECT ON THEIR PLANT GROWTH-PROMOTING ACTIVITIES

María Soledad Figueredo, María Laura Tonelli, Fernando Ibañez, Adriana Fabra

Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto,
Argentina, mfigueredo@exa.unrc.edu.ar

The combined inoculation of bacteria able to promote plant growth by different mechanisms constitutes an alternative or complement to the use of agrochemicals. Previous studies in our laboratory demonstrated that the native strain *Bacillus* sp. CHEP5 induces systemic resistance (ISR) on peanut plants protecting against the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. Peanut plants also interact with *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144, establishing a nitrogen fixing symbiotic association. The aim of this work was to evaluate the effect of simultaneous inoculation of both beneficial microorganisms and the fungal pathogen on the plant responses that are triggered in the individual interaction with each of them. The plantlet's radicles were inoculated with pure or mixed bacterial cultures and after 7 days the shoots were challenged with *S. rolfsii*. At 40 days post-bacterial inoculation, disease incidence (DI) was recorded and plants were harvested to determine nodule number (NN) and their dry weight (NDW), total chlorophyll content (TCC) and shoot (SDW) and root (RDW) dry weight. In plants inoculated with both bacteria, in absence of the pathogen, the NN formed didn't differ from that of plants inoculated only with the rhizobial strain. Furthermore, the NDW and SDW of plants co-inoculated were significantly higher than control plants inoculated only with SEMIA6144. These results suggest that CHEP5 positively affects SEMIA6144 symbiotic phenotype. As it was expected, in plants inoculated with SEMIA6144 and challenged with the phytopathogen, NN y NDW decreased drastically. However, when plants were inoculated with both bacteria (SEMIA 6144 and CHEP5) these parameters increased significantly. These results indicate that CHEP5 contributes to a partial reversion of the phytopathogen harmful effects. On the other hand, DI, TCC, SDW and RDW of plants co-inoculated didn't differ from those of plants inoculated only with CHEP5, suggesting that SEMIA6144 doesn't affect the capacity of CHEP5 to induce systemic resistance against *S. rolfsii*. Moreover, in plants inoculated only with SEMIA6144 the DI was lower and the TCC, SDW and RDW were higher than plants treated only with *S. rolfsii*, suggesting that SEMIA6144 is also able to protect peanut plants against phytopathogen through ISR. Plants inoculated with a SEMIA6144 derivative mutant (V2) unable to produce Nod factors showed higher DI than plants inoculated with wild type strain. These results suggest that Nod factors are required for ISR induced by SEMIA6144, contributing to protect peanut plants against *S. rolfsii*. This work was supported by SECyT-UNRC, CONICET, ANPCyT

Keywords: *Arachis hypogaea*; Biocontrol; Nodulation.

ECOPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF MAIZE PLANTS INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense* AND MYCORRHIZAL FUNGI SUBJECTED TO DROUGHT

Mateus Henrique Fávaro, André Luiz Martinez de Oliveira, Halley Caixeta Oliveira, Karina Maria Lima Milani, Anderson Kikuchi Calzavara, Mariana Fernandes Hertel, Angélica Nunes Tiepo, Edmilson Bianchini, José Antonio Pimenta, Renata Stolf Moreira

UEL, Londrina, Brazil, stolfrenata@gmail.com

Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) can stimulate the growth of plants and increase productivity. The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are required symbionts that colonize roots and can increase both the volume of soil explored by the roots and the nutrient absorption. In addition, they can provide increased tolerance to drought. The aim of this study was to perform an ecophysiological analysis of maize plants subjected to 30 days of water deficit when interacting with the PGPB *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and AMF. Maize seeds (DKB290 – Monsanto) were inoculated with Ab-V5, AMF or Ab-V5+AMF and cultivated in pots containing substrate kept at 30% gravimetric moisture (moderate water stress) in greenhouse conditions. The Ab-V5 inoculant was prepared by the Research Group for Development and Application of Biofertilizers - UEL, and the AMF pool was provided by the International Collection of Glomeromycota Cultures (CICG - FURB). After 30 days of water deficit, the relative water content was higher in leaves of plants inoculated with Ab-V5+AMF or AMF than in non-inoculated plants, suggesting that AMF inoculation provided greater tolerance against water stress in maize although CO₂ assimilation was lower in plants inoculated with AMF. During water stress, Ab-V5+AMF-inoculated plants showed higher shoot and root dry weight, while stomatal conductance and intrinsic water use efficiency were higher in all treatments during the water stress when compared to non-inoculated plants. The maximum quantum yield and electron transport rate of the photosystem II were also higher for Ab-V5+AMF suggesting a protective mechanism against PSII damage induced by mixed inoculation. This evidence is corroborated by the low values of lipid peroxidation and hydrogen peroxide content in leaves of the Ab-V5+AMF treatment, especially when compared to the treatment with AMF alone. Moreover, an increased leaf nitrate reductase activity was observed in plants under Ab-V5 and Ab-V5+AMF treatments, suggesting that the presence of bacteria potentialized not only the plant protection against stress, but also increased the assimilation of nitrate. A better understanding of the plant physiological responses to plant-microbe interactions will be crucial to provide the basis to develop better management practices and expand the knowledge of inoculation technology with associative microorganisms, for a best use of this biotechnology to increase crop productivity and tolerance to drought.

Keywords: Nitrogen; Plant Growth Promoting Bacteria; Water stress.

EFEITO DA INOCULAÇÃO E DO NITROGÊNIO NA DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS CULTIVÁVEIS DA RAIZ E DA RIZOSFERA DO TRIGO

Kamylla Ramirez Fidelis, Erick Parize, Vanilda Mroginski de Souza, Leticia Reis, Daiane Barreto, Helio Antonio Wood Joris, Ângelo Rafael Bini, Eduardo Favero Caires, Rafael Mazer Etto, Carolina Weigert Galvão

UEPG, Ponta Grossa, Brasil, Kamyllaramirez@hotmail.com

Devido ao crescimento da população mundial há um constante avanço da demanda de alimentos. Para suprir tal necessidade, a produção agrícola tem utilizado mais fertilizantes químicos, elevando assim o custo de produção e aumentando os danos ambientais. Uma alternativa para reduzir o uso de agroquímicos e o impacto ambiental seria a utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) como inoculantes. Esses microrganismos estabelecem relações benéficas com a planta hospedeira realizando atividades como a fixação biológica do nitrogênio, síntese de fitormônios entre outras. A planta, por sua vez, em conjunto com as condições de cultivo, tem significativo efeito sobre a comunidade bacteriana associada. Nesse trabalho, foi avaliada a produtividade do trigo TBIO Iguaçu cultivado em campo em blocos aleatórios na presença ou ausência do inoculante *Azospirillum brasilense* Abv5/Abv6 sob quatro condições de nitrogênio (N): 0, 40, 80 e 120 kg/ha e ainda foi quantificada a população de bactérias diazotróficas endofíticas e rizosféricas associadas ao trigo após 56 dias de crescimento. Além da baixa produtividade do trigo, que variou de 1.100 e 1.800 kg/ha, não foi possível observar resposta quanto ao nitrogênio aplicado. Esse resultado é consequência da ocorrência de doenças ao longo do cultivo. A contagem das bactérias diazotróficas pelo método do número mais provável (NMP) em meio JNFb, NFB, JMV e LGI semissólido livre de nitrogênio indicou a presença de $5,4 \times 10^4$ células/g de raiz e $3,2 \times 10^5$ células/g de solo, respectivamente. Análise de variância dos dados transformados (LOG+1) mostrou que a população de rizobactérias diazotróficas foi significativamente maior que a população de bactérias endofíticas fixadoras de nitrogênio no trigo (Tukey, $p < 0,01$). Tanto a inoculação quanto as diferentes doses de nitrogênio não influenciaram significativamente os valores de NMP. Apesar de esses resultados sugerirem uma comunidade bacteriana semelhante nas várias condições testadas, estão sendo conduzidos experimentos de isolamento, caracterização bioquímica e identificação taxonômica para assim determinar a diversidade genética e funcional das bactérias diazotróficas cultiváveis nos diferentes tratamentos.

Palavras-chave: Bactérias promotoras do crescimento vegetal; Inoculante; Número mais provável.

EFEITO DA INTRODUÇÃO DE *Bacillus* sp. NA COMUNIDADE MICROBIANA DA RIZOSFERA E RAIZ DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas*)

Jackeline Rossetti Mateus de Lacerda¹, Joana Montezano Marques¹,
Renata Estebanez Vollú¹, Thais Freitas da Silva¹, Pamella Macedo de Souza¹,
Fátima Regina de Vasconcelos Goulart¹, Celuta Sales Alviano¹,
Marcia Reed Rodrigues Coelho², Lucy Seldin¹

¹IMPG, Rio de Janeiro, Brasil, revollu@micro.ufrj.br, ²Embrapa Agrobiologia

A batata-doce (*Ipomoea batatas*) é uma planta da família Convolvulacea que apresenta raízes de reserva (ou tuberosas) e de absorção. No Brasil, a batata-doce tem grande importância social, sendo considerada uma cultura de subsistência. Porém, a cultura é suscetível a diversas doenças. Dentre essas, a doença conhecida popularmente como mal do pé da batata-doce vem se destacando na região nordeste. Essa doença é causada pelo fungo fitopatogênico *Plenodomus destruens* e pode levar à perda total da produção. Espécies do gênero *Bacillus* vêm sendo empregadas na agricultura como biocontrole e para promover o crescimento das plantas. Diante da importância da cultura de batata-doce e da necessidade de combater doenças que afetem seu cultivo, esse trabalho propôs a seleção de estirpes de *Bacillus* sp. produtoras de substâncias antimicrobianas (SAMs) com atividade antifúngica. Para isso, dez estirpes de *Bacillus* sp. previamente isoladas do interior de raízes tuberosas de batata-doce foram selecionadas (testes *in vitro*) por sua capacidade de inibir *P. destruens*. As duas estirpes com a melhor capacidade inibitória (T149-19 e T052-76) foram testadas contra outros fungos e caracterizadas fenotipicamente por meio de curvas de crescimento, perfil de sensibilidade a antimicrobianos e perfil de utilização de carboidratos. Foram realizados também experimentos em vasos contendo mudas de batata-doce onde foram avaliados a capacidade das duas estirpes em permanecer por até 90 dias nos vasos e os efeitos dessa introdução sobre a comunidade microbiana, através de eletroforese em gel com gradiente desnaturante. Para facilitar a recuperação das bactérias inoculadas nos vasos, foram selecionadas mutantes resistentes à rifampicina (Rif^R). As duas estirpes foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados e apresentaram um amplo espectro de utilização de carboidratos. As bactérias foram recuperadas da rizosfera, mostrando que podem permanecer em contato com a planta por até 90 dias. Esses resultados indicam o potencial das estirpes T149-19 e T052-76 para o biocontrole de patógenos na cultura da batata-doce. Além disso, as análises moleculares mostraram que as comunidades microbianas variaram ao longo do tempo do experimento e que estas não sofreram influência significativa da inoculação, em separado, de ambas as estirpes de *Bacillus* sp.

Palavras-chave: Rizobactérias promotoras do crescimento da planta (PGPR); Substâncias antimicrobianas; Biocontrole.

ESTRATÉGIA PARA DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTE PARA CANA-DE-AÇÚCAR: UMA ABORDAGEM SEQUENCIAL

Karina Maria Lima Milani¹, Douglas Rocha Noguero¹,
Maria Teresa de Paula¹, Monica Alzate², André Luiz Martinez de Oliveira¹

¹UEL, Londrina, Brasil, *milanibio@gmail.com*; ²UEL/Total Biotecnologia

A contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cana-de-açúcar é bem documentada, bem como a identificação de bactérias capazes de promover incrementos sobre seu desenvolvimento e produtividade, entretanto não existem inoculantes comerciais registrados para esta cultura. Neste sentido, este trabalho apresenta uma estratégia para identificar bactérias promotoras do crescimento vegetal candidatas ao desenvolvimento de formulações inoculantes, utilizando plantas de sorgo como indicadoras de eficiência associativa à cana-de-açúcar. Com base em uma coleção de isolados obtidos de diferentes genótipos de cana-de-açúcar, foram primeiramente selecionadas 32 bactérias (de um total de 69 isolados) com base no sequenciamento parcial do gene 16S RNAr, excluindo-se os isolados identificados como pertencentes a grupos taxonômicos com histórico de patogenicidade. Estes isolados foram utilizados para a inoculação de duas linhagens de sorgo (PODIUM e SHS 410), uma espécie vegetal filogeneticamente próxima à cana-de-açúcar, com ciclo de vida mais curto e que se reproduz comercialmente por sementes, diferentemente da cana cuja reprodução comercial é majoritariamente vegetativa. As sementes inoculadas foram mantidas em câmara de germinação a 28°C, com fotoperíodo de 16 h e 8 h durante sete dias. Foram realizadas as seguintes avaliações biométricas das raízes: diâmetro, profundidade, comprimento de rede de profundidade, número máximo, área, perímetro, comprimento específico (CRE), área superficial (ASR), comprimento médio (CMR), volume médio, e massa seca. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste F, seguida do teste Scott-Knott para comparação de médias ($p \leq 0,05$) empregando-se o programa R. Os resultados obtidos sugerem que existe interação dependente da linhagem de sorgo testada. A bactéria IPRG 142 (*Rhizobium*) apresentou maior eficiência para a linhagem de sorgo PODIUM, proporcionando um aumento significativo de 62%, 48%, e 33%, sobre o CMR, CRE e ASR, respectivamente, comparado ao controle não inoculado. Na linhagem de Sorgo SHS 410, as bactérias IPRA 120, IPRA 121 e IPRA 128, todas do gênero *Pseudomonas*, se destacaram apresentando incremento significativo no desenvolvimento das raízes comparado com o controle (60%, 53%, 59% no CMR; 63%, 50%, 68% para ASR, respectivamente). Considerando os resultados de inoculação sobre ambas as linhagens de sorgo, foram selecionadas 13 bactérias promissoras para atuar na promoção de crescimento vegetal que estão sendo avaliadas em um ensaio de inoculação sobre diferentes genótipos de cana-de-açúcar, em casa-de-vegetação.

Palavras-chave: Rhizobium; Pseudomonas; Sorgo.

INDOLEACETIC ACID PRODUCING RHIZOBACTERIA IMPROVE BOTH, GROWTH AND PHYSIOLOGY, OF THE HALOPHYTIC *Arthrocnemum macrostachyum*

J. M. Barcia-Piedras¹, María Camacho¹, E. Mateos-Naranjo², G. Puglielli³,
R. Parra², I. Rodriguez-Llorente², S. Redondo-Gómez²

¹Centre IFAPA Las Torres-Tomejil, Alcalá del Río (Sevilla), Spain, *bapi@us.es*;

²University of Seville; ³Sapienza University of Rome, Italy

Related with the climate change, one of the most important processes is desertification and among the factors related with this problem the most important one is the productivity decrease in soils due to salt accumulation. On the other hand, there are plant species inhabiting natural salt marshes which need salt for a better development, called halophytes. One of these halophytes is *Arthrocnemum macrostachyum*, a perennial plant able to accumulate salt so that it could be used for restoration of fields affected by an excess of salinity. After the characterization of the *Arthrocnemum*'s rhizosphere, those bacteria producing the plant hormone indoleacetic acid (IAA) will be used to improve the plant development. The ability to produce IAA by strains was quantified using the Salkowski's reagent. Germinated seeds were placed in seedbeds in a greenhouse, and they were inoculated once a week for two months. After 60 days, several plant parameters were evaluated (length and diameter). After that, plants were transplanted into Leonard's jars and were inoculated once every fortnight during the next two months. Plants were watered, when necessary, with Rigaud and Puppo nutrient solution 0,5X. The responses of plants were examined using classical growth analysis methods and by measurements of gas exchange (infrared gas analysis). After two months of growth, differences were found in the length of four of the inoculated treatments which ranged from 6%, strain Hv79 to 36%, and strain Hv16 above the control plants. Regarding the stem diameter, 4 of the treatments were at least 10% thicker than the control being strain C58 the best inoculant. At the end of the experiment, plants inoculated with strain Hv16 reached 2'18 times more aerial dry biomass than the control, and 3'8 times more root dry weight; the other strains, except Hv79, remained greater than the uninoculated control. In relation to the water status, plants inoculated with strains Hv16 and RTE9 possessed 2'5 and 1'9 respectively more water than the control. All these biometrics are reflections of the photosynthetic physiology of plants, in which treatments Hv16, C58 and RTE9 showed a rate of photosynthetic fixation between 2 and 1'4 greater than the uninoculated ones. At the same time stomatal conductance (Gs) was between twice and three times greater than the control, in the same bacterial treatments, and also there was an accumulation of intracellular CO₂ 1'49 times more in all strains less Hv79. Strains Hv16, C58 and RTE9 could be used to inoculate *A. macrostachyum* for its better development in phytoremediation processes. This work was supported by INIA Project RTA-2012-00006 co-funded by FEDER.

Keywords: PGPR; IAA; photosynthesis.

INFLUENCIA DE LA CO-INOCULACIÓN BRADIRIZOBIOS-*Delftia* SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE SOJA

Célica Cagide, Susana Castro Sowinski, María A. Morel

Microbiología Molecular, Instituto de Investigación,
Montevideo, Uruguay, celicacagide@gmail.com

La co-inoculación de leguminosas es una alternativa sencilla y eficaz que induce a una mayor nodulación y desarrollo radicular, con el consiguiente aumento en el rendimiento de cosecha, cuando se lo compara con la inoculación simple. Un ejemplo de esta práctica es la co-inoculación de alfalfa con *Sinorhizobium meliloti* y *Delftia* sp. JD2, que aumenta el exudado radicular de flavonoides y aporta auxinas al cultivo, promoviendo una mayor nodulación y crecimiento radicular de las plantas en etapas tempranas, así como un mayor rendimiento vegetal del cultivo. En este trabajo se plantea evaluar la respuesta del cultivo de soja (*Glycine max.*) a la co-inoculación bajo condiciones de invernáculo. Las semillas se inocularon y co-inocularon con *Bradyrhizobium elkanii* (U-1301 y U-1302) y/o *Delftia* sp. JD2, al momento de la siembra en macetas. Para todos los tratamientos se cosecharon 10 plantas al azar, en tres estadíos de crecimiento: cuarto nudo (V4), floración completa (R2) y madurez completa (R8). Para plantas en estadío V4 y R2 se determinó el número y peso seco de nódulos de raíces principales y secundarias, el contenido en pigmentos fotosintéticos y el peso seco de raíces y parte aérea. En estadío R8 se evaluó el número de chauchas, número de granos por chaucha y el índice de cosecha. Los resultados indicaron que la co-inoculación de las semillas de soja incrementó en promedio 80 y 18% la biomasa seca radicular y aérea, respectivamente, en el estadío V4, en relación a las plantas inoculadas con bradirizobios, aunque se encontraron diferencias estadísticas considerables solo en la primera variable. Además, se detectaron nódulos solo en las raíces secundarias de plantas co-inoculadas, sugiriendo una nodulación temprana para estas plantas. En estadío R2, la co-inoculación marcó un incremento en el promedio de biomasa aérea, que se acompañó de un aumento en el contenido de pigmentos fotosintéticos, y un incremento en el peso seco de nódulos, tanto de raíces secundarias como principales. Las plantas llegaron a madurez completa a los 180 días de crecimiento en invernáculo. En este estadío, las plantas co-inoculadas presentaron el mayor promedio de rendimiento en grano. En conjunto, la nodulación temprana y mayor desarrollo radicular, el mayor peso de los nódulos y contenido de pigmentos (Estadío R2), y el incremento en rendimiento en granos en plantas co-inoculadas, comparado con las plantas con inoculación simple con los bradirizobios, sugieren un efecto positivo de la co-inoculación sobre el establecimiento de soja. Apoyo financiero: ANII (POS_NAC_2014_1_102269) y PEDECIBA.

Palabras clave: Co-inoculante; Biofertilización; *Glycine max.*

MORPHO-PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF PIONEER TREE SPECIES ASSOCIATED TO PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA UNDER WATER DEFICIT

Angélica Nunes Tiepo, José Antonio Pimenta, Mariana Fernandes Hertel,
Anderson Kikuchi Calzavara, André Luiz Martinez de Oliveira,
Halley Caixeta Oliveira, Karina Maria Lima Milani, Edmilson Bianchini,
Alba Lúcia Cavalheiro, Renata Stolf Moreira

UEL, Londrina, Brazil, mari.hertel@gmail.com

Reforestation is a current need in tropical ecosystems and, in order to obtain success, seedlings should tolerate several stresses. Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) can contribute with plant tolerance to abiotic stresses. During water stress PGPB can increase plant water absorption, gas exchange, and growth. The aim of this study was to evaluate ecophysiological responses of a neotropical pioneer species (*Trema micrantha*) inoculated with four PGPB strains and submitted to water stress for 30 days. *T. micrantha* seeds were inoculated with *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), *Methylobacterium komagatae* (ZM), *Azomonas* sp. and *Azorhizopillus* sp. and cultivated in pots containing soil kept 14% gravimetric moisture (moderate water stress) or at field capacity in greenhouse condition. The PGPB inoculants were prepared by the Research Group for Development and Application of Biofertilizers – UEL. Seedlings submitted to water stress and inoculated with all the PGPB strains presented lower CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration; but these plants had higher water use efficiency. However, the internal CO₂ concentration wasn't different between field capacity and water stress when inoculated with ZM. The carboxylation efficiency didn't differ among control and water stress seedlings inoculated with Ab-V5, indicating that this association may enhance carboxylation rates when plants are under moderate water stress. The root nitrate reductase activity was higher in plants inoculated with *Azorhizopillus* sp. in both treatments, indicating that this PGPB strain enhanced the assimilation of nitrate. Seedlings under stress inoculated with ZM had lower root:shoot length ratio; while the root:shoot dry mass ratio was higher in seedlings inoculated with *Azorhizopillus* sp. and smaller in those with Ab-V5 and ZM under water stress. The PGPB strains altered morphological and physiological characteristics of *T. micrantha* seedlings, however some of them stimulated responses that suggest better performance of these plants when submitted to abiotic stresses such as moderate water stress.

Keywords: *Reforestation; Trema micrantha; Water stress.*

PHYSIOLOGY AND DEVELOPMENT OF A TREE SPECIES UNDER INOCULATION WITH *Methylobacterium komagatae* AND *Azospirillum brasilense*

Anderson Kikuchi Calzavara, Renata Stolf Moreira, Mariana Fernandes Hertel, Tatiane Viegas Debiasi, Karina Maria Lima Milani, Alba Lúcia Cavaleiro, André Luiz Martinez de Oliveira, Halley Caixeta Oliveira, Edmilson Bianchini, José Antonio Pimenta

UEL, Londrina, Brazil, anderson.calzavara@hotmail.com

The inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on seedlings of neotropical tree species emerges as a viable alternative to be employed in reforestation programs, due to the several benefits that these microorganisms may provide to plants and to the difficulty of establishment of seedlings after planting in the field, especially in nutrient-poor soils. This study aimed to evaluate the effect of the inoculation of two strains of PGPB (*Methylobacterium komagatae* ZM and *Azospirillum brasilense* Ab-V5) on the metabolism, physiology and growth of *Cecropia pachystachya* seedlings, a neotropical pioneer tree species widely used for reforestation, under nitrogen deficiency. The ZM and Ab-V5 inoculants were prepared by the Research Group for Development and Application of Biofertilizers from Universidade Estadual de Londrina, and applied over seeds of *C. pachystachya* before planting in sterile sand. After germination, plants were transferred to grow bags (2L of total volume) containing soil and grown under greenhouse conditions for 90 days, subjected (-N) or not (+N) to nitrogen deficiency. In general, -N treatment led to reduced growth, lower CO₂ assimilation and decreased water use efficiency of *C. pachystachya* seedlings, as well as diminished the nitrate and amino acids concentration in roots and leaves regardless the inoculation with PGPB. On the other hand, under +N treatment the Ab-V5 strain strongly stimulated the growth of *C. pachystachya*, increasing shoot and root dry mass, shoot length and total leaf area, showing that this strain has indeed potential to improve the development of seedlings for this species. As this effect was not observed in -N treatment, we postulate that *A. brasilense* Ab-V5 cannot fully supply *C. pachystachya* with its nitrogen needs, and other growth-promotion traits than the biological nitrogen fixation should be active. Regarding the metabolic traits, the inoculation with Ab-V5 increased the foliar content of ammonium and total soluble sugars in +N treatment. Moreover, the inoculation with ZM increased the concentration of ammonium and amino acids in roots for both +N and -N treatments, increased the concentration of total soluble sugars and protein in roots in +N treatment as well as the foliar content of ammonium and total soluble sugars in -N treatment. These results showed that PGPB strains also induced metabolic changes that can benefit seedlings under stressful situations such as nitrogen deficiency, even though the inoculated strains could not support their optimal growth in the -N treatment. The active mechanisms in *C. pachystachya* growth-promotion by the inoculated strains should be elucidated by further analysis.

Keywords: *Cecropia pachystachya*; Plant growth-promoting bacteria; Reforestation.

PRODUÇÃO DE MICÉLIO EXTERNO POR FUNGOS NO SOLO COM APLICAÇÕES DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNOS

Breyner Gustavo Pavão Bertagnoli, Graziela Moraes de Cesare Barbosa,
Arnaldo Colozzi Filho

IAPAR, Londrina, PR, Brasil, *breyner_pa2@hotmail.com*

A suinocultura gera grandes quantidades de resíduos na forma de dejetos líquidos de suínos (DLS), que possui potencial poluidor. Porém, quando bem manejado, o DLS pode ser utilizado nas lavouras em substituição aos fertilizantes minerais. Além de conter nutrientes essenciais às plantas, o DLS atua na biota do solo, com efeitos sobre a diversidade e atuação de grupos de organismos, como por exemplo, os fungos, cujo micélio exerce papel importante na estruturação do solo. No solo, o micélio pode ser classificado em micélio externo ativo (MEA), que possui atividade, realiza interações com raízes das plantas e absorvem nutrientes e o micélio externo total (MET), que compreende a fração ativa e também o micélio que perdeu sua atividade. O objetivo do trabalho foi avaliar o MEA e MET em solo que recebeu doses de DLS nas profundidades de 0 a 10 e 10 a 20 cm, cultivado em plantio direto. O experimento foi conduzido a campo desde 2008 no Instituto Agrônomo do Paraná, Londrina- PR, em Latossolo vermelho distroférrico, em sistema de rotação com soja ou milho no verão e aveia ou trigo no inverno. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições e cinco tratamentos sendo: controle sem aplicação de DLS e outros quatro tratamentos sendo 67%, 100%, 133% e 200% de N ha⁻¹ de acordo com a necessidade da cultura da aveia fornecido na forma de DLS, T67, T100, T133 e T200, respectivamente. A coleta das amostras de solo ocorreu dez dias após a aplicação do DLS e foram estimados o comprimento do MEA e MET de acordo com a metodologia proposta por Melloni e Cardoso (1999). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$) para separação das médias. A aplicação de DLS estimulou o crescimento do MEA no solo na camada de 0 a 10 cm, sendo o maior comprimento encontrado no T100 (1,04 m g⁻¹ solo seco) em relação aos demais tratamentos, porém não alterou o crescimento do MET. Na camada de 10 a 20 cm a aplicação de DLS não influenciou no crescimento do micélio do solo, não apresentando diferenças no MEA e no MET. Portanto, aplicações de DLS acumulam matéria orgânica na superfície do solo, servindo como fonte de nutrientes estimulando os fungos e influenciando significativamente no crescimento do MEA, porém, pouco influencia na camada de 10 a 20 cm.

Palavras-chave: Microbiota; Estrutura do solo; Resíduos orgânicos.

PRODUCCIÓN DE N-ACIL HOMOSERINA LACTONAS POR BACTERIAS DEL GÉNERO *Pantoea* AISLADAS DEL ARROZ DE LAS MARISMAS DEL GUADALQUIVIR

Manuel Megías

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología,
Sevilla, España, megiasg@us.es

Durante tres campañas de cultivo de arroz en los humedales del río Guadalquivir (Andalucía, suroeste de España) se aislaron bacterias endofíticas y rizosféricas de plantas de arroz en diferentes estadios de desarrollo fenológico de la planta. Tras la caracterización filogenética por 16S y MLSA, se identificaron 23 aislados pertenecientes a diferentes especies del género *Pantoea*. La producción y posterior percepción de moléculas orgánicas denominadas “autoinductores” permite a las bacterias comunicarse y coordinar su comportamiento, lo que facilitaría que puedan actuar como un (micro)organismo multicelular. Este mecanismo de comunicación célula-célula se conoce como “quorum sensing” (QS). Se sabe que los mecanismos de comunicación mediante QS son diferentes en los distintos grupos bacterianos, estableciéndose claramente una diferencia entre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. El mecanismo utilizado por estas últimas es el más conocido y está mediado por la actividad de los genes de la familia luxI que intervienen en la formación de las moléculas señal: las N-ácil homoserina lactonas (AHL). Éstas presentan la misma estructura base: un anillo lactónico de homoserina que tienen unido por un enlace amida a un grupo acilo cuya longitud puede variar entre 4 y 14 átomos de carbono y que puede llevar alguna insaturación o algún sustituyente (como grupos u oxo). El objetivo principal de este estudio ha sido determinar si la colección de bacterias pertenecientes al género *Pantoea* producen AHLs y, posteriormente, seleccionar uno de los aislados para desarrollar un método nuevo y rápido para el análisis de AHL basado en UPLC acoplado a un sistema de espectrometría de masas en tándem Q-Orbitrap. Para detectar las AHLs presentes en el sobrenadante de las bacterias, se ha utilizado el método de difusión en placa de Petri usando el biosensor *Agrobacterium tumefaciens* NT1(pZRL4). Se determinó que 16 de los 23 aislados caracterizados como del género *Pantoea* producían AHLs a diferentes concentraciones. La cromatografía de capa fina se empleó para separar, según su tamaño, las diferentes AHLs producidas. Posteriormente, para el la puesta a punto del nuevo método químico que permite la determinación estructural de las AHLs, se seleccionó la cepa F119 *Pantoea* sp., por ser una buena productora de moléculas de QS. El uso de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) ha permitido detectar que la cepa F119, además de las AHLs que suelen presentar las bacterias Gram-negativas, como las C4-AHL C6-AHL, C14-AHL, 3-oxo-C6, 3-oxo-C8 o 3-oxo C14, sintetiza otras especies químicas menos comunes como las Aril-AHL y pCoumaril-AHL.

Palabras clave: AHL; Quorum sensing; HRMS.

RIZOBACTÉRIA ASSOCIADA A CACTÁCEA PODE MITIGAR OS EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.)

Adailson Feitoza de Jesus Santos, Jildemar Santos de Moraes,
Wilza Fagundes Cerqueira

UNEB, Euclides da Cunha, Brasil, adailsonmicrobiologia@gmail.com

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de grãos, no entanto, encontra em algumas regiões condições de déficit hídrico e solos com baixa fertilidade, o que contribui de maneira importante para redução da produtividade. Associadas as raízes das plantas nativas do Bioma Caatinga, existem bactérias que conseguem tolerar e sobreviver às condições características do semiárido. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de um isolado bacteriano rizosférico associado a Cactácea na mitigação dos efeitos do déficit hídrico em plantas de milho. Foram plantadas 5 sementes de milho da variedade Catete em vasos contendo 2 kg de solo, após a germinação foram mantidas apenas duas plantas por vaso. As plantas foram regadas diariamente durante o processo de germinação e emergência até o momento da inoculação. Como controle, foram utilizadas plantas sem inoculo. O isolado bacteriano (P6.2), Gram-positivo, formador de esporos, tolerante a condições de seca e promotor de crescimento vegetal *in vitro*, foi crescido durante 48 h em meio TSA para produção do inóculo, o qual foi ajustado para OD_{600 nm} = 0,5 (10^9 UFC. mL⁻¹). O inóculo (10 mL/vaso) foi aplicado diretamente no solo próximo ao sistema radicular das plantas. Neste momento o processo de rega foi interrompido. Após 7 dias, em condições de déficit hídrico total, as plantas foram regadas diariamente durante 48 horas. Posteriormente foram determinadas a massa fresca da raiz (MFR) e parte aérea (MFPA), comprimento da raiz (CR) e parte aérea (CPA), diâmetro do caule (DC), massa seca da raiz (MSR) e parte aérea (MSPA). A análise estatística foi realizada no software SISVAR utilizando o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Após análise dos resultados foi verificado que o tratamento inoculado apresentou incremento significativo da ordem de 90%, 48%, 109%, 306%, 79%, 64,5%, 145,4% para os parâmetros, CR, CPA, MFR, MFPA, DC, MSR e MSPA, respectivamente, quando comparado com o tratamento controle. O mecanismo exato responsável por tais resultados não foram esclarecidos, mas este isolado produz grande quantidade de exopolissacarídeo, ácido indol acético, sideróforos, fixa nitrogênio assimbioticamente, além de tolerar concentrações salinas de 8% e temperatura de até 50° C, características citadas na literatura como responsáveis por promover crescimento vegetal e induzir tolerância a estresses abióticos, como déficit hídrico. Estes resultados mostram que o isolado P6.2, isolado da rizosfera de cactácea, pode mitigar os efeitos causados pela estiagem em plantas de milho e ainda pode estar associado, assim como outros isolados, a tolerância das plantas nativas a tais condições.

Palavras-chave: Bactérias; Semiárido; Estresse abiótico.

TEOR DE NITROGÊNIO FOLIAR E NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS DE SOJA TRANSGÊNICA TOLERANTES À SECA SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA

Walkyria Neiverth¹, João Antônio Pissinati Pelaquim², Anna Karolina Grunvald³, Alexandre Lima Nepomuceno⁴, Liliane M. Mertz-Henning⁴, Norman Neumaier⁴, José R. B. Farias⁴, Mariangela Hungria⁴, Marco Antonio Nogueira⁴

¹UEL, Londrina, Brasil, walkybio@yahoo.com.br; ²UNOPAR; ³CNPq; ⁴Embrapa Soja

O desenvolvimento de genótipos de soja transgênica tolerantes à seca tem o potencial de ser uma boa alternativa para a redução de perdas de produtividade. No entanto, alterações genéticas associadas à restrição hídrica (RH) podem modificar processos importantes como, por exemplo, a fixação biológica de nitrogênio (FBN). O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de nitrogênio foliar (TNF) e a nodulação em genótipos de soja transgênica para tolerância à seca, inoculadas com diferentes estirpes, sob restrição hídrica. O experimento foi implementado em casa de vegetação, no delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial triplo (4x2x2), sendo: quatro genótipos: *SAT1* e *SAT2* (ambos via independente de ABA), *SAT5* (via dependente de ABA) e BR16, parental (testemunha, não transgênico); Duas estirpes: *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 5019 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 (=CPAC 7); Duas condições hídricas (CH): não estressado (NE), com fornecimento de água a 70% da capacidade de campo (CC) e estressado (E), a 30% da CC. A RH teve início quando a maioria dos genótipos atingiu o início do florescimento, sendo mantida por doze dias. Após este período, foram analisados: o número de nódulos (NN), a sua massa seca (MNS) e o TNF. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A RH influenciou negativamente o NN e a MNS, para todos os genótipos. A quantificação do TNF apontou interações entre genótipo-estirpe e entre genótipo-CH. O genótipo *SAT1* não apresentou redução nos valores quando submetido à RH, porém, apresentou os menores valores sob NE. Na condição hídrica de 70% da CC, os genótipos *SAT5* e *SAT2* apresentaram os maiores TNF, não diferindo da BR16. A inoculação com *B. diazoefficiens* não alterou o TNF entre os genótipos, no entanto, a inoculação com *B. elkanii* resultou na redução do TNF em plantas *SAT1*. Os genótipos não diferiram quanto ao NN, sendo que os maiores valores de MNS foram obtidos para *SAT5* e BR16 a 70% CC, não diferindo entre si a 30% da CC. A redução da FBN sob RH é resultante de vários fatores que interferem na simbiose, podendo apresentar efeitos antes mesmo de serem observadas alterações na taxa fotossintética. A RH reduz o NN, porém, os genótipos mais resistentes possibilitam melhor desenvolvimento dos nódulos. Conclui-se que, além da RH, há efeito da interação genótipo-estirpe sobre a FBN, não sendo possível afirmar que seja resultante da transgenia. Dentre os genótipos transgênicos, *SAT5* é um bom candidato para posteriores estudos devido aos maiores valores de TNF e MNS. O *SAT1* aparentou ser o menos favorável à FBN. Para os genótipos estudados, a inoculação com *B. diazoefficiens* foi a mais promissora.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium elkanii*; *Bradyrhizobium diazoefficiens*; Fixação biológica de nitrogênio.

VARIABILIDADE DE NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO COMUM DO BANDO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO

Adriano Moreira Knupp¹, Enderson Petrônio de Brito Ferreira¹, Adelson Paulo Araújo²

¹Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Brasil, adriano.knupp@embrapa.br; ²UFRRJ

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem sido considerado uma espécie com baixa capacidade de fixação biológica de nitrogênio, sendo necessários trabalhos que visem à identificação de genótipos de plantas mais eficientes na obtenção de N₂ por via simbiótica. Diante desse panorama, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genotípica da capacidade de nodulação em materiais presentes em duas coleções nucleares do banco de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão. Foram conduzidos experimentos em casa de vegetação, em blocos casualizados com três repetições, em duas fases, nas quais se avaliaram 879 genótipos de feijoeiro em resposta à inoculação com as estirpes comerciais de *Rhizobium* (SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088). A cultivar Ouro Negro foi utilizada como referência de genótipo nodulante eficiente. Sementes esterilizadas pré-germinadas foram plantadas em vasos de 3 L com areia e vermiculita autoclavadas (2:1). Sete dias após emergência (DAE), as plantas foram inoculadas com uma mistura das três estirpes comerciais de *Rhizobium*, e uma vez por semana, receberam solução nutritiva de Norris isenta de N. Aos 35 DAE, foram realizadas coletas para determinação do número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo. O teste de médias (Tukey a 5% de significância) foi utilizado para agrupar os genótipos em intervalos de classes de nodulação. Os percentuais de genótipos que superaram a referência Ouro Negro foram 21% para número de nódulos, 46% para massa seca de nódulos, 32% para massa seca de um nódulo. A partir da composição de classes de nodulação, baseadas na diferença estatística das médias, foram escolhidos, nesta primeira fase, 116 genótipos, sendo 114 mais nodulantes e dois menos eficientes. Realizou-se outro experimento em casa de vegetação com os 116 genótipos obtidos na primeira fase. Com os dados obtidos na primeira e segunda fases para os 116 genótipos foi realizada uma análise conjunta (teste t de Student-LSD, a 5% de significância) para verificar a estabilidade dos materiais com maior nodulação nas duas etapas. Os genótipos que apresentaram maior nodulação, de maneira estável nas duas fases, pertencem ao pool gênico mesoamericano.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Banco ativo de germoplasma; Diversidade.

VIABILIDADE CELULAR DE *Azospirillum* E *Herbaspirillum* EM CULTURA DE TRIGO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DA ADUBAÇÃO NITROGENADA

Lucas Mateus Hass¹, Alexandre Daniel Schneider¹, Jorge Rodrigo Arndt¹,
Cristina Aparecida Delmondes Rodrigues¹, Luana Patricia Pinto¹,
Vitória Fátima Trento Teixeira¹, Pedro Henrique Storms Gonçalves¹,
Jesica Fernanda de Souza², Marco Antônio Bacellar Barreiros¹, Luciana Grange¹

¹UFPR, Palotina, Brasil, lucasmateushass@hotmail.com; ²UNIOESTE

O trigo é considerado um cereal de grande importância mundial e agrícola porque contribui fornecendo 20% das calorias provenientes dos alimentos consumidos pelo homem e, é considerada uma espécie a ser utilizada no inverno em rotação de culturas. O trigo é altamente exigente em nitrogênio, o qual constitui o macro elemento mais limitante na produtividade da cultura. Pesquisas realizadas com a cultura, para este nutriente, permitiram evidenciar que as plantas de trigo conseguem utilizar apenas 50% do fertilizante nitrogenado aplicado, pois metade é perdido via lixiviação e desnitrificação. Portanto, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) promovida por microrganismos de solo apresenta-se como uma alternativa tecnológica e de menor custo para a produção de trigo. Naturalmente, apenas alguns microrganismos diazotróficos possuem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico em amônia, nitrito, nitrato ou aminoácidos utilizáveis por plantas não-leguminosa. Dentre estes indivíduos podemos destacar as bactérias do gênero *Azospirillum* e *Herbaspirillum*. Neste sentido, o presente trabalho pretendeu avaliar a quantidade de células viáveis extraídas de raízes inoculadas a campo na cultura de trigo-inverno na região oeste do Paraná, através da técnica de espalhamento em superfície (*spread-plate*) para contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Para isso, amostras de raízes foram submetidas à limpeza do solo e esterilizadas superficialmente para a realização da diluição seriada e do plaqueamento das concentrações 10^{-2} e 10^{-3} em meio de cultura específico. Através dos resultados, pode-se verificar que a co-inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum*, apresentou melhor quantidade de células viáveis totais com a aplicação de nitrogênio. Já o número de células viáveis obtidos para o gênero *Herbaspirillum* não apresentou diferença estatística independente com ou sem adubação nitrogenada. Isto pode confirmar que a associação endofítica deste gênero com raízes de trigo, deve ser considerada mais específica do ponto de vista da interação planta-microrganismo. Por outro lado, a redução do número de UFC de *Azospirillum* sob condição de adubação nitrogenada pode apontar para uma menor competitividade destes indivíduos por exudatos e nutrientes. O *Azospirillum* possui diversas vias metabólicas alternativas que permitem a este microrganismo utilizar uma variedade de ácidos orgânicos e aromáticos, açúcares e aminoácidos disponíveis na rizosfera sem depender do tecido vegetal para sua sobrevivência.

Palavras-chave: Co-inoculação; Rizobactérias; Gramíneas.

SESSÃO PÔSTER V

ASPECTOS AGRONÔMICOS RELACIONADOS A BACTÉRIAS FIXADORAS DO NITROGÊNIO E PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

ABUNDÂNCIA NATURAL DE ^{15}N DO N_2 FIXADO NA SOJA EM FUNÇÃO DA INTENSIDADE DE LUZ E ESTIRPE DE *Bradyrhizobium* spp. INOCULADA

Karla Emanuelle Campos Araújo¹, Carlos Vergara Torres Junior¹, Ana Paula Guimarães¹,
Ricardo Cesario dos Santos², Robert Michael Boddey², Segundo Urquiaga Caballero²

¹UFRRJ, Seropédica, Brasil, karlaeca@gmail.com; ²Embrapa Agrobiologia

Para quantificação da contribuição da fixação biológica de N_2 (FBN) das leguminosas em condições de campo, a técnica de abundância natural de ^{15}N é a mais utilizada. Na aplicação da técnica, é necessário avaliar a discriminação isotópica do ^{15}N (abundância natural de ^{15}N) do N na leguminosa derivada do ar (da FBN), o chamado valor 'B'. Isso se torna muito importante no caso de leguminosas que obtêm altas proporções do seu N desta fonte, como é o caso da soja, que tem o potencial de acumular grandes quantidades de N desta fonte, em solos relativamente pobre em N. O objetivo deste experimento foi de determinar o efeito de diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* e redução da intensidade de luz na abundância natural de ^{15}N do N_2 fixado pelas estirpes em simbiose com uma cultivar de soja. O experimento foi conduzido no campo experimental na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. Utilizou-se delineamento experimental de blocos casualizados. Os tratamentos consistiram de plantas de soja (cv BRS 133) cultivadas com e sem inoculação (controle) com duas estirpes de *B. japonicum*, duas de *B. diazoefficiens* e sete de *B. elkanii*, e de plantas crescidas sob condições de intensidade de luz normal, e de plantas crescidas em condições de intensidade de luz reduzida (50%), em cinco repetições. Foram utilizados vasos plásticos contendo substrato estéril (areia e perlita) na proporção de 1:1 (v/v). As plantas foram coletadas aos 75 dias após o plantio. Em média os nódulos das plantas sombreadas foram mais enriquecidos (na média por 2,4 ‰) em ^{15}N do que as plantas nos tratamentos do pleno sol. Houve uma tendência para os nódulos das plantas inoculadas com *B. japonicum* e *B. diazoefficiens* em condições de menor intensidade de luz de exibir um enriquecimento maior do que dos nódulos das plantas inoculadas com *B. elkanii* nas mesmas condições, mas em pleno sol esta tendência não foi evidenciada. A parte aérea das plantas em pleno sol e os valores de B parte aérea ('Bpa') apresentaram valores de abundância natural de ^{15}N significativamente mais negativos do que as plantas sombreadas. Houve uma tendência para a abundância de ^{15}N na parte aérea e os valores de 'Bpa' das plantas dos tratamentos inoculados com estirpes de *B. japonicum* e *B. diazoefficiens* a serem menos negativo do que no caso de plantas inoculadas com *B. elkanii*. A avaliação do valor 'B' em condições de intensidade de luz reduzida pode levar ao resultado de um valor 'B' menos negativo que do que aquele determinado em pleno sol e assim provavelmente superestimar a contribuição da FBN na soja em condições de campo.

Palavras-chave: Fracionamento isotópico; Valor B; FBN.

APLICACIONES AGRONÓMICAS DE UNA NUEVA ESPECIE DEL GÉNERO *Pantoea* AISLADA DE PLANTAS DE ARROZ

Manuel Esau Megías Saavedra¹, Fábio Bueno dos Reis Junior², Isamar Moyano³, Mariangela Hungria⁴, Francisco Javier Ollero Márquez³, Manuel Megías³

¹CENARGEN y Universidad de Sevilla, Brasília y Sevilla, Brasil y España, mesau@us.es;

²Embrapa Cerrados; ³Universidad de Sevilla; ⁴Embrapa Soja

Las Marismas del Río Guadalquivir tienen importancia a nivel europeo por el cultivo de arroz en sus humedales. En España se cultivaron 104.973 ha de arroz inundado en 2015, de las cuales el 35,5% fue en Andalucía. La producción integrada de arroz genera un rendimiento de cosecha de los mas altos en Europa (media de 9t/ha). El objetivo del presente trabajo está centrado en el estudio de la población de microorganismos existente en una planta de arroz cultivado. En julio de 2011, se realizó el aislamiento de las bacterias endófitas y rizosféricas de una planta de arroz. Del estudio por secuenciación del gen 16S de los aislados, se identificaron 14 cepas pertenecientes al género *Pantoea*. Las cepas F119 y F138 se identificaron como *Pantoea* sp. El genoma completo de la cepa F119 fue secuenciado. Se identificaron las secuencias de los genes *atpD*, *gyrB*, *infB* y *rpoB* en el genoma de la cepa F119 y sus secuencias fueron empleadas para realizar un estudio filogenético por MLSA. El árbol filogenético derivado del estudio del concatenado de los 4 genes, confirma que esta cepa se encuentra ubicada filogenéticamente dentro del género. Sin embargo no fue asignada a ninguna de las especies ya existentes, pudiéndose tratar de una nueva especie. Se han estudiado algunas características fenotípicas de la cepa F119, entre ellas el consumo de azúcares. Igualmente, se han estudiado diversas actividades promotoras del crecimiento vegetal. Los resultados obtenidos han determinado que se trata de cepas no fijadoras de nitrógeno, con movilidad tipo “swimming”, productoras de ácido indol acético y negativas para la producción de sideróforos. También, producen enzimas hidrolíticas, tales como pectinasas y celulasas, y son solubilizadoras de fosfato. Se llevaron a cabo ensayos de invernadero y campo, aplicando las cepas en diferentes cultivos de plantas. Entre otros, se hicieron ensayos de solubilización de fosfato en tomate, estimulación del crecimiento en cereales y promoción del crecimiento vegetal en leguminosas. En plantas de alfalfa se determinó la concentración de bacterias que permiten un efecto positivo (104 a 105 células/ml de inoculante). Experimentos en cultivos de maíz, han establecido que estas bacterias, en coinoculación, incrementan la producción en un 4% en campo con fertilización nitrogenada del 100% y en un 30% cuando la fertilización nitrogenada es del 75%. En este trabajo se ha identificado una cepa procedente de los arrozales de la Marisma del Guadalquivir, que podría conformar una nueva especie dentro del género *Pantoea*. Esta cepa tiene actividades de promoción del crecimiento vegetal en plantas hortícolas, cereales o leguminosas, convirtiéndola en un candidato para ser utilizada con fines agrícolas.

Palabras clave: Incremento rendimiento; bacterias PGPR; bacteria rizosférica.

ASPECTOS AGRONÔMICOS DA CULTURA DO TRIGO EM RELAÇÃO À EFICIÊNCIA DE INOCULANTES COMERCIAIS

Jhonathan Rafael Hartmann Hister, Rafael Schueroff de Meira, Lucas Mateus Hass, Wekislei Jordi de Souza Coelho, Jorge Rodrigo Arndt, Cristina Aparecida Delmondes Rodrigues, Marco Antônio Bacellar Barreiros, Luciana Grange

UFPR-Palotina, Palotina, Brasil, jhonatanhartmannufpr@gmail.com

O trigo é uma cultura altamente exigente em nitrogênio, o qual constitui o macro elemento mais limitante na produtividade da cultura. Plantas de trigo conseguem utilizar apenas 50% do fertilizante nitrogenado aplicado, pois metade é perdido via lixiviação e desnitrificação. Neste sentido, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) promovida por microrganismos de solo, se apresenta como uma alternativa tecnológica e de menor custo para a produção deste importante cereal. O presente trabalho pretendeu avaliar a eficiência de quatro diferentes inoculantes compostos pelas estirpes AbV5 e AbV6, da espécie *Azospirillum brasilense* utilizando a cultivar CD 150 Coodetec. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos, sendo quatro diferentes produtos comerciais de inoculantes (T2, T3, T4, T5) e uma testemunha sem inoculação (T1). Não foi utilizado nenhuma dose de nitrogênio em cobertura. Foram avaliados os seguintes aspectos agronômicos: massa de mil grãos, espigas por pé, espiguetas por espiga, grãos por espiguetas, tamanho da parte aérea, raiz e total das plantas avaliadas. Os resultados obtidos foram normalizados e analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KW) utilizado para testar se um conjunto de amostras provém da mesma distribuição. De acordo com os resultados, não houve diferença significativa para a medida do peso de mil grãos, onde todos os tratamentos apresentaram uma média de 28,26 mg. Também não houve diferença significativa para tamanho da espiga e número de espiguetas por espiga. O número de grãos por espiguetas e o comprimento de raízes apresentaram valores muito próximos entre todos os tratamentos. A maior média (30,49) para número de grãos por espiga foi encontrada para o T4. Quando considerados o comprimento total e a parte aérea das plantas, a maior média foi encontrada no T5 e a menor média ficou com o T4 para as duas características. Pela técnica de espalhamento em superfície (spread-plate) também foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Os valores das médias das UFCs para os diferentes tratamentos, T1, T2, T3, T4 e T5, apresentaram, respectivamente, as seguintes médias em UFC/mL: 74,9; 78,25; 101,0; 132,0; 184,0. Os resultados obtidos quanto aos aspectos agronômicos do trigo escolhidos para avaliação apontaram pouca diferença quanto à eficiência dos produtos testados. Bactérias do gênero *Azospirillum* spp. possuem diversas vias metabólicas alternativas que permitem a este microrganismo utilizar uma variedade de ácidos orgânicos e aromáticos, açúcares e aminoácidos disponíveis na rizosfera sem depender do tecido vegetal para sua sobrevivência.

Palavras-chave: *Azospirillum*; Inoculação; BPCV.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE SOJA SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA

Anna Karolina Grunvald¹, João Antônio Pissinati Pelaquim², Antônio Eduardo Pípolo³,
Marco Antonio Nogueira³, Mariangela Hungria³

¹CNPq/Embrapa Soja, Londrina, Brasil, annakgrunvald@gmail.com;

²UNOPAR; ³Embrapa Soja

Estudos demonstram que a simbiose entre leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio, além da variação entre genótipos, é extremamente influenciada pelo estresse hídrico. Em virtude disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos fisiológicos e os caracteres relacionados à fixação biológica de nitrogênio (FBN) em genótipos de soja submetidos à restrição hídrica. Foram avaliadas as linhagens CONV100.016, CONV100.046, CONV100.028 provenientes do programa de melhoramento genético da Embrapa Soja com capacidade de manter a FBN em condições de seca e as linhagens R07-7044, R09-1121, R09-1069, R09-5235, descritas por Devi et al. (2014). Os genótipos PI471938 e R01-581F, foram utilizados como padrões. A semeadura foi realizada em vasos contendo 5 kg de solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (9 x 2), com quatro repetições. As sementes foram inoculadas com 500 µL de uma mistura das estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e de *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080, ambas contendo 1×10^9 células viáveis mL⁻¹. O experimento foi conduzido com suprimento hídrico adequado por 45 dias após a emergência, época de início da floração. A partir deste período as plantas que foram submetidas a um período de restrição hídrica, passaram a receber água para manutenção de 30% da capacidade de campo por 10 dias. Os parâmetros fisiológicos avaliados foram condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e transpiratória ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração intercelular de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$). Após o período de restrição hídrica, avaliaram-se os parâmetros massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de nódulos (MSN), número de nódulos (NN) e a relação massa seca de nódulos/número de nódulos (MSN/NN). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Entre os parâmetros fisiológicos, somente o efeito da restrição hídrica foi significativo para todos os caracteres. Na taxa fotossintética, foram observadas diferenças significativas entre genótipo, restrição hídrica e na interação genótipo x restrição hídrica. Com relação aos caracteres da FBN, diferenças significativas para MSPA, MSN, MSN/NN, foram observadas para o efeito de genótipo e restrição hídrica. Interações significativas entre genótipo x restrição hídrica foram observadas somente para NN. O desempenho dos genótipos avaliados foi menor sob restrição hídrica em todos os caracteres avaliados. Ao analisar o desdobramento das interações significativas, o genótipo R09-1069 foi o que apresentou a maior taxa fotossintética e maior número de nódulos sob condições de restrição hídrica.

Palavras-chave: *Glycine max L.*; *Bradyrhizobium*; Simbiose.

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE DIFERENTES INOCULANTES DE SOJA NO TOCANTINS

Leonardo José Motta Campos¹, Mariangela Hungria¹,
Gisele Freitas Vilela¹, Vitor Del Alamo Guarda², Rodrigo Veras da Costa³

¹Embrapa Soja, Palmas, Brasil, leonardo.campos@embrapa.br;

²Embrapa Produtos e Mercados; ³Embrapa Milho e Sorgo

O estado do Tocantins desponta no cenário nacional como um dos principais produtores de soja. Apresentando grande potencial para o desenvolvimento dessa cultura, o estado tem se destacado pelo crescimento da área plantada e sua produção. Entretanto, para dar sustentabilidade à cultura da soja existem grandes desafios a serem superados. As altas temperaturas nos solos tocaninenses têm reduzido a eficiência da inoculação na soja, comprometendo a produtividade e, uma adequada formação de palhada certamente contribuiria na redução deste problema. Contudo, os agricultores desta região têm enfrentado problemas no desenvolvimento e manutenção de palhada, tanto em áreas de cultivo consolidado, quanto em áreas de abertura. Para minimizar estes efeitos foram testados diferentes tipos e formas de aplicação de inoculantes, em área de primeiro ano de cultivo, em Guaraí/TO. Foram realizados 15 tratamentos utilizando-se estirpes de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* da seguinte maneira: 1-controle não inoculado, 2-controle não inoculado + N fertilizante (180 kg de N ha⁻¹), 3-SEMIA 5079 (turfoso; 1,2 milhões de célulasl (mc) semente⁻¹), 4-SEMIA 5080 (turfoso; 1,2 mc semente⁻¹), 5-SEMIA 587 (turfoso; 1,2 mc semente⁻¹), 6-SEMIA 5019 (turfoso; 1,2 mc semente⁻¹), 7-SEMIA 5079 + 5080 + *Azospirillum* (turfoso), 8-SEMIA 5079 + 5080 (turfoso; 1,2 mc semente⁻¹), 9-SEMIA 5079 + 5080 (turfoso; 2,4 mc semente⁻¹), 10-SEMIA 5079 + 5080 (turfoso; 3,6 mc semente⁻¹), 11-SEMIA 5079 + 5080 (turfoso; 4,8 mc semente⁻¹), 12-Inoculante comercial líquido (SEMIA 5079 + 5080; 2 doses), 13-Inoculante líquido (SEMIA 5079 + 5080; 4 doses), 14-Inoculante comercial líquido no sulco (SEMIA 5079+5080; 3 doses), 15-Inoculante comercial líquido no sulco (SEMIA 5079+5080; 6 doses). A cultivar de soja utilizada foi BRS Sambaíba RR, semeada em 04/12/2014 e colhida em 20/04/2015. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento em blocos ao acaso, com 6 repetições cada. Foram avaliados os seguintes parâmetros: produtividade, altura de plantas e o índice SPAD (Soil Plant Analysis Development). As produtividades obtidas nos tratamentos com inoculantes foram iguais às obtidas no tratamento com N mineral. Houve redução somente no tratamento 1. Os tratamentos 1, 2, 4, 5 e 6 apresentaram altura de plantas menor, quando comparados aos demais tratamentos. Os maiores índices SPAD foram observados nos tratamentos 1, 2, 4 e 6. Os dados de altura de plantas e SPAD não se correlacionaram com a produtividade. Concluiu-se que todos os inoculantes testados, bem como sua forma de aplicação, foram eficientes em suprir a necessidade de N das plantas, mantendo produtividade semelhante à do tratamento com N mineral.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; SPAD; *Bradyrhizobium*.

AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO FEIJÃO

Cassiele Uliana Facco, Carlos Alberto de Bastos Andrade, Diego Ary Rizzardi, Guilherme Fernando Capristo Silva, Éder Zampa

UEM, Maringá, PR, Brasil, cabandrade@uem.br

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes que mais limita a produção do feijoeiro, sendo este o mais extraído e exportado pelo vegetal. As fontes desse elemento são o solo, os fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de N_2 atmosférico (FBN). Apesar da inoculação com estirpes de rizóbio constituir uma tecnologia de baixo custo, essa técnica na cultura do feijoeiro ainda possui descrédito junto aos agricultores e técnicos, devido à existência de inúmeros fatores limitantes da FBN. Entretanto, as pesquisas evidenciam a possibilidade da cultura realmente se beneficiar da FBN em condições de campo, desde que estabelecidas boas práticas de inoculação e adaptação no manejo dos fatores relacionados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a nodulação da linhagem de feijão em relação a fixação biológica de nitrogênio e adubação nitrogenada. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no campus da Universidade Estadual de Maringá, município de Maringá - PR, entre os meses de março a junho de 2015, onde as plantas foram cultivadas em vasos plásticos. Utilizou-se a linhagem de feijão do grupo carioca LEC 02 11, e as estirpes de rizóbio UFLA 02-100 de *Rhizobium etli* e SEMIA 4077 (= CIAT 899) de *Rhizobium tropici*. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em parcelas subdivididas, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram T1: Testemunha; T2: UFLA 02-100; T3: SEMIA 4077 (= CIAT 899); T4: 60 kg ha⁻¹ de N; T5: UFLA 02-100 + 30 kg ha⁻¹ de N e T6: SEMIA 4077 (= CIAT 899) + 30 kg ha⁻¹ de N. Cada repetição consistiu de duas plantas por vaso. Foram inoculadas na proporção de 500 g de inoculante para cada 50 kg de sementes. As plantas foram avaliadas na floração plena, utilizando a variável massa seca da parte aérea (MSPA), número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN). A MSPA e MSN foram determinadas após secagem do material em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 60°C por 72 h, e aferida a massa em balança de precisão. O procedimento da contagem do NN foi realizado destacando-os das raízes. Para a análise estatística utilizou-se o software estatístico SAS®, onde comparou-se as médias pelo teste tukey em nível de 5% de probabilidade. Para a variável NN e MSN o tratamento de maior destaque foi o T3 com 461,75 e 0,68 g, respectivamente. Entretanto, para a maioria dos tratamentos não houve diferença significativa para a MSPA, exceto para o T1, obtendo o menor valor dentre os tratamentos com apenas 8,25 g. A utilização da estirpe CIAT 899 influenciou diretamente na nodulação das plantas demonstrando que sua eficiência é superior à adubação nitrogenada. Porém, não houve influência no acúmulo de MSPA nos tratamentos adotados.

Palavras-chave: Linhagem; Nódulos; Rizóbio.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS BACTERIANOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DO FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) EM DIFERENTES PHS

Breno Augusto Moraes, Venícios Vieira Gabre, Helio Antonio Wood Joris, Angelo Rafael Bini, Letícia Reis, Eduardo Favero Caires, Carolina Weigert Galvão, Ricardo Antônio Ayub, Fernanda Carolina da Silva, Rafael Mazer Etto

UEPG, Ponta Grossa, Brasil, mbrenoaugusto@hotmail.com

O feijão é uma importante fonte de proteína e um dos principais alimentos da população brasileira. É a quarta cultura com maior área plantada no Paraná, colocando o estado como um dos maiores produtores brasileiros. A aplicação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) tem sido eficaz na agricultura para o crescimento da produtividade, redução de custos e impactos ambientais. Este trabalho teve como objetivo investigar a resposta do feijoeiro a inoculação de diferentes bactérias em solo com gradiente de pH. O solo (Cambissolo Háplico) utilizado foi coletado em campo nativo, peneirado, tratado com três doses diferentes de calcário, recebeu uma adubação química básica de macro e micronutrientes e foi então colocado em vasos de 5 dm³. As análises físico-químicas do solo e os ajustes de pH foram realizados no Laboratório de Fertilidade do Solo da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O feijão (*Phaseolus vulgaris* variedade IPR Tangará) foi cultivado em casa de vegetação por 120 dias e os seguintes parâmetros de produtividade foram avaliados: número de vagens por planta, número de sementes por vagem, produtividade por planta (kg/ha) e peso de mil grãos. Os tratamentos foram aplicados em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 4 x 8, sendo quatro níveis de acidez do solo (4,0; 5,2; 6,0; 6,6) e oito condições de inoculação: (I) sem nitrogênio e sem inoculação; (II) com nitrogênio em cobertura (1,09 gramas de ureia/vaso) e sem inoculação; com inoculação de (III) *Rhizobium tropici* SEMIA 4080/ 4077; (IV) *R. tropici* SEMIA 4080/ 4077 e *Azospirillum brasilense* AbV5/ AbV6; (V) *Pseudomonas* sp. H2D; (VI) *Burkholderia* sp. 10N6; (VII) *Burkholderia* sp. 5V3; (VIII) *Rhizobium* sp. B3D. As bactérias dos tratamentos III e IV são BPCV comerciais e as demais, são potenciais BPCV isoladas do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana da UEPG. O feijoeiro inoculado com *Burkholderia* sp. 10N6 (VI) e cultivado no pH 6,6 apresentou uma produção média de 14 vagens/planta, valor significativamente superior (Tukey, $p < 0,05$) ao tratamento dose cheia de nitrogênio (II), o qual apresentou a segunda maior produção, 10 vagens/planta. Em pH 5,2 os tratamentos geraram um valor médio de 3 grãos/vagem, enquanto que a inoculação de *Pseudomonas* sp. (V) duplicou tal valor. Os resultados de inoculação obtidos com os isolados de *Burkholderia* sp. 10N6 e *Pseudomonas* sp. H2D confirmam o potencial desses gêneros na promoção do crescimento vegetal. Estudos moleculares e ensaios a campo serão realizados para compreender os mecanismos de interação planta-bactéria e confirmar o desempenho dessas bactérias em condições naturais de cultivo, respectivamente.

Palavras-chave: BPCV; Inoculantes; Biotecnologia.

AVALIAÇÃO DOS CARACTERES DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE SOJA RR2

João Antônio Pissinati Pelaquim¹, Anna Karolina Grunvald²,
Carlos Alberto Arrabal Arias³, Marco Antonio Nogueira³, Mariangela Hungria³

¹UNOPAR, Londrina, Brasil, joao_pissinati.jp@hotmail.com; ²CNPq; ³Embrapa Soja

A simbiose entre leguminosas e bactérias diazotróficas é um processo de grande importância ambiental e econômica, capaz de fornecer o nitrogênio necessário para o desenvolvimento de diversas culturas agrícolas como, por exemplo, a soja (*Glycine max*). Nos últimos anos, além de cultivares convencionais, tem-se adotado a utilização de cultivares de soja geneticamente modificadas (RR). A tecnologia intacta RR2, obtida por meio da biotecnologia, possui benefícios de proteção contra as principais lagartas, alta produtividade e tolerância ao herbicida glifosato. Apesar dos benefícios das cultivares RR, há uma preocupação a respeito dos impactos ambientais, bem como sobre a sua capacidade de fixação biológica do nitrogênio (FBN). O presente trabalho teve como objetivo avaliar os caracteres da fixação biológica de nitrogênio em genótipos de soja RR2. Foram avaliados 34 genótipos de soja, tendo sido utilizada, como padrão, a cultivar convencional Bossier, com alta capacidade de FBN. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, semeado em vasos contendo 3 kg de solo não esterilizado. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com 4 repetições. Na semeadura, as sementes foram inoculadas com 500 µL de uma mistura das estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e de *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080, ambas na concentração de 1×10^9 células viáveis mL⁻¹. No início do florescimento, aos 35 dias após a emergência, as plantas foram coletadas para serem avaliadas as seguintes características: massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de nódulos (MSN), número de nódulos (NN) e a relação MSN/NN. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Diferenças significativas ($p < 0,01$) foram observadas para todos os caracteres. A média geral foi de 2,63 para MSPA (g planta⁻¹), 17,89 para MSN (mg planta⁻¹), 25,1 para NN (nódulos por planta) e 0,68 para MNS/NN (mg planta⁻¹). A cultivar padrão Bossier apresentou média superior à média geral em todas as características. Os genótipos 11B-3052W e DM6563IPRO foram os que se destacaram, pelo teste de Scott-Knott, em todos os caracteres avaliados. Além disso, suas médias foram superiores à média da Bossier. Os resultados obtidos poderão ser utilizados na escolha de uma cultivar com capacidade de manter a FBN associada aos benefícios da tecnologia intacta RR2.

Palavras-chave: Glycine max L.; Simbiose; Transgenia.

***Azospirillum brasilense* Vi22 E A PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE GIRASSOL (*Helianthus annuus*) EM EXPERIMENTOS A CAMPO**

Adriana Ambrosini¹, Bruno Brito Lisboa², Luciane M. P. Passaglia¹

¹UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, adri_ambrosini@yahoo.com.br; ²FEPAGRO

O girassol possui sementes com alto teor de óleo e ótima qualidade nutricional, além de ser importante para apicultura, alimentação animal, utilização ornamental e produção de biocombustíveis. O aumento e a estabilidade da produtividade de girassol podem ser alcançados através da adoção de procedimentos ambientalmente sustentáveis e economicamente viáveis. Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR – *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) são alternativas para biofertilização a campo e o gênero *Azospirillum* é um bom exemplo de PGPR pelo conhecido estabelecimento de interações positivas com diversas espécies de plantas. *A. brasilense* Vi22, um isolado da rizosfera de girassol fixador de nitrogênio (N), produtor de sideróforos e de compostos indólicos, foi avaliado quanto à capacidade de degradar ácido oxálico (importante fator de patogenicidade do fungo causador da podridão branca das raízes em girassol – *Sclerotinia sclerotiorum*) e quanto ao potencial para sua utilização como inoculante em experimentos a campo. Um experimento de biofertilização a campo foi realizado em parcelas de 4 x 6 m (distanciadas em 1 m) e com delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições, num total de cinco tratamentos: (T1) ausência de N e de inoculação; (T2) controle com metade da dose de N recomendada para a cultura (50%); (T3) controle com a dose total de N (100%); (T4) inoculação e ausência de N; (T5) inoculação e metade da dose de N. Para análise estatística foram empregados a análise de variância e teste de Skott-Knott (Assistat versão beta 7.6). Aos 60 dias pós-semeadura (DPS), o teor de N das folhas foi significativamente mais alto nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada (T2, T3 e T5), mas não houve diferença estatística entre as doses 50 e 100% de N. A produtividade dos grãos foi avaliada aos 120 DPS e apresentou um aumento significativo para os tratamentos T3 e T5, com um rendimento de 4065,0 e 3787,50 Kg ha⁻¹, respectivamente. A presença do biofertilizante permitiu que metade da dose de N pudesse ser utilizada no plantio sem perdas de produtividade, o que consiste na possível redução de gastos com fertilizantes e adição de 50% menos compostos químicos no solo. *A. brasilense* Vi22 também foi hábil em degradar ácido oxálico *in vitro*, mostrando potencial para biocontrole de *S. sclerotiorum*. Experimentos a campo adicionais em solos com e sem histórico da presença do patógeno deverão ser realizados para melhor verificação da eficiência da biofertilização com *A. brasilense* Vi22. A utilização de inoculantes microbianos com potencial para promover o crescimento e/ou o controle biológico de doenças no cultivo de girassol é uma alternativa sustentável para a produção dessa oleaginosa no Brasil.

Palavras-chave: PGPR; Inoculante; Biofertilização.

***Bacillus* sp. RZ2MS9 AND *Azospirillum brasilense* ABV5, INOCULATED IN COMBINATION, PROMOTE MAIZE GROWTH UNDER FIELD CONDITIONS**

Bruna Durante Batista, Rafael Martins Aniceto, Bruno Augusto Prohmann Tschoeke,
João Lúcio de Azevedo, Maria Carolina Quecine

ESALQ/USP, Piracicaba, Brazil, *brunadb@usp.br*

The higher costs of chemical fertilizers combined with the growing concerns over pollution and emphasis on sustainable agriculture have increasing the interest in the use of inoculants containing plant growth promoting bacteria (PGPB) and increase grain yield. Brazil has a long tradition in research in nitrogen fixation in *Azospirillum*-grass associations especially on maize, however, the use of formulated preparations, consisting of a single microbial species or strains as inoculant has often resulted in non-consistent performances in agriculture. One of the reasons of such a failure could be that a single microbial agent is not likely to be active in all soil environments. A way to overcome this problem is to include different species or strains of beneficial microbes in the same microbial formulation. Thus, co-inoculation of different PGPBs is considered to be an innovative approach in plant-health management, and for the improvement of crop yield and quality. The rhizobacterium *Bacillus* sp. RZ2MS9 was isolated from the rhizosphere guarana, a typical tropical crop, and was selected on the basis of its plant growth promotion activity in greenhouse experiments. This study aims to investigate the effects on plant growth of the co-inoculation with *Bacillus* sp. RZ2MS9 and *Azospirillum brasilense* Abv5 on maize under field conditions. Maize seeds were passed through a 10% saccharose solution, dried and passed through bacterial solutions containing the strains (*Bacillus* sp., *A. brasilense* Abv5 and a combination of these bacteria) in a concentration of 10^8 cells/ml and sown manually in the field area located at ESALQ/USP, Piracicaba - SP. The control consisted only the culture medium passed on the seeds. The experiment was conducted between the months December and March 2016. The height and diameter of the plants were measured 60 days after planting. Statistical analyses were performed using the software SAS (SAS Inst. Inc., 1996) to determine treatment effects. For the height analysis, the treatment containing the combination of the two strains, as well as the treatment with only *Azospirillum* were statistically better than control. However, for the diameter, only the treatment containing the combination of the two strains was statistically better than control. A productivity analysis will be conducted at the end of the crop cycle, but we can infer, by these results, that *Bacillus* sp. RZ2MS9 has the potential to improve the effects of *Azospirillum* on plant growth promotion under field conditions and these two strains probably work better together than when they are in isolated formulations.

Keywords: Coinoculation; *Azospirillum*; *Bacillus*.

BACTERIAS DE LA RIZÓSFERA PRODUCTORAS DE ACC-DEAMINASA Y AUXINAS PROMUEVEN UNA MAYOR NODULACIÓN TEMPRANA EN ALFALFA

Macarena Gerding, Gary Moraga, George Cedeño,
Pía Oyarzúa, Maurine Sepúlveda Caamaño

Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile, mgerding@udec.cl

La introducción de nuevos ecotipos de alfalfa en la zona mediterránea de Chile ha sido auspiciosa en cuanto a supervivencia de la planta bajo condiciones de escasez de agua y nutrientes. Sin embargo la nodulación ha sido irregular y en el largo plazo las cepas de rizobios inoculadas tienden a desaparecer. El objetivo de este trabajo fue aislar y seleccionar bacterias asociadas a la rizósfera de alfalfa capaces de inducir mayor crecimiento radicular y promover la nodulación temprana. Se colectaron especímenes de alfalfa desde la zona mediterránea central de Chile. Se aisló bacterias asociadas a la rizósfera, las que fueron caracterizadas en cuanto a producción de ácido indol acético (AIA), solubilización de fosfato y presencia de la enzima ACC-deaminasa. Además se evaluó antagonismo entre las cepas bacterianas y *Sinorhizobium meliloti*, para descartar aquellas que tuvieran un efecto negativo sobre el rizobio. Las cepas fueron identificadas por medio de secuenciación del gen 16S rRNA y evaluadas en plantas de alfalfa (cultivar Alta Sierra Illapata) bajo condiciones controladas. Las plantas fueron inoculadas con *S. meliloti* AG-06, sola y en combinación con las cepas rizosféricas seleccionadas. Se evaluó semanalmente la aparición de nódulos y el crecimiento radicular. Todas las cepas produjeron AIA, variando desde 13 hasta 34 ppm. Diez cepas solubilizaron fosfato, destacando AG-69 con 104 ppm de P-PO₄. Sólo una cepa (AG-70) logró producir ACCdeaminasa. A partir del ensayo de antagonismo se descartaron 16 de las 32 cepas obtenidas, al inhibir el desarrollo de *S. meliloti*. En el ensayo en planta, se observó un efecto positivo de la inoculación con AG-70 y AG-68 en la formación temprana de nódulos en alfalfa, ya que las plantas presentaron mayor número de nódulos en los primeros 25 días ($P \leq 0,05$). AG-70 contiene la enzima ACC deaminasa la cual regula el nivel de etileno en las raíces favoreciendo con esto la tolerancia a estrés por parte de la planta y una mayor colonización por rizobios, y AG-68 produce AIA lo que induce mayor formación de raíces laterales. No hubo un efecto significativo de la co-inoculación en el peso seco radicular ni en el largo de raíces. Las cepas AG-67 y 69 fueron identificadas como *Pseudomonas* sp., AG-68 como *Bacillus* sp. y AG-70 como *Bacillus drentensis*. La inoculación de alfalfa con *Bacillus* AG-68 y AG-70 permite una mayor ocupación nodular inicial lo que mejorará la habilidad competitiva del rizobio en terreno. Este trabajo fue financiado por Fondecyt 11130479.

Palabras clave: *Medicago sativa*; Nodulación; PGPR.

BACTERIAS DIAZOTROFICAS CON POTENCIAL PARA PROMOVER EL CRECIMIENTO VEGETAL Y PROTEGER LAS PASTURAS EN CONDICION DE SALINIDAD

Sandra Cortes-Patiño¹, Laura Avellaneda-Franco¹, Andrés Moreno-Galván¹,
Andrés Estrada-Bonilla Germán², Ruth Bonilla-Buitrago¹

¹Corpoica, Colombia; ²USP-ELQ, Piracicaba, Brazil, *germanestra@gmail.com*

Se estima que actualmente el 20% de las áreas cultivadas y la mitad de la tierra arable se encuentran en procesos de salinización debido al uso excesivo de agroquímicos y la variabilidad climática. Existen bacterias halotolerantes en los suelos capaces de promover el crecimiento de las plantas y protegerlas de los efectos tóxicos de los iones de sodio. El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias diazotróficas endófitas halotolerantes y evaluar sus características como promotoras de crecimiento vegetal y mitigadoras de estrés. Los aislamientos se obtuvieron mediante la técnica de diluciones seriadas y siembra en medios de NFb y JNFb a partir de suelo y material vegetal de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). De los 17 aislamientos obtenidos se seleccionaron las cepas D7, AP02 y AP21, debido a que presentaron la mayor actividad de la nitrogenasa en ensayos de reducción de acetileno (467,8, 44,6 y 42,8 $\mu\text{mol/mol}$, respectivamente). Las tres cepas seleccionadas fueron identificadas molecularmente mediante 16S RNA. La cepa D7 pertenece al género *Azospirillum* y las otras dos al género *Herbaspirillum*. Para cada una de las cepas se realizaron curvas de producción de etileno e indoles totales en medios suplementados con diferentes concentraciones de sal (0, 50, 100, 150 y 200 mM). La actividad nitrogenasa disminuyó con el aumento de la concentración de sal, llegando a niveles mínimos de 18,08; 1,4 y 2,3 $\mu\text{mol/mol}$ para las cepas D7, AP02 y AP21, respectivamente. La producción de indoles presentó un pico para todas las cepas a una concentración de 50 mM (91,087 $\mu\text{g/ml}$ para D7; 40,841 $\mu\text{g/ml}$ para AP21; 44,871 $\mu\text{g/ml}$ para AP02). La capacidad de solubilizar fósforo a partir de roca fosfórica fue evaluada durante 12 días, las cepas AP02, AP21 y D7 solubilizaron 1002,8; 660,5 y 240 ppm, respectivamente. Finalmente, se evaluó la presencia de la enzima ACC desaminasa, capaz de regular la respuesta a estrés por parte de la planta, y se encontró que AP02 y AP21 poseen dicha enzima, mientras que D7, no. Estos resultados permiten inferir que cada cepa se comporta de una manera diferente, lo que resalta la importancia de utilizar consorcios microbianos que permitan hacer un mejor uso de la diversidad de los suelos. La combinación de estas actividades podría permitir un mayor efecto protector en la planta en condiciones de estrés salino, lo que deberá ser evaluado en planta para usos futuros.

Palabras clave: Endófitas; Pasto kikuyo; Estrés ábiotico.

BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA PÓS PASTEJO, EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA

Gabriel Esteves Freitas¹, Paula Fernanda Armelim¹, Ana Paula Zandoná¹,
Andrea Scaramal da Silva², Oswaldo Machineski¹, Arnaldo Colozzi Filho¹

¹IAPAR, Londrina, Brasil, gabrielestevesfreitas@hotmail.com, ²UEL/IAPAR

A busca por sistemas de produção que possibilitem a recuperação e manutenção da qualidade do solo é uma tendência na agropecuária. O sistema de integração lavoura-pecuária (ILP) tem-se mostrado como uma alternativa viável para manter a qualidade física, química e biológica do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o carbono da biomassa microbiana (CBM) e a atividade microbiana em ILP com soja cultivada no verão e *Brachiaria ruziziensis* no inverno, sendo esta submetida a diferentes intensidades de pastejo. As amostragens de solo foram realizadas em outubro de 2015, após o quinto cultivo da pastagem, na camada de 0-10 cm. Os tratamentos consistiram de uma área sem pastejo (SP) e de quatro intensidades de pastejo (IP), sendo IP-10, IP-20, IP-30 e IP-40 correspondentes à altura em cm (10, 20, 30 e 40 cm respectivamente) da pastagem remanescente após o pastejo animal na área. Os tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições, sendo a altura das pastagens realizada com ajuste da carga animal, com a entrada ou retirada de animais reguladores para manter a altura da pastagem o mais próximo da pretendida. Os atributos microbiológicos analisados foram CBM, respiração microbiana (RM) e quociente metabólico (qCO_2). Os resultados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de médias de Tukey ($p < 0.05$). Após o quinto ciclo da pastagem, o tratamento IP-20 apresentou valor de CBM, significativamente ($p < 0,05$) maior que os valores obtidos para os demais tratamentos. O valor de CBM no tratamento IP-40, com intensidade leve de pastejo, foi superior ao observado nos tratamentos IP-10, IP-30 e SP. A respiração microbiana não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O qCO_2 apresentou diferença significativa ($p < 0.05$) entre os tratamentos IP-40 e IP-10, IP-20 e SP. No tratamento IP-40, o valor de qCO_2 foi maior que os demais tratamentos, sendo que os tratamentos IP-10, IP-20 e SP apresentaram os menores valores de qCO_2 . Após cinco ciclos de pastagem com diferentes intensidades de pastejo, observa-se que intensidades de pastejo moderada, IP-20, promovem aumento dos teores de CBM com alta eficiência dos micro-organismos em converter resíduos orgânicos em biomassa microbiana.

Palavras-chave: Carbono da biomassa; Respiração microbiana; Quociente metabólico.

CALAGEM E ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA ANTECESSORA INFLUENCIAM PARÂMETROS DE NODULAÇÃO NA SOJA

Carolina Honda¹, Walkyria Neiverth¹, Brenda Cristye Tonon¹, Biana Harumi Kuwano¹, Artur Berbel Lirio Rondina¹, Paula Cerezini¹, Vivian Nogueira Marques Cervantes¹, José Salvador Simoneti Foloni², Mariangela Hungria², Marco Antonio Nogueira²

¹UEL, Londrina, Brasil, carolinahonda88@yahoo.com.br; ²Embrapa Soja

A calagem é prática essencial para a melhoria das condições químicas e biológicas do solo. Já a adubação nitrogenada, apesar de não apresentar efeito benéfico quando aplicada na cultura da soja, pois reduz a eficiência da fixação biológica do nitrogênio, pode trazer algum benefício para a cultura da soja quando aplicada na cultura antecessora, como o trigo. Os mecanismos relacionados a esse benefício, porém, ainda não estão esclarecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da calagem e da adubação nitrogenada na cultura do trigo, sobre a nodulação e conteúdo de nitrogênio na parte aérea da soja cultivada em sucessão. Durante a safra 2014/15 foi conduzido um experimento a campo, na estação experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR, sob delineamento experimental em blocos casualizados, em arranjo fatorial 4 x 2, com quatro doses de nitrogênio (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ de N aplicados na cultura do trigo antecedendo a soja), na presença ou ausência de calagem (correção para 70% da saturação de bases), com quatro repetições. A cultivar de soja utilizada no experimento foi a BRS 360RR, de crescimento indeterminado. No período de florescimento da cultura da soja, foram coletadas cinco plantas por parcela e foram avaliados o N total da parte aérea (NTPA), o número de nódulos (NN) e a massa de nódulos secos (MNS). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey, p≤0,10). O NTPA apresentou interação significativa entre os fatores estudados (dose x calagem); na presença da calagem não houve diferenças estatísticas entre as doses de N, mas na ausência de calagem o tratamento com 120 kg ha⁻¹ de N apresentou os maiores teores de NTPA. Além disso, somente na dose mais elevada de N não houve diferença no NTPA na ausência e presença de calagem, sendo que nas demais doses a presença de calagem aumentou mais de 40% o NTPA em relação às mesmas doses sem calagem. Não houve interação significativa dos fatores para NN e MNS, que apresentaram somente efeito das doses de N aplicadas. O maior NN foi observado no tratamento com ausência de N (105 nódulos planta⁻¹) em relação ao tratamento com dose 80 kg ha⁻¹ de N (58 nódulos planta⁻¹), não diferindo dos tratamentos com as demais doses. A MNS também foi maior no tratamento sem N, sendo 25% superior do que a MNS do tratamento com dose 120 kg ha⁻¹, mas sem diferir estatisticamente dos tratamentos com dose 40 e 80 kg ha⁻¹ de N. A aplicação de calagem no trigo aumentou o NTPA em plantas de soja, porém, não influenciou a MNS e NN. A nodulação em soja foi beneficiada com a aplicação das menores doses de N no trigo, indicando que doses elevadas de N na cultura antecessora podem prejudicar o estabelecimento e eficiência da nodulação.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Número de nódulos; Trigo.

CARACTERIZACIÓN RIZOBIOLÓGICA DE AMBIENTES PASTORILES PARA IMPLANTACIÓN DE TRÉBOLES EN EL NORESTE DEL URUGUAY

Horacio Russell¹, Amalia Baraibar², Sandra Castro²

¹Atech Consultoría; ²FAGRO/UEDELAR, Montevideo, Uruguay, amalia.baraibar@gmail.com

ANTECEDENTES. Varios trabajos científicos reportan la incidencia de factores de origen biológico en el establecimiento y persistencia de las leguminosas cultivadas. Se realizaron estudios rizobiológicos para mejorar la implantación de los tréboles en suelos de la región Noreste. **OBJETIVOS.** 1. Caracterizar algunos suelos en presencia de trébol de campo (*Trifolium polimorphum*). 2. Detectar limitantes ambientales para el establecimiento de tréboles extra-regionales. 3. Evaluar la especificidad y la eficiencia simbiótica de poblaciones naturalizadas de *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii aisladas en plantas persistentes de trébol blanco (*Trifolium repens*). **MATERIALES Y MÉTODOS.** Se realizaron recuentos de rizobios nativos en seis suelos sin historia previa de tréboles introducidos y se estudió la especificidad simbiótica de poblaciones nativas de *R. leguminosarum* bv. trifolii. En condiciones controladas y usando cilindros de suelo en presencia de tapiz vegetal, se compararon sitios diferentes en sus características físico-químicas y biológicas. En otros sitios cultivados y con presencia de trébol blanco persistente se realizó la caracterización simbiótica y se evaluaron las respuestas productivas. **RESULTADOS.** En los seis suelos caracterizados se observaron poblaciones nativas con variaciones cuantitativas importantes y se confirmó el alto grado de especialización simbiótica de las poblaciones nativas asociadas al trébol de campo. Las respuestas productivas en trébol blanco, se asociaron con los efectos diferenciales de antagonismo biológico provocado por las poblaciones nativas, con la fertilidad natural de los suelos y con la agresividad de los tapices vegetales. Se obtuvieron establecimientos exitosos usando pares simbióticos con cepas naturalizadas persistentes. **CONCLUSIONES.** 1° La implantación de tréboles introducidos se encuentra limitada por la presencia generalizada de poblaciones nativas de rizobios asociados al trébol de campo. A nivel de especie, los tréboles introducidos demostraron poseer aptitudes diferentes en cuanto a su capacidad de atenuar el efecto antagónico producido por diferentes poblaciones de rizobios nativos. 2° En siembras de trébol blanco sobre tapices naturales, las mejoras en la implantación se logran por un aumento significativo de la dosis de inoculación. 3° En suelos con otras limitantes adicionales, es necesario identificarlas y aumentar el aporte de rizobios sobre la semilla. 4° Se confirma la potencialidad simbiótica existente en algunas poblaciones de rizobios naturalizados altamente específicos para trébol blanco. 5° Es posible mejorar la implantación de los tréboles extra-regionales usando asociaciones simbióticas adaptadas a los suelos del Noreste del país.

Palabras clave: Leguminosas; Inoculación; Fijación de nitrógeno.

CARACTERIZACIÓN Y MULTIFUNCIONALIDAD DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE CEPAS DE RIZOBIOS DE URUGUAY

Claudia Barlocco¹, Victoria Cerecetto¹, Vanesa Rostán¹, Natalia Mattos¹, Mariana Mortalena¹, María Mayans², Nora Altier¹, Elena Beyhaut¹

¹INIA Uruguay, Rincón del Colorado, Uruguay, vcerecetto@inia.org.uy;

²Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay

En la década del sesenta, el Estado uruguayo creó la Colección Nacional de Cepas de Rizobios (CNCR). Fue concebida como una colección abierta y sin fines de lucro. Se integra con cepas de referencia de instituciones internacionales y con aislamientos provenientes de proyectos de investigación nacionales. Esta colección constituyó la base de los programas de selección de cepas para leguminosas de interés agronómico, de donde surgieron las recomendaciones oficiales de cepas para la industria nacional de inoculantes. El Laboratorio de Microbiología de Suelos de INIA tiene el cometido de mantener y valorizar la CNCR, e identificar cepas eficientes para nuevas leguminosas de interés agronómico. La CNCR está identificada con el código de Uruguay "U" y está constituida con más de 300 cepas, de las cuales 20 son cepas comerciales que se recomiendan a la industria de inoculantes. A partir del 2012, se comenzó con la evaluación de viabilidad y pureza de toda la Colección. Posteriormente, se realizó una caracterización más exhaustiva de las 20 cepas comerciales, evaluando la eficiencia simbiótica *in planta* y realizando el perfil genético por BOX-PCR. A partir de 2014 se ingresaron las 20 cepas comerciales en la base de datos de la *World Federation for Culture Collections* (WFCC), siendo la primera colección uruguaya indexada. A su vez, se presentó la documentación correspondiente para la conservación de las 20 cepas comerciales en el Banco de Recursos Genéticos Microbianos de Chile (CChRGM), como respaldo en una Autoridad Internacional de Depósito. Actualmente, la CNCR está siendo caracterizada por la capacidad de mineralizar/solubilizar fósforo (P). Primero mediante ensayos cualitativos en medio sólido, donde se evaluó la capacidad de las cepas de mineralizar fitato de sodio y de solubilizar fosfato de hierro (III) (FePO_4), fosfato de aluminio (AlPO_4) y fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). El 37% de las cepas de la Colección fueron capaces de mineralizar fitato de sodio incluyendo 6 cepas comerciales, 75% presentaron capacidad solubilizadora de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, y ninguna cepa fue capaz de solubilizar FePO_4 ni AlPO_4 . Las cepas halo-positivas fueron objeto de ensayos cuantitativos en medio líquido con fitato de sodio como única fuente de P. En los mismos se determinó que las cepas más auspiciosas son U409 de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, U102 de *Sinorhizobium meliloti* y U802 de *Rhizobium tropici*. Estas cepas serán utilizadas en bioensayos con plantas en condiciones controladas. Se concluye que la conservación, caracterización y puesta en valor de la CNCR representa una importante oportunidad para generar tecnologías innovadoras para el manejo de la nutrición de cultivos en base a microorganismos. Financiación: INIA, ANII.

Palabras clave: Rizobios; WFCC; Colección.

COBERTURAS VEGETAIS E MODOS DE INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO SEGUNDA SAFRA

Daiene Camila Dias Chaves Corsini, Orivaldo Arf, Ana Maria Rodrigues Cassiolato, Flávia Constantino Meirelles, José Roberto Portugal

FEIS - UNESP, Ilha Solteira, Brasil, daieneagro@gmail.com

Devido ao alto custo da adubação nitrogenada, os prejuízos com perdas de nitrogênio e os dados pouco consistentes decorrentes da inoculação de bactérias promotoras de crescimento na cultura do milho, faz-se fundamental aperfeiçoar tecnologias para o uso do *Azospirillum* spp. e que proporcione uma produção econômica e ambientalmente viável. Desta forma objetivou-se estudar o efeito das coberturas vegetais e dos modos de inoculação com *A. brasilense* no desenvolvimento e produtividade do milho segunda safra. O estudo consistiu no fatorial 3 x 4, com coberturas vegetais (*Crotalaria spectabilis*, *Urochloa ruziziensis* e o consórcio entre *C. spectabilis* e *U. ruziziensis*) e os modos de inoculação com *A. brasilense* (testemunha - sem inoculação; inoculação nas sementes; inoculação na semente e via foliar e inoculação via foliar). O híbrido semeado foi Dow 2B 810, com 90.000 sementes ha⁻¹. A inoculação com *A. brasilense* estirpes A_bV₅ e A_bV₆ seguiu a recomendação do produto comercial, utilizando 100 mL do inoculante para 10 kg de sementes ou de 200 mL ha⁻¹ do produto comercial para a inoculação via foliar, aplicada no estádio V₄. A adubação de cobertura foi realizada 26 DAE (dias após a emergência), com aplicação de 50 kg de N ha⁻¹, utilizando sulfato de amônio. A colheita ocorreu aos 140 DAE. A forma de inoculação com *A. brasilense* não alterou a altura de plantas (media geral = 2,05 m) ou o diâmetro de colmo (media geral = 18,96 mm). A massa da parte aérea de plantas teve valores superiores quando inoculadas com *A. brasilense* nas sementes e via foliar (78,62 g planta⁻¹) em comparação à testemunha (59,38 g planta⁻¹). O teor de N foliar não foi alterado pelos tratamentos, mostrando média geral 17,79 g planta⁻¹. A produtividade de grãos foi influenciada pela forma de inoculação à 6% de probabilidade, onde houve aumento de 19,8% no tratamento com *A. brasilense* via semente e foliar (4.208 kg ha⁻¹), quando comparado a testemunha (3.373 kg ha⁻¹). Isso pode ter ocorrido devido a produção de fitormônios pelas bactérias, uma vez que o teor de N foliar não foi diferiu entre os tratamentos. A inoculação com *A. brasilense* nas sementes de milho e via foliar proporcionou aumento na produtividade da cultura do milho. Fonte Financiadora: FAPESP-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

Palavras-chave: *Urochloa ruziziensis*; *Urochloa ruziziensis*; bactérias diazotróficas associativas.

COMPATIBILIDADE ENTRE INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E TRATAMENTO FUNGICIDA EM SEMENTES DE FEIJOEIRO-COMUM

Dâmiany Pádua Oliveira, Marislaine Alves de Figueiredo, Bruno Lima Soares,
Fábio Aurélio Dias Martins, Márcia Rufini, Augusto Ramalho de Moraes,
Fatima Maria de Souza Moreira, Messias José Bastos de Andrade

UFLA, Lavras, Brasil, marciarufini@gmail.com

Poucos são os estudos que avaliam o efeito do tratamento fungicida da semente de feijão sobre a inoculação com rizóbio e seus efeitos sobre a fixação biológica de nitrogênio. Assim, com o objetivo de verificar a compatibilidade entre fungicidas comercialmente recomendados para tratamento de sementes de feijoeiro e a inoculação com rizóbio, dois experimentos foram conduzidos em campo, na safra primavera-verão 2012/2013, em Lavras e Lambari, região Sul do Estado de Minas Gerais. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com quatro repetições e esquema fatorial 5x2, envolvendo cinco tratamentos de sementes (fungicidas carboxin + thiram, fludioxonil + metalaxyl-M, fluazinam + thiophanate-methyl, carbendazim + uma testemunha sem fungicida), na presença ou ausência de inoculação com rizóbio. Sementes da cultivar BRSMG Madrepérola foram tratadas com os fungicidas, nas doses recomendadas pelos fabricantes, secadas à sombra por uma hora para só depois receberem a inoculação com a estirpe CIAT 899T de *Rhizobium tropici*. No florescimento pleno (estádio R6) foram avaliados: nodulação (número e massa seca de nódulos), massa seca da parte aérea e teor e acúmulo de nitrogênio (N) na planta. Na maturação (R9) foram avaliados o estande final e o rendimento de grãos e seus componentes primários, além do teor e acúmulo de N no grão. Os rizóbios nativos proporcionam nodulação e rendimento de grãos equivalentes ao da inoculação com a estirpe CIAT 899T. O ambiente teve grande influência sobre as características avaliadas. Dependendo do local de cultivo, o fungicida carboxin + thiram reduziu o estande final de plantas, enquanto que carbendazim propiciou baixo teor de N nos grãos. Apesar disso, independente do local, os fungicidas não influenciaram na nodulação, crescimento vegetal, concentração de N na parte aérea e no grão ou no rendimento de grãos quando aplicados nas doses recomendadas pelos fabricantes. Fonte Financiadora: CAPES (Nº Projeto PNPd 23038007043/2011-55), CAPES (PROEX 590/2014), CNPq e FAPEMIG.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Tratamento químico; *Phaseolus vulgaris* L.

COMPATIBILITY OF *Azospirillum brasilense* INOCULATION UNDER DIFFERENT NITROGEN LEVELS AND MAIZE HYBRIDS

Higo Forlan Amaral, Carlos Vinicius M. dos Santos

UNIFIL, Londrina, Brazil, higo.amaral@unifil.br

Some doubts of *Azospirillum brasilense* efficiency may be related to the incompatibility between the maize hybrid and the bacterium. The objective of this study was to evaluate the compatibility of *A. brasilense* inoculation with reduction in 30% of nitrogen (N) fertilization in different simple hybrids of maize. The experimental design was randomized complete blocks in a factorial 2 X 5, with five replications. Factor one comprised two levels of nitrogen: (i) 100% mineral N was applied but without bacterial inoculation, with 150 kg.ha⁻¹ of urea, divided in 45 kg.ha⁻¹ at sowing date and 105 Kg.ha⁻¹ at fifth true leaf stage (stage V5); and (ii) the maize seeds were inoculated with *A. brasilense* AbV5 and AbV6 (UFPR) strains, at the minimum suspension concentration of 2.10⁸ CFU.mL⁻¹, combined with kg.ha⁻¹ of urea, divided in 31 kg.ha⁻¹ at sowing date and 75 kg.ha⁻¹ at the V5 stage. Factor two had five simple hybrid of maize: (i) DKB 285-Pro, (ii) Formula-TL, (iii) P30F53-YH, (iv) Ag 9010-Pro and (v) Dow 58-PwCore). The treatments means were tested by Tukey 5%. The hybrid P30F53 YH had the highest yield when inoculated with *A. brasilense* with 5,988 kg.ha⁻¹. Without bacterial inoculation but with 100% N fertilization, the yield for this hybrid was 5,120. In the same way, the hybrid Formula-TL produced 5,837 kg.ha⁻¹ and 4,464 for the treatments, respectively. The hybrids DOW 587Pw and Ag 9010 Pro did not show differences in means for both treatments. In contrast, the hybrid DKD 285 ProCore presented lower production when inoculated with *A. brasilense* and received lower N (urea). For this hybrid, the yield was 4,685 kg.ha⁻¹ and 5,730 for the bacterial inoculation and lower N dose and without bacterial inoculation but recommended N dosage (100%) treatments, respectively. The Formula TL hybrid had the highest response to *A. brasilense* inoculation, with 1,373 kg.ha⁻¹ production mean increase, besides an economy of 30% in N fertilization. Apparently, other hybrids did not show compatibility with bacterial inoculation. In the presence of *A. brasilense* and reduction in N dosage, they had reduction of up to 1,044 kg.ha⁻¹ of production. The inoculation of maize seeds with *A. brasilense* may allow a reduction in up to 30% of the N fertilization, but there is a lack between this *A. brasilense* inoculation technology and the maize breeding program, thus, the compatibility of this bacteria and maize production.

Keywords: *Zea mays* (L.); Bacteria; Plant growth.

COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE LA PAPA BAJO INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS NATIVAS Y APLICACIÓN DE ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO

Sergio Eduardo Contreras¹, Luis Luyo Sanchez¹, Doris Zúñiga-Dávila²

¹Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrión, Perú;

²Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, dzuniga@lamolina.edu.pe

Perú es centro de origen de la papa y sus parientes silvestres, por lo que es conveniente desarrollar nuevas tecnologías de manejo agronómico con menor impacto sobre el ecosistema ya que el uso de plaguicidas y fertilizantes químicos en la papa está aumentando en los países en desarrollo. El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento agronómico de la papa cv. Unica bajo inoculación con rizobacterias PGPR aisladas de la rizosfera de la papa y por efecto de la aplicación de ácido acetil salicílico en condiciones de costa. Se evaluó la inoculación de 4 cepas bacterianas: *Bacillus* sp. B13, *Bacillus amyloliquefaciens* Bac 15 Mb, *Azotobacter* sp. Azo 16M2 y *Pantoea* sp. DZ22 así como una dosis de 0,4 mM.L⁻¹ de ácido acetil salicílico como tratamientos promotores del crecimiento frente a un testigo sin inoculación bajo un diseño de bloques completos al azar, en un suelo clase franco arenoso, ligeramente alcalino, bajo contenido de materia orgánica y libre de sales. El clima durante el ensayo presentó una humedad relativa entre 54 y 71%, temperaturas medias entre 13 y 21°C en la localidad de San Vicente de Cañete, Lima (coordenadas UTM 18L3540788550372). Las plantas fueron inoculadas con las cepas bacterianas a la siembra y al momento de la floración y los tratamientos fueron evaluados en parcelas de 40 plantas con 3 repeticiones para varios parámetros fisiológicos y productivos. Los datos se analizaron estadísticamente mediante la prueba de Duncan y procesados con el programa Infostat. La inoculación con la cepa *Azotobacter* sp. Azo 16M2, presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al testigo sin inoculación en cuanto a mayor rendimiento de tubérculos y peso comercial por hectárea y significativamente un menor daño por mosca minadora en relación al control. Asimismo, la aplicación de ácido acetil salicílico presentó mayor porcentaje de inflorescencias ($p < 0,05$) en comparación al control, mientras que entre las cepas bacterianas no se encontraron diferencias estadísticas. Se concluye que la aplicación de inoculantes con la cepa *Azotobacter* sp. Azo 16M2 mejora el comportamiento agronómico de la papa en la variedad comercial Unica, bajo las condiciones subtropicales del valle de Cañete en cuanto a producción de tubérculos, calidad comercial y menor daño por mosca minadora en comparación a plantas no inoculadas.

Palabras clave: Rizobacterias; *Azotobacter* sp.; PGPR; Agroecología.

DESEMPENHO AGRONÔMICO DE MILHO COINOCULADO COM RIZOBACTÉRIAS NATIVAS DE SOLOS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

Amanda Favetta¹, Lucas Mateus Hass¹, Jhonathan Rafael Hartmann Hister¹, Samara Moreira Perissato¹, Jorge Rodrigo Arndt¹, Deisi Navroski², Wekislei Jordi de Souza Coelho¹, Anderson Jose Scherer¹, Marco Antônio Bacellar Barreiros¹, Luciana Grange¹

¹UFPR-Palotina, Palotina, Brasil, favetta.amanda@gmail.com; ²UEL

Uma das alternativas a fim de diminuir a necessidade de adubação nos diferentes sistemas agrícolas é o uso de produtos biológicos a base de microrganismos. Neste sentido, a tecnologia de inoculantes bacterianos vem inovando na elaboração de produtos mistos que consistem em adicionar mais de um microrganismo reconhecidamente benéfico às plantas, visando maximizar a contribuição dos mesmos. Esta técnica chamada de coinoculação vem comprovando vários benefícios principalmente em relação ao aumento de sistemas radiculares. O presente trabalho se propôs a testar estirpes bacterianas nativas isoladas de solos da região Oeste do Paraná co-inoculadas com padrão de *Azospirillum*. O objetivo foi avaliar estes isolados quanto ao potencial biotecnológico como bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) utilizando o milho como planta modelo. As bactérias nativas foram obtidas da coleção do laboratório de biologia do solo da UFPR Setor Palotina. Para condução do experimento utilizou-se garrafas pet tendo como substrato carvão vegetal em pó e areia lavada na proporção 1:1. A adubação foi realizada com solução nutritiva para milho sem a presença de nitrogênio. Os tratamentos foram arranjos utilizando 40 estirpes selecionadas da coleção, uma estirpe padrão de *Azospirillum* e um controle não inoculado. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. Cada planta foi co-inoculada com um 0,5 mL de meio contendo a estirpe nativa mais 0,5 mL de meio com *Azospirillum*. Uma testemunha foi inoculada apenas com *Azospirillum* e a o controle não foi inoculado. Após sessenta dias, as plantas foram retiradas para avaliação dos seguintes aspectos agronômicos: tamanho de parte aérea e radicular; massa fresca e massa seca de parte aérea e sistema radicular. Os valores das médias obtidas para a massa fresca e massa seca, tanto de parte aérea quanto do sistema radicular, não apresentaram diferença significativa para nenhuma das estirpes testadas e nem para as repetições inoculadas somente com *Azospirillum*. Porém, para os valores de comprimento da planta inteira, destacaram três estirpes, promovendo crescimento significativo das plântulas de milho. Outros testes precisam ser conduzidos a fim de confirmar o potencial destas bactérias quanto aos benéficos para o crescimento de plantas, mas com estes resultados, é possível indicar que as estirpes 203, 208 e 493 podem ser candidatas a futuras associações com outros microrganismos.

Palavras-chave: *Azospirillum*; *Enterobacter*; Plantas.

DESEMPENHO SIMBIÓTICO DE RIZÓBIOS DE CAUPI E *Aeschynomene* EM AMENDOIM TRATADO COM FUNGICIDA

Carlos Vergara Torres Junior¹, Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos²,
Karla Emanuelle Campos Araújo¹, Norma Gouvêa Rumjanek³, Gustavo Ribeiro Xavier³

¹UFRRJ, Seropédica, Brasil, vergaramaputo93@gmail.com;

²UFRPE; ³Embrapa Agrobiologia

Estirpes de rizóbio nativas e eficientes na fixação do N₂ atmosférico podem contribuir para aumentar a produção dos grãos e reduzir os custos com os fertilizantes no Brasil. Este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito do fungicida Vitavax®-Thiram na sobrevivência e eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em dois cultivares de amendoim e observar a ocorrência de inoculação cruzada entre estirpe de rizóbio proveniente de nódulos de caupi e de *aeschynomene*. O experimento foi conduzido na casa de vegetação, em vasos de Leonard modificados contendo areia e vermiculita (2/1 v.v) estéril. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com uma testemunha absoluta (sem nitrogênio e não inoculado), uma testemunha nitrogenada (100 mg de N/vaso Leonard), dez tratamentos inoculado com nove isolado de rizóbio nativo da região Nordeste de Brasil em quatro repetições. Foram avaliados os seguintes parâmetros: massa de nódulos secos, massa da parte aérea e de raízes secas. Foi realizada uma comparação das médias de tratamentos utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados mostraram que houve ocorrência de inoculação cruzada; que aplicação do fungicida Vitavax®-Thiram afetou o rendimento de massa seca na cultivar BR-1; e que as estirpes testadas mostraram-se promissoras como inoculantes para amendoim.

Palavras-chave: FBN; *Arachis hypogaea* L.; nodulação cruzada.

EFFECTO DE *Bacillus* sp. EN EL CRECIMIENTO DE PASTURAS ALTO ANDINAS DE AYACUCHO-PERÚ

Nery Luz Santillana Villanueva¹, Alex Tineo Bermúdez¹, Godofredo Mamani Mamani²

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú, nerysantillana@yahoo.es; ²Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA)

El 79% de la superficie de la región de Ayacucho - Perú está conformada por pastos naturales que se encuentran a altitudes por encima de los 3500 msnm, la mayoría de estos suelos, están afectados por la falta de cobertura vegetal, erosión, sobrepastoreo, bajo contenido de nutrientes, entre otros, por lo que urgen las investigaciones relacionadas a resolver los problemas mencionados, es por esta razón que se realizó la presente investigación con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación de *Bacillus* sp. con potencial agrobiotecnológico (producción de ácido indol acético) en pasturas naturales de la comunidad de Ccarhuaccpampa del distrito de Paras, provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho, ubicada a 4200 msnm. Los suelos son franco arcilloso arenoso, pH moderadamente ácido, alto contenido de materia orgánica y nitrógeno, bajo contenido de fósforo y potasio. El experimento se realizó en un área de 75 m² por unidad experimental, utilizando el diseño de Bloques completos al azar, con tres repeticiones. Los tratamientos aplicados fueron, cepa de *Bacillus* sp. (3 Kg ha⁻¹) más abonamiento orgánico, control absoluto, control con abonamiento orgánico (2000 Kg ha⁻¹) y control con fertilización química (150-200-150) utilizando nitrato de amonio, superfosfato triple y sulfato de potasio como fuente de nitrógeno, fósforo y potasio respectivamente. La aplicación de *Bacillus* incrementó en 87% el peso verde de las pasturas evaluadas y en 69% el rendimiento de materia seca, en relación al control absoluto. El control con abonamiento orgánico incrementó 41% en materia verde y 27% en materia seca, mientras que la fertilización química, en 53% y 42% respectivamente. La pendiente del terreno, posiblemente ha influido en los resultados obtenidos con la fertilización química. Se ha demostrado que el uso de *Bacillus* sp. puede ser una alternativa para mejorar el crecimiento de las pasturas de Ccarhuaccpampa – Ayacucho – Perú. Financiamiento: Investigación financiada por el Fondo de Desarrollo Socioeconómico de Camisea (FOCAM) de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho - Perú.

Palabras clave: Inoculación; Fertilización química; Abono orgánico.

EFFECTO DE LA COINOCULACION CON RIZOBIOS Y BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN LA NODULACIÓN TEMPRANA EN LENTEJA

Maurine Sepúlveda-Caamaño, Macarena Gerding, Marisol Vargas, Ernesto Moya

Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción,
Chillán, Chile, maurinesepulveda@udec.cl

La lenteja (*Lens culinaris* L.) es una leguminosa fijadora de nitrógeno atmosférico, que se asocia simbióticamente a *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. En Chile, se cultiva generalmente en la zona mediterránea, donde está sometida a condiciones de estrés como baja fertilidad y erosión de los suelos, y escasez hídrica, lo cual provoca una menor sobrevivencia del rizobio y una disminución de la nodulación radicular. Las bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) pueden mejorar la nodulación, a través de la biosíntesis de hormonas y enzimas, al aumentar la emisión de pelos radiculares y disminuyendo los niveles de etileno a través de la síntesis de la enzima aminociclopropano deaminasa (ACC deaminasa). De esta manera, las PGPRs les dan a los rizobios, mayores oportunidades de penetración y formación de nódulos, mejorando a la vez, la tolerancia de la planta a estrés biótico y abiótico. El objetivo de esta investigación fue aislar, seleccionar y evaluar bacterias rizosféricas con potencial de promoción de crecimiento, de nodulación y de tolerancia a estrés para plantas de lentejas. Se aisló PGPR asociadas a lenteja desde 9 sitios de la región del BioBío, Chile Central. Los aislados fueron identificados a nivel de cepa por RAPD-PCR con el partidor Box1 y a nivel de especie por medio de secuenciación de 16s rRNA. Se evaluó la producción de ácido indolacético (AIA) por parte de las cepas y la capacidad de síntesis de ACC deaminasa. Las cepas de PGPRs seleccionadas fueron inoculadas en plantas de lenteja, juntos con el rizobio apropiado, en sobres de germinación, para evaluar la aparición de nódulos en el tiempo y el número total. De los sitios prospectados se obtuvieron 68 aislados, determinándose 62 cepas genéticamente distintas. A partir de estas cepas se seleccionaron diez, por tener una mayor producción de AIA y por sintetizar la enzima ACC deaminasa. Las diez PGPR fueron identificadas como diferentes especies del género *Pseudomonas*. De éstas, sólo la cepa AG-77 incrementó significativamente el número total de nódulos y tuvo un efecto positivo en la tasa de aparición de éstos. Esto podría atribuirse a la enzima ACC deaminasa que disminuye los niveles del etileno promoviendo la nodulación y al AIA bacteriano que estimula formación de raicillas. En conclusión, *Pseudomonas* AG-77 aislada desde suelos de la zona mediterránea de Chile, promueve la nodulación inicial y el número total de nódulos en lenteja. Este proyecto fue financiado por FONDECYT 11130479.

Palabras clave: PGPR; *Lens culinaris*; ACC deaminasa.

EFFECTO DE RIZOBIOS EN EL CULTIVO DE FRIJOL VAR. RED KIDNEY EN UN SISTEMA INTERCALADO CAFÉ-FRIJOL EN LA SELVA ALTA DEL PERÚ

Jesús Lirio-Paredes, Katty Ogata-Gutiérrez, Carolina Chumpitaz-Segovia,
Francis Ochoa-Acevedo, Doris Zúñiga-Dávila

Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, jesus_cpa@hotmail.com

Los suelos de la selva alta del Perú se encuentran en un constante proceso de erosión favorecido por las excesivas precipitaciones y la topografía accidentada, por lo que se requiere alternativas de recuperación en el menor tiempo posible, siendo el cultivo de leguminosas una opción importante. En el caso de leguminosas de bajo porte, tales como el frijol, el trébol y la alfalfa; las tendencias actuales de cultivo apuntan al empleo de éstas asociadas a rizobios en cultivos intercalados y de rotación. Siendo el frijol Red Kidney una leguminosa bien adaptada a condiciones tropicales, pudiendo desarrollarse fácilmente en el clima de la selva alta peruana. La inoculación del frijol con rizobios autóctonos y altamente eficientes puede mejorar la calidad del suelo, disminuir la erosión del mismo, potenciar la fijación de nitrógeno y mejorar la productividad de otros cultivos aledaños como el café. Por tanto, esta investigación tuvo como objetivo estudiar el efecto de rizobios nativos de suelos cafetaleros en el crecimiento del frijol var. Red Kidney. Con este fin, se realizó el aislamiento de rizobios a partir de suelos de café, usando como planta trampa, frijol var. Red Kidney. Se hicieron pruebas de solubilización de fosfatos, expresándolos en términos de eficiencia relativa de solubilización. Seguidamente se realizó la autenticación de los aislamientos, sembrando las semillas pregerminadas de frijol en tubos de ensayo. Por último, se llevó a cabo la siembra de semillas en campo dentro de un sistema intercalado con café, siendo previamente inoculadas con un rizobio seleccionado. De un total de 22 cepas aisladas, la mayoría presentó capacidad de solubilizar fosfatos, destacando la RZC10 como la cepa con mayor eficiencia de solubilización (40%). En la evaluación de la autenticación se hallaron nódulos en todos los tratamientos inoculados, resaltando la cepa RZC12 con una mayor cantidad de nódulos efectivos en las plantas inoculadas con dicha cepa. Este rizobio demostró también su capacidad de promoción de crecimiento vegetal en campo; presentando diferencias significativas con respecto al testigo sin inocular, observándose un promedio de 22 nódulos efectivos por planta, mientras que el control presentó menos de 3. También, las plantas inoculadas fueron superiores al control en 72.7%, 58.8%, 84.5% y 82,5% correspondientes a los parámetros de longitud aérea, número de trifolios, peso fresco y peso seco, respectivamente. Se concluye entonces que RZC12 es un rizobio que podría ser empleado en campo para mejorar la productividad del frijol var. Red Kidney. Financiado por Junta Nacional del Café, FONDECYT 145-2014.

Palabras claves: Nodulación; Cultivo intercalado; Solubilización de fosfatos.

EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE TRIGO

Brenda Luiza Graczyki, Caroline de Jesus Coelho, Fabiane Paulitsch, Leandro Datola Tullio, Rodrigo Rodrigues Matiello, Eduardo Fávero Caires, Jesiane Stefania da Silva Batista

UEPG, Ponta Grossa, Brasil, be.luiza@hotmail.com

O nitrogênio (N), em razão de suas funções no metabolismo das plantas, é o nutriente que mais limita a produção vegetal. A cultura do trigo é altamente exigente em N, sendo este macroelemento fundamental na determinação do número de afilhos/perfilhos e na fase de formação dos nós no início do alongamento. A fixação biológica de N em Poáceas é um dos processos mais estudados na biologia do solo, visando o aumento na produtividade como também melhoria na qualidade dos grãos. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* sobre as características agronômicas de genótipos melhorados de trigo em condições de campo, na presença de adubação nitrogenada (base e cobertura). O experimento foi instalado no delineamento de blocos casualizados com 3 repetições e os tratamentos foram dispostos em esquema de parcela subdividida. Na parcela principal foi estudado o efeito da inoculação com *A. brasilense* (inoculado e não inoculado) e nas subparcelas o efeito de genótipos de trigo (18 linhagens da UEPG e 2 cultivares comerciais testemunhas, Safira® e Quartzo®), com densidade de semeadura de 350 plantas aptas por m². O isolado da estirpe AbV5 foi crescido em meio de cultura líquido DYGS e a concentração do inóculo previamente determinada por diluição seriada e contagem das UFCs em meio RC. As sementes dos genótipos de trigo foram inoculadas antecedendo o período de semeadura em 24 horas, na concentração de 108 UFCs mL⁻¹, seguindo as recomendações técnicas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A adubação nitrogenada foi realizada em duas épocas, sendo a 1ª na semeadura (42 kg ha⁻¹) e a 2ª em cobertura no estágio de perfilhamento da cultura (75 kg ha⁻¹). Às avaliações dos genótipos de trigo foram realizadas cronologicamente para as características: número de perfilhos, ciclo vegetativo, ciclo reprodutivo, número de espigas viáveis por m², massa de mil grãos, peso do hectolitro e rendimento de grãos. Os resultados da análise de variância não demonstraram diferenças significativas para as fontes de variação inoculação de *A. brasilense* e da interação inoculação x genótipos de trigo para nenhuma das variáveis analisadas. Apenas diferenças estatísticas foram evidenciadas entre os diferentes genótipos de trigo estudados. Podemos hipotetizar que a obtenção de resultados mais promissores quanto ao uso de bactérias diazotróficas na cultura do trigo pode estar condicionada à aplicação de menores doses de N, permitindo assim, captar o efeito positivo da interação planta-bactéria, possibilitando a redução dos custos com a adubação nitrogenada, impacto ambiental e a manutenção da produtividade da cultura.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Rendimento de grãos; Caracteres agronômicos.

EFEITO DA INOCULAÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS NO CRESCIMENTO DO MILHO (*Zea mays*) CULTIVADO EM DIFERENTES PHS

Venícios Vieira Gabre, Breno Augusto Moraes, Helio Antonio Wood Joris, Letícia Reis, Angelo Rafael Bini, Eduardo Favero Caires, Carolina Weigert Galvão, Ricardo Antônio Ayub, Lucia Satomi Hirooka, Rafael Mazer Etto

UEPG, Ponta Grossa, Brasil, veniciosvieira@gmail.com

O milho é o cereal de maior importância no mundo e o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, tendo o Estado do Paraná como o segundo maior produtor desse cereal. Para aumentar a produção agrícola, reduzir o impacto ambiental e diminuir os custos da produção, o emprego de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) como biofertilizante é visto como uma alternativa promissora. O presente trabalho teve como objetivo investigar a resposta do milho à inoculação de diferentes bactérias em variados pHs do solo. O milho (*Zea mays* variedade BG-706H) foi cultivado em casa de vegetação por 47 dias em vasos de 8 dm³ contendo Cambissolo Háplico, previamente coletado em campo nativo, peneirado, adicionado uma dose básica de (N, P, K, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn) e corrigido o seu nível de acidez a partir da adição de três doses diferentes de calcário para gerar o gradiente de pH. As análises físico-químicas do solo e os ajustes dos pH foram realizados pelo Laboratório de Fertilidade do Solo da UEPG. Para os tratamentos, foi aplicado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 7, sendo quatro níveis de acidez (3,7; 4,5; 5,7; 6,2) e sete condições de inoculação: (I) sem nitrogênio e sem inoculação; (II) com nitrogênio em cobertura (1,754 gramas de ureia/vaso) e sem inoculação; sem nitrogênio e inoculação de (III) *Azospirillum brasilense* AbV5/ AbV6; (IV) *Agrobacterium* sp. C7D; (V) *Pseudomonas* sp. H2D; (VI) *Burkholderia* sp. 5V3; (VII) *Bacillus* sp. 5N4. As bactérias do tratamento III são BPCV comerciais e as demais, são potenciais BPCV isoladas no Laboratório de Biologia Molecular Microbiana da UEPG. Durante o crescimento do milho, foram coletados dados biométricos de altura e espessura do colmo e ao final do experimento foram coletados também dados de peso de massa fresca da parte aérea e raízes; peso de massa seca da parte aérea e raízes; dados de taxa fotossintética, condutância estomática, concentração de CO₂ interno e transpiração. O milho inoculado com *Burkholderia* sp. 5V3 (tratamento VI) destacou-se por apresentar valores de altura das plantas e de massa fresca da parte aérea significativamente maiores que os obtidos com o inoculante comercial (tratamento III) (Tukey, p<0,05). O milho cultivado em pH 6,2 e inoculado com *Agrobacterium* sp. C7D (tratamento IV) apresentou um aumento significativo na altura da planta (Tukey, p<0,05) quando comparado com o milho não inoculado (tratamento I). Os resultados confirmam o potencial dos gêneros *Burkholderia* sp. e *Agrobacterium* sp. na promoção do crescimento vegetal. Diante do interesse e da necessidade de novos e eficientes biofertilizantes para gramíneas análises a campo e ensaios de co-inoculação serão realizados.

Palavras-chave: BPCV; Inoculantes; Biotecnologia.

EFEITOS AGRONÔMICOS DA CO-INOCULÇÃO COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum* *brasilense* NA CULTURA DA SOJA

Vagner Zuconelli¹, Cristiano Martinotto¹, Jeferson H. Hendges¹, Willian Zuconelli²,
Marcos J. R. Matias¹, Wellinton L. Figueredo¹, Leandro S. de Oliveira¹

¹IFMT, Campo Verde, MT, Brasil, vagner_zuconelli@hotmail.com; ²UNEMAT

O uso de microrganismos simbióticos e promotores de crescimento de planta, assim como micronutrientes mostra-se como uma alternativa promissora, principalmente para melhorar a eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* e cobalto e molibdênio, submetidos de forma isolada e mista na cultura da soja. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições e dez tratamentos. Os tratamentos foram T1: testemunha; T2: Power Seed New® (Cobalto e Molibdênio); T3: Brasilec Tas On-Farm® (*Bradyrhizobium japonicum*); T4: Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop® (*Azospirillum brasilense*); T5: Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop® em V3; T6: Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop® em V4; T7: Power Seed New® + Brasilec Tas On-Farm®; T8: Power Seed New® + Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop®; T9: Power Seed New® + Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop® em V3; T10: Power Seed New® + Brasilec Tas On-Farm® + Grammy Crop® em V4. As parcelas experimentais foram constituídas por quatro linhas de 4 m de comprimento, com espaçamento de 0,50 m. Os resultados avaliados demonstraram que não houve diferença significativa dos tratamentos para número de nódulos por planta, massa seca dos nódulos, raiz e parte aérea, porém influenciaram significativamente a massa de mil grãos e a produtividade. Para a massa de mil grãos, o melhor tratamento foi Power Seed New® aplicado isoladamente apresentando média de 134,65 g e 23,8 g superior em relação à testemunha. As melhores médias de produtividade de grãos foram atingidas com a utilização dos tratamentos Brasilec Tas On-Farm® + Power Seed New® + Grammy Crop® aplicado nos estádios fenológicos V3 e V4 respectivamente. Quando aplicado no estágio V3 aumentou a produtividade em média 131 kg ha⁻¹ (2,1 sacas) e no estágio V4 acrescentou em média 191 kg ha⁻¹ (3,1 sacas) em relação ao tratamento inoculado com *Bradyrhizobium japonicum*. Esses resultados confirmam a importância e a eficiência agrônoma da inoculação da soja com *Bradyrhizobium japonicum* e também da efetividade de produtos que contenham os micronutrientes cobalto e molibdênio juntamente com aplicações foliares de *Azospirillum brasilense* para aumentar a produtividade da cultura da soja.

Palavras-chave: *Glycine max* L.; FBN; Produtividade.

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE SUELOS URUGUAYOS RESPECTO A LA FITODISPONIBILIDAD DE FÓSFORO

Silvia Garaycochea, Nora Altier

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Rincón del Colorado,
Uruguay, sgaraycochea@inia.org.uy

Los microorganismos del suelo son parte integral del ciclo del fósforo (P), mediando la disponibilidad de este elemento para las plantas. Se prevé que en dos décadas, las fuentes de P de alta calidad (rocas fosfatadas) sean un recurso restrictivo, lo cual se suma a los altos costos de los fertilizantes. Los países de América del Sur importan más de 70% del P necesario para la actividad agrícola. Esto justifica la necesidad de desarrollar sistemas de producción más eficientes en el uso de P, y la utilización de microorganismos para incrementar la disponibilidad de este nutriente es una estrategia atractiva para tal propósito. Los métodos independientes de cultivo permiten comprender la diversidad genética, estructura poblacional y rol ecológico de los microorganismos en un determinado ambiente; especialmente en ecosistemas complejos como el suelo, que contiene la mayor diversidad de microorganismos en la tierra. Los objetivos de este trabajo son evaluar la diversidad microbiana existente en suelos formados sobre materiales madre contrastantes y representativos de diferentes regiones de Uruguay, sin historia de fertilización ni laboreo y prospectar genes funcionales en la movilización de P en dichos suelos. Para ello se seleccionaron 5 sitios representativos de las regiones de basamento cristalino, lavas basálticas, limos terciarios y areniscas triásicas y se caracterizaron por sus propiedades físicas y químicas. Se observó un amplio rango en el contenido de P total, desde 150 ppm en los suelos más pobres (luvisoles sobre areniscas triásicas) hasta 700 ppm (brunsoles sobre limos terciarios). En el contenido de P disponible, independiente del contenido de P total del suelo, se observó un rango más reducido, de 1 a 40 ppm. El porcentaje en el contenido de P orgánico varió entre 49 - 75% del P total del suelo, indicando la importancia de la fracción de origen orgánico en los suelos seleccionados. Los valores determinados de densidad aparente, uno de los parámetros que influyen en la estructura de las comunidades de microorganismos, oscilaron entre 1,5 g/cm³ (suelos sobre areniscas triásicas) y 0,07 g/cm³ (suelos superficiales sobre lavas basálticas). El uso de técnicas de secuenciación masiva del fragmento 16S rDNA nos permite describir las diferentes comunidades de microorganismos y establecer las relaciones con las propiedades físicas y químicas particulares de cada suelo. Los perfiles obtenidos dan cuenta de una diversidad microbiana influenciada por las características del sitio. A futuro se profundizará en las vías metabólicas involucradas en el proceso de movilización del P, poniendo especial énfasis en las enzimas fitasas relacionadas a la mineralización del P orgánico.

Palabras clave: Fósforo; Metagenómica; Suelo.

EVALUACIÓN DEL COSTE DE OPORTUNIDAD DEL USO DE BIOFERTILIZANTES: ESTUDIO DE ESCENARIOS EN REPÚBLICA DOMINICANA

Beatriz Urbano¹, César Antonio Díaz Alcántara², Iris Esther Marcano³, Juan de la Cruz Araujo³, Felipe Vicioso³, Ángel Pimentel³, Arsenio Terrón⁴, Fernando González-Andrés⁴

¹Universidad de Valladolid, Palencia, España, beaturb@iaf.uva.es;

²Universidad de Santo Domingo; ³UASD; ⁴Universidad de León

El uso de biofertilizantes presenta beneficios como la mejora del rendimiento del cultivo a bajo coste, no contaminar el medio ambiente, no presentar toxicidad residual en el producto y asegurar un mejor estado fitosanitario del cultivo, entre otros. Para la implementación del uso de los biofertilizantes se requiere del desarrollo de tecnología adaptada a las condiciones sur-sur. En este sentido, el trabajo presentado tuvo por objeto analizar escenarios de coste-beneficio en la transferencia para el desarrollo y la utilización de biofertilizantes en el contexto de República Dominicana. La metodología empleada fue un análisis de sensibilidad que permitió la evaluación económica, social y ambiental en el uso de biofertilizantes basados en microorganismos autóctonos, para su utilización en cultivos importantes para República Dominicana. Para ello se consideró el coste de implantación de la tecnología adecuada en las condiciones de la República Dominicana, pago de la inversión, y los flujos de caja generados en el uso de los biofertilizantes en cultivos de interés en la República Dominicana. El coste de oportunidad del uso de biofertilizantes se calculó como las unidades de fertilizantes sustitutivos que se han dejado de emplear para obtener los rendimientos esperados, y como el incremento de rendimiento observado. Para el cálculo del coste de oportunidad se tuvo en cuenta las experiencias desarrolladas en los cultivos de interés de la República Dominicana. En la definición de los escenarios se han considerado bacterias autóctonas y rendimientos esperados en los cultivos de la zona. Los resultados se expresaron en oportunidades de sostenibilidad i) económica, como unidades monetarias ahorradas o incremento del rendimiento económico ii) social, como mano de obra empleada y iii) ambiental, como emisiones de CO₂ evitado. Entre las conclusiones se obtuvo que es necesario adaptar la tecnología a las condiciones de la región, el desarrollo de la industria de los equipamientos que permita reducir los costes de inversión y avanzar en la curva de experiencia en todas las fases de puesta en marcha y manejo que aumenten la relación beneficio/inversión. Desde el punto de vista social, se necesita la adopción de todos los grupos de interés de esta nueva tecnología y capacitación en el manejo de estas prácticas respetuosas con el medio ambiente.

Palabras clave: Coste-beneficio; Sostenibilidad; Biofertilizantes.

INCREMENTO DE LA PRODUCTIVIDAD EN EL CULTIVO DE SOJA EN URUGUAY: EFICIENCIA SIMBIÓTICA Y COMPETENCIA DE *Bradyrhizobium* spp.

Andrea Rodríguez Blanco¹, Elena Beyhaut², Adriana Montañez³,
Marco Martino⁴, Hugo Luizzi³, Margarita Sicardi³

¹Microbiología, Facultad de Agronomía, UdelaR, Montevideo, Uruguay, andrearb@fagro.edu.uy; ²Microbiología del Suelo, INIA Las Brujas; ³Microbiología de Suelos, IECA, Facultad de Ciencia; ⁴Empresa El Cimarrau

La soja (*Glycine max* [L.] Merr) es el principal cultivo de grano en Uruguay con 1.3 millones de ha sembradas y un rendimiento medio de 2.3 t/ha. Se siembran numerosas variedades inoculadas (100%) con *Bradyrhizobium elkanii* (U1301+U1302) de alta calidad. Últimamente hay un marcado interés en evaluar nuevos genotipos promisorios y cepas de *Bradyrhizobium* spp. de alta eficiencia usadas en la región. El objetivo fue obtener un incremento significativo en la productividad de soja, determinando la eficiencia simbiótica y capacidad competitiva de nuevos pares simbióticos. Se instaló una red de ensayos en 2 zonas contrastantes, litoral-oeste y noroeste del país, en cada una de ellas se seleccionaron 2 sitios con y sin antecedentes de soja. Se evaluaron 2 variedades IGRA510 e IGRA645TR inoculadas con U1301+U1302 y con *B. japonicum* cepas SEMIA5080 y E109 usadas en inoculantes regionales. Se determinó: nodulación, eficiencia-simbiótica (biomasa aérea seca/pl.), rendimiento (kg/ha) y peso de 1000 granos (g/pl.), % de N derivado de la atmósfera (%N_{dda}) por abundancia natural ¹⁵N, capacidad competitiva y presencia de cepas naturalizadas por rep-PCR. Una fuerte sequía afectó la nodulación y las variedades no mostraron diferencias significativas en biomasa aérea/pl a los 90 días post siembra entre los tratamientos inoculados independientemente del sitio, excepto IGRA510 en el suelo del noreste sin historia. En ambas variedades los rendimientos fueron significativamente más altos en los tratamientos inoculados en los suelos con historia que en los sin historia, 3100 y 2500 kg/ha respectivamente. Hubo diferencias significativas en rendimiento entre las cepas según la variedad y el sitio. Los valores más altos de %N_{dda} se obtuvieron con U1301+U1302 en el litoral oeste con historia (42% en IGRA510 y 46% en IGRA645TR). El control sin inocular en suelos con antecedentes de soja y alto aporte de N mineral (litoral oeste), presentó valores medios de 36% N_{dda} en ambas variedades, demostrando la sobrevivencia de cepas provenientes de inoculaciones anteriores. De los 4 suelos se aislaron 14 cepas de *Bradyrhizobium* spp. genéticamente diferentes a las usadas en inoculaciones previas. Se recuperó de los nódulos en mayor porcentaje la cepa U1301 que U1302 basado en perfiles genéticos. Este trabajo realiza estimaciones del aporte de la FBN al cultivo de soja en cuatro suelos y dos variedades, y contribuye con nuevo germoplasma de *Bradyrhizobium* spp. proveniente de los aislamientos realizados. Financiación: Proyecto ALI_1_2011_1_2601. ANII-Uruguay.

Palabras clave: Inoculantes de leguminosas; FBN; ¹⁵N.

INFLUENCIA DE REINOCULAÇÕES COMPLEMENTARES EM COBERTURA NA NODULAÇÃO DE *Bradyrhizobium* spp. NA CULTURA DA SOJA

Luiz Gustavo Moretti de Souza¹, Edson Lazarini¹, Mariangela Hungria², João William Bossolani¹, Tiago de Lisboa Parente¹, Sheila Caioni¹, Eric Hiroki Saito¹, Bruno Fiorin Zaninetti¹, Adalberto Amador Rezende Filho¹, Izabela Rodrigues Sanches¹

¹UNESP - Ilha Solteira, Ilha Solteira, Brasil, souzamoretti@gmail.com; ²Embrapa Soja

Simbioses, da mesma forma que a maioria das interações patogênicas, são caracterizadas pela complexidade e especificidade. Esses processos são de enorme importância para a produtividade global na agricultura e fornecem modelos para estudos fundamentais dos sistemas da planta e do microrganismo. Desta forma o presente trabalho objetivou-se estudar o efeito de reinoculações complementares em cobertura na nodulação, características agrônômicas e produtividade na cultura da soja. O trabalho foi conduzido em área experimental na Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão da Unesp – Campus Ilha Solteira. O delineamento experimental constituiu-se de blocos ao acaso, com 8 tratamentos de inoculação [controle, controle + 200 kg N ha⁻¹, inoculação via semente (IVS), IVS + estágio V1, IVS + estágio V5, IVS + estágio R1, IVS + estágio R3, IVS + estágio R5], com 6 repetições. A cultura da soja foi semeada no dia 19/11/2014, utilizando a variedade BRS Valiosa RR, em espaçamentos de 0,45 m entre linhas. A formulação do fertilizante no sulco de semeadura utilizado foi á 00-20-20 aplicando-se 300 kg ha⁻¹. Para as inoculações via semente foi utilizado o inoculante turfoso contendo as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080. A dose recomendada foi de 6 g por kg⁻¹ de semente (1,2 milhões de células semente⁻¹), adicionando com solução açucarada a 10%. Foi aplicado em pulverização foliar em área total em ocasião do estágio V4, 20 g Mo e 2 g de Co ha⁻¹. No tratamento controle + 200 kg ha⁻¹ de N (fonte: ureia), foi realizado parcelamento da dose total. Para as pulverizações do inoculante em cobertura utilizou-se 300 ml ha⁻¹ do inoculante líquido (7x 10⁻⁹ UFC ml⁻¹) em volume de calda de 150 l ha⁻¹, as aplicações foram realizadas com pulverizador costal, e procurou-se fazer a aplicação direcionando o jato ao solo. A colheita ocorreu aos 130 DAE. A simbiose bactéria/planta foi responsiva as inoculações em cobertura, no qual, nas coletas de raízes para avaliação de número de nódulos em V4, R2 e R4, os 2 tratamentos sem inoculação foram inferiores e diferiram estatisticamente dos 6 tratamentos que tiveram algum tipo de inoculação. Ressalta-se, que em final de ciclo (ultima coleta - R6), os 5 tratamentos que tiveram pulverizações em cobertura (média geral = 44 nódulos por planta) foram superiores aos 3 tratamentos que não tiveram pulverizações (média geral = 25 nódulos por planta). A massa de 100 grãos e produtividade de grãos foi influenciada em função da inoculação ou não. E dentro dos tratamentos de reinoculações em cobertura verifica-se acréscimo produtivo em relação ao tratamento padrão (apenas via semente). As reinoculações complementares em cobertura proporcionaram acréscimo na nodulação e produtividade na cultura da soja.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas; Fixação biológica de N; Glycine max (L.) Merril.

INHIBICIÓN DE LA GERMINACIÓN DE UREDINIOSPORAS DE *Hemileia vastatrix* USANDO BACTERIAS DE LA FILÓSFERA DEL CAFÉ

Katty Ogata-Gutiérrez, Carolina Chumpitaz-Segovia, Jesús Lirio-Paredes,
Francis Ochoa-Acevedo, Miriam Memenza-Zegarra, Doris Zúñiga-Dávila

Unviersidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, dzuniga@lamolina.edu.pe

El café es uno de los cultivos más importantes en el Perú ya que es valorado mundialmente por su calidad de grano debido a sus características organolépticas. La presencia de diversas enfermedades constituye uno de los factores limitantes en su producción. Las bacterias de la filósfera, abarcan un gran número de especies, siendo capaces de inhibir el desarrollo de patógenos. Este trabajo tiene como objetivo aislar bacterias epífitas de la filósfera de tres variedades de *Coffea arábica* con potencial acción biocontroladora contra *Hemileia vastatrix* a nivel in vitro. Con este fin, se recolectaron muestras de hojas de Caturra Roja, Típica y Catimor, cuantificándose la población bacteriana epífita presente mediante el lavado de las hojas en buffer fosfato. Se utilizó el hongo *Mycena citricolor*, como tamiz para determinar la capacidad antagonica de las cepas aisladas, siendo las mejores cepas, caracterizadas molecularmente utilizando el gen del RNAr 16S. Las muestras sintomáticas de Típica presentaron una mayor población microbiana de aerobios viables (52×10^9 UFC.ml⁻¹), mientras que las de Catimor presentaron una mayor cantidad de bacterias esporogénicas. Se aislaron un total de 71 cepas epífitas, con una amplia diversidad cultural en forma y coloración. Se evaluó la actividad antagonica de las cepas frente a *M. citricolor*, encontrándose que 14 cepas lograron inhibir el crecimiento del patógeno con valores superiores al 33%, siendo las cepas CSFLT4 y CSFLT5 las que presentaron los mayores valores (44%). Del análisis molecular se observó que 9 cepas se relacionaron con *Achromobacter insuavis*, 2 (CSFLT7 y CSFLT6) con *Luteibacter anthropi*, CRRFLT5 con *Rhodococcus cercidiphylli*, TRFLT8 con *A. marplatensis* y CRRFLT7 con *Pseudomonas parafulva*. Presentado todas ellas identidades mayores a 98.7%. Se calculó el porcentaje de inhibición de urediniosporas de las especies identificadas. Cinco de las cepas fueron capaces de inhibir la germinación de las urediniosporas en comparación al control sin inocular, siendo las cepas CRRFLT7 y TRFLT8 las que lograron una inhibición similar al tratamiento químico (91%). Se ha reportado que *Achromobacter* sp. es capaz de inhibir el crecimiento micelial de fitopatógenos como *Fusarium* mediante la producción de compuestos orgánicos volátiles. Otros estudios señalan a *Pseudomonas putida* como inhibidoras de la germinación de *H. vastatrix*. En este trabajo se pudo determinar la existencia de bacterias con capacidad antagonica contra *M. citricolor*, y *H. vastatrix* a nivel in vitro. Estos resultados son promisorios en el control biológico no sólo de la roya amarilla del cafeto, sino de otras enfermedades ocasionadas por otros hongos. Financiado por Fondecyt 145-2014.

Palabras clave: Filósfera; Roya amarilla de cafeto; Control biológico.

INOCULACIÓN DE *Pisum sativum* (L.) CON RIZOBIOS NATIVOS SELECCIONADOS

Carlos Fabián Piccinetti¹, Gabriel Prieto¹, Daniela Vallejos¹,
Guillermo Maroniche², Alejandro Peticari¹

¹INTA, Argentina, lejandro@inta.gob.ar; ²CONICET

El cultivo de arveja (*Pisum sativum*, L.) es tradicional en el cinturón productivo del “gran Rosario” (Santa Fe, Argentina), es una legumbre de granos de importancia económica regional y de crecimiento invernal y como es una leguminosa se asocia con rizobios para obtener N₂ a través de la FBN (Fijación Biológica de Nitrógeno). La información disponible nos indica que con la inoculación se mejoran las condiciones productivas del cultivo, sin embargo no hay información de cuáles son las cepas recomendables para arveja comercial con las variedades disponibles actualmente. Con este objetivo, fueron realizados ensayos en invernáculo y en campo con cepas pertenecientes a la colección BPCV-INTA IMYZA. Las cepas fueron obtenidas de nódulos de raíces de *Vicia faba* (D70) *Vicia sativa* (D156) y de *Lens culinaris* (D191). Se realizó una caracterización de las cepas para diferenciarlas mediante las reacciones de PCR con primers específicos BOX y para determinar género y especie por amplificación del ADN_r 16S, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y luego se comparó las secuencias obtenidas con las disponibles en el banco de datos de secuencias. Los inoculantes utilizados fueron preparados por crecimiento en medio YEM e impregnados en base turba empleando para inocular la dosis de 3 g.kg de semilla⁻¹ con un título de 5.10⁸ ufc.g de inoculante⁻¹. En los ensayos fueron evaluadas las cepas descriptas respecto a 2 variedades comerciales de arveja (Facón y Vipper). En invernáculo se utilizó sustrato inerte estéril regado con solución nutritiva sin N. Se evaluó biomasa de nódulos (bn) y peso individual (pin) 42 y 63 días después de la siembra (dds), biomasa aérea a cosecha (bac) y rendimiento de granos (rg). El ensayo de campo se realizó en la localidad Rueda, Santa Fé y se determinó bac y rg. Los resultados del análisis de las cepas indica que los tres aislamientos, según la secuencia obtenida, se corresponden con *Rhizobium leguminosarum* y sus secuencias están siendo depositadas en el banco de datos. En invernáculo la cepa D70 fue la de mejor respuesta observada en bac, bn y en pin. En rg se destacaron D 156 y D 70. En condiciones de campo la cepa D191 fue la más productiva en bac y en rg. No hay diferencias significativas entre las cepas D 70 y D 191 en el campo. El análisis conjunto de todos los resultados obtenidos hasta el presente, muestra que la cepa D70 dada la respuesta homogénea observada en todos los parámetros evaluados en invernáculo y campo sería la cepa recomendable para inocular arveja hasta el presente. En cambio D 156 y D 191 variaron sus respuestas según la condición de evaluación. Se deben confirmar estos resultados con los aportes de N desde la FBN en condiciones productivas.

Palabras clave: *Rhizobium*; Cepa; Arveja.

NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE FEIJÃO-CAUPI SUBMETIDO À INOCULAÇÃO, CALAGEM E DOSES DE FÓSFORO EM SOLO DO RIO DE JANEIRO

Fernanda Santana de Paulo¹, Sumaya Mário Nosoline², Elson Barbosa da Silva Júnior³,
Jerri Édson Zilli⁴, Gustavo Ribeiro Xavier⁴

¹UFRRJ, Seropédica, Brasil, nandasibylla@yahoo.com.br; ²UENF; ³Multivix/CEIER;

⁴Embrapa Agrobiologia

Estabelecer um elo econômico e ambiental é um dos desafios do novo século, porém existem fatores determinantes que vão limitar a produção agrícola, dentre eles o manejo inadequado da adubação. Neste contexto, a deficiência de P é um dos principais limitantes, tendo impacto negativo na FBN (SÁ & ISRAEL, 1991). Logo, o objetivo deste trabalho foi obter uma dose adequada de P, que quando associada calagem, adubação molibdica e inoculação em substituição à adubação nitrogenada, otimizem a nodulação, o crescimento e desenvolvimento de plantas de feijão-caupi em solo oriundo de agricultura de base familiar em Cachoeiras de Macacu (RJ). Nos tratamentos com calagem, o solo foi corrigido com a aplicação de 1600 kg ha⁻¹ de calcário para elevação da saturação por bases. O experimento foi realizado em condições de campo, implantado em delineamento experimental em blocos ao acaso, esquema fatorial 2 x 5 (ausência e presença de calcário; doses de P205) e 4 repetições, todos os tratamentos continham aplicação molibdica, equivalente a 32 g ha⁻¹ (cuja fonte foi molibdato de amônio). Testaram-se as doses de fósforo 0, 100, 200 e 300 kg ha⁻¹ e todos os tratamentos foram inoculados com a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. 3262 (ZILLI, 2009). Utilizou-se a cultivar BRS Guariba. As variáveis analisadas foram: massa de nódulos secos (MNS), número de nódulos (NN), massa da parte aérea seca (MPAS) e massa da raiz seca (MRS). Houve efeito para doses de P205 isoladamente e em conjunto (interação doses de P205 e calcário) e para o modelo quadrático de ajuste de regressão para todas as variáveis analisadas. A dose equivalente a 200 kg ha⁻¹ de P205, associada à calagem foi a que proporcionou maior acúmulo de biomassa da parte aérea, nodulação (número e massa de nódulos secos) promovendo aumento no número de nódulos (62% em relação à testemunha) e massa da raiz seca, demonstrando alta eficiência nas práticas de adubação e inoculação nesse solo de baixa fertilidade, oriundo de latossolo distrófico com alta saturação de Al. Isso infere que eficiência do processo de fixação do N₂ também é dependente da disponibilidade de P devido a sua participação no processo simbiótico e foi comprovado na variável nodulação, já que o tratamento que não recebeu fósforo apresentou resultados inferiores aos demais. Corroborando que em condições de clima tropical, os principais fatores abióticos que afetam a FBN são a acidez do solo, toxidez de alumínio, baixa fertilidade do solo, deficiência de fósforo e molibdênio neste trabalho foram eficientemente supridos e a partir daí apresentaram influência positiva nas variáveis analisadas.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; BRS Guariba; Fósforo.

NODULAÇÃO EM SOJA CULTIVADA SOB DIFERENTES ESTADOS DE COMPACTAÇÃO DO SOLO

Brenda Cristye Tonon¹, Moacir Tuzzin Moraes², Artur Berbel Lirio Rondina¹, Carolina Honda¹, Walkyria Neiverth¹, Henrique Debiassi³, Julio César Franchini³, Alvadi Balbinot³, Mariangela Hungria³, Marco Antonio Nogueira³

¹UEL, Londrina, Brasil, brenda_tonon@yahoo.com.br; ²UFRGS; ³Embrapa Soja

O estado de compactação do solo (EC) altera a disponibilidade de oxigênio e água no ambiente edáfico, podendo influenciar na simbiose entre a soja e as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do EC de um Latossolo Vermelho distroférrico (710 g kg⁻¹ de argila) sobre o número e a massa dos nódulos secos (MS) em raízes de soja (cultivar BRS 359RR), durante o estágio de desenvolvimento R3, nas camadas de 0-0,1; 0,1-0,2; 0,2-0,3; 0,3-0,4; e 0,4-0,5 m. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 4 repetições e 4 tratamentos: sistema plantio direto (SPD); SPD escarificado (SPDE); SPD compactado por 4 passadas de um trator com massa de 7,2 Mg (SPDC4); e SPD compactado por 8 passadas de uma colhedora com massa de 10 Mg (SPDC8). Coletaram-se 5 monólitos de solo (0,09 m de largura x 0,07 m de espessura x 0,10 m de profundidade) por camada, distribuídos perpendicularmente à linha de semeadura, entre o centro de duas entrelinhas contíguas. As raízes foram lavadas em peneira de malha 0,5 mm, sendo os nódulos separados, digitalizados e contados por meio do programa Safira. A massa de nódulos secos (MS) foi obtida após secagem em estufa (65 °C, 48 h). Concomitantemente à coleta das amostras, determinou-se a resistência mecânica do solo à penetração (RP) até 0,50 m de profundidade, por meio de penetrômetro digital. Embora a maior parte dos nódulos (67%) tenha se concentrado em raízes superficiais (camada 0,0-0,1 m), foram encontrados nódulos até a camada de 0,4-0,5 m. A MS diminuiu de 1,66 mg nódulo⁻¹ na camada de 0,0-0,1 m, para 0,51 mg nódulo⁻¹ na camada de 0,4-0,5 m. Houve efeito de tratamento (teste de Tukey, p<0,05) apenas para a variável número de nódulos na camada de 0,0-0,1 m, sendo os maiores valores observados no SPDE. Pode-se observar, também, que houve correlação negativa entre o número de nódulos e a RP (r = -0,62, p<0,05) na camada de 0,0-0,2 m. Conclui-se que o aumento do EC prejudica a nodulação de raízes de soja por *Bradyrhizobium*.

Palavras-chave: Fixação biológica do nitrogênio; *Glycine max*; Manejo do solo.

PERFORMANCE DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL PARA O ALGODOEIRO

Gustavo Graziano Malimpence¹, German A. Estrada Bonilla¹,
Bruna Durante Batista¹, Rafael Gonçalves Vilela²

¹ESALQ-USP, Piracicaba, Brasil, gustavomalimpence@gmail.com; ²Fundação Chapadão

A cultura do algodão (*Gossypium hirsutum*) representa uma das mais importantes culturas agrícolas por ser a principal fonte de fibra têxtil utilizada no mundo. O Brasil destaca-se frente ao cenário internacional, ocupando a primeira colocação no ranking mundial de exportação com aproximadamente um milhão de hectares destinados à cotonicultura. O aporte de fertilizantes nitrogenados é significativo no custo de produção, especialmente para países importadores, como o Brasil, com os altos custos atrelados ao dólar. Além disso, as grandes quantidades desse fertilizante demandadas pela cultura representam grande impacto ambiental. Na busca de elevação dos níveis atuais de produtividade e redução nos custos de produção do algodoeiro no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas ao sistema de produção. A utilização de rizobactérias promotoras de crescimento, capazes de fixar nitrogênio, é uma ferramenta extremamente promissora. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho de rizobactérias promotoras de crescimento na cultura do algodoeiro. O experimento foi realizado durante a safra 2014/2015 na área experimental da Fundação Chapadão localizada no município de Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul, região com média pluviométrica de 1750 mm.ano⁻¹. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com quatro tratamentos (quatro doses distintas de N: 120, 84, 72 e 0 kg.ha⁻¹), contrapostos à presença ou não de inoculante rizobacteriano composto por *Azotobacter* spp. cedido pela empresa Baraúna. O genótipo utilizado, TMG 82, foi plantado em sistema de semeadura direta sobre restos culturais de *Urochloa ruziziensis*, 250 kg.ha⁻¹ de MAP. Das variáveis avaliadas, nota-se semelhança estatística no estado nutricional de macronutrientes e na produtividade da cultura no decorrer do experimento, observa-se também influência dos tratamentos na disposição e pegamento de maçãs. Porém, em uma análise econômica, observa-se um retorno financeiro significativo quando se considera que, ao reduzir em 40% a dose de fertilizante nitrogenado na presença do inoculante, a produtividade não apresenta alteração negativa significativa, representando economia desse insumo. Desse modo, é possível inferir que o uso de promotores de crescimento para o algodão pode melhorar o retorno econômico através da redução da demanda de fertilizante nitrogenado pela cultura, angariando maior competitividade brasileira no setor da cotonicultura.

Palavras-chave: Rizobactérias; Nitrogênio; Algodão.

POTENCIAL DO USO DE BACTÉRIAS PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Crotalaria* spp.

Laís Mayara Melo Duré¹, Lara Rezek Rocha², Giovano Migliorini²,
Ellen Juliete Damasceno Capurro², Bianca Obes Corrêa²

¹UFMS, Chapadão do Sul, Brasil, laisdure@gmail.com;

²Universidade Anhanguera UNIDERP

A crotalaria é uma das leguminosas mais utilizadas na adubação verde, no estado do Mato Grosso do Sul, destaca-se na produção de massa vegetal e fixação de nitrogênio atmosférico, além disso é utilizada para redução de inóculos em algumas espécies de fitonematoides. Sendo assim, a busca pelo aumento da eficiência desta espécie, possibilita a incorporação de bactérias promotoras de crescimento de plantas que são micro-organismos capazes de colonizar a rizosfera, exercer efeitos diretos, como a produção de hormônios ou outras substâncias semelhantes, os quais influenciam diretamente no crescimento ou desenvolvimento da planta ou até mesmo suprimindo suas exigências nutricionais através de mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio e solubilização de nutrientes. Com base no exposto, o objetivo foi avaliar a capacidade de bactérias isoladas de solo sob cultivo de cana-de-açúcar em promover o crescimento vegetal de duas espécies de crotalaria (*Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea*) utilizadas como adubo verde no Mato Grosso do Sul. Para tanto, sementes das duas espécies foram tratadas com suspensão em solução salina (0,85%) das bactérias Fit-03 e Fit-04 (*Pseudomonas fluorescens*), isoladamente, e a concentração ajustada para $A_{540}=0,5$. As mesmas foram mantidas sob agitação por 30 minutos. Posteriormente, foram semeadas em vasos com capacidade para 5L com solo distrófico. Como testemunhas foram usadas sementes das duas espécies embebidas em solução salina. As avaliações foram baseadas no índice de velocidade de emergência (IVE), número de folhas (NF), massa seca das raízes (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA). Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo Teste de Tukey a 0,5% de probabilidade. De modo geral, para as duas espécies de crotalaria, houve incremento nas variáveis de crescimento, para *C. juncea* os incrementos foram de 50% para IVE e 200% para MSPA e MSR, quando microbilizadas com Fit-03. No entanto, para Fit-04 não foram observados resultados significativos. Com *C. spectabilis* as duas bactérias promoveram incremento nas variáveis de crescimento, porém a testemunha não emergiu. Sendo assim, é possível aventar que as bactérias isoladas do solo sob cultivo de cana-de-açúcar apresentam potencial para serem utilizadas em programas de promoção do crescimento de plantas em diferentes culturas.

Palavras-chave: *Crotalaria juncea*; *Crotalaria spectabilis*; Microbiolização.

POTENCIAL PGPR DE ACTINOMICETOS AISLADO DE LA RIZÓSFERA DE *Coffea arabica* PROVENIENTE DE LA SELVA ALTA DEL PERÚ

Francis Ochoa-Acevedo, Katty Ogata-Gutiérrez, Carolina Chumpitaz-Segovia,
Jesús Lirio-Paredes, Doris Zúñiga-Dávila

Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología,
Lima, Perú, francis.a.ochoa@gmail.com

Los problemas de fertilidad, debido al mal uso de suelos agrícolas, ha intensificado el uso de fertilizantes y productos químicos obteniéndose en consecuencia un incremento en los costos de producción de muchos alimentos y otros derivados. Los actinomicetos representan un grupo de microorganismos ampliamente distribuidos en ecosistemas naturales y tiene gran importancia en la degradación de la materia orgánica. El presente trabajo tuvo por objetivo aislar, caracterizar y evaluar el potencial PGPR de actinomicetos aislado de la rizosfera del café. La zona del muestreo fue el IRD-Génova, Chanchamayo (1200 m.s.n.m.). Se evaluó la producción de Ácido Indol Acético (AIA) (Gordon y Weber, 1951), solubilización de fosfato (Nautiyal, 1999), utilizando hidroxipatita, fosfato bicálcico y tricálcico, y la prueba de fijación libre de nitrógeno (Dóbmher y Day, 1976). Adicionalmente se realizó un ensayo a nivel de campo con plantas de café de var. Caturra Roja de 15 meses de edad. De 22 cepas aisladas el 23% pertenecieron al género *Streptomyces*. El 18% de las cepas produjeron concentraciones entre 8.7 a 13.7 $\mu\text{l/ml}$, donde la cepa ACC17 produjo una mayor concentración de este metabolito. El 31.8% fueron capaces de solubilizarla hidroxipatita, la cepa ACC32 mostró la mayor eficiencia de Solubilización (ES) con 191.6%. El 27.3% fue capaz de solubilizar fosfato bicálcico, la cepa ACC13 obtuvo mayor ES con 144.9%. El 9.1% de las cepas solubilizaron fosfato tricálcico, siendo la ACC19 y ACC13 las que presentaron una ES con 14.29% y 17.6% respectivamente. El 95.5% de las cepas demostraron su potencial como fijadores de nitrógeno. A nivel de campo se observó una diferencias en la altura de la planta y numero de hojas (h) entre la cepa ACC13 (40.3 cm y 38 h) y el control sin inocular (37.47 cm y 33 h). La cepa ACC13 fue caracterizada molecularmente (gen ARNr 16s) presentando un porcentaje de similitud de 99.93% con la cepa *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004(T). Esto resultados son promisorios, ya que el ciclo fisiológico del café es muy lento y las cepas PGPRs podrían incrementar la biomasa de la planta en un menor tiempo. Se concluye que la cepa ACC13 es una potencial PGPR para el cultivo de café y esta podría ser utilizada como biofertilizante para mejorar su crecimiento a nivel de campo. Agradecimiento: FONDECYT-CONCYTEC-145-2014.

Palabras clave: Actinomicetos; Solubilización de fosfato; Café.

PRODUÇÃO DE CAPIM-XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS E ADUBAÇÃO NITROGENADA

Camila Fernandes Domingues Duarte¹, Ulysses Cecato¹, Mariangela Hungria²,
Thiago Trento Biserra¹, Renan Sanches¹, Hudson Zequine de Oliveira¹,
Diogo Rodrigues da Silva¹, Murilo Donizeti do Carmo¹

¹UEM, Maringá, Paraná, Brasil camilafernandesd@hotmail.com; ²Embrapa Soja

A associação entre gramíneas forrageiras e as bactérias promotoras de crescimento de plantas pode representar uma vantajosa alternativa para a produção animal a pasto e produção de forragem. Neste sentido, objetivou-se comparar a produção de massa de forragem da *Brachiaria* (= *Urochloa*) *brizantha* cv. Xaraés inoculada com diferentes bactérias promotoras de crescimento em plantas e duas doses de nitrogênio. O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, com período experimental de 60 dias. Os tratamentos consistiram em: testemunha (sem bactéria e adubação nitrogenada), bactéria 1 (*Azospirillum brasilense* Ab-V5), bactéria 2 (*Azospirillum brasilense* Ab-V6), bactéria 3 (*Pseudomonas fluorescens* CNPSO 2719), bactéria 4 (*Pseudomonas fluorescens* ET76), bactéria 5 (*Pantoea ananatis* AMG521), dose de 50 kg N ha⁻¹ e dose de 100 kg N ha⁻¹, com seis repetições, totalizando 48 unidades experimentais. As bactérias foram identificadas e os inóculos preparados com concentração final de 108 células mL⁻¹ no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja. Foram misturados 15 mL de inóculo a cada quilo de sementes do capim-xaraés e deixados secar à sombra por 30 minutos. Os vasos foram preenchidos com 15 dm³ de solo arenito Caiuá. Em todos os vasos foram corrigidos os teores de fósforo, potássio e aplicado o equivalente a 20 kg de N ha⁻¹. Os cortes foram realizados quando as plantas atingiram entre 35 a 40 cm e com resíduo de 15 cm. Foi realizada a separação morfológica em lâminas foliares e pseudocolmo, acondicionado em saco de papel e levado a estufa de circulação forçada a 55°C por 72 horas. Os dados foram avaliados em um esquema fatorial utilizando-se uma análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%. Os tratamentos com 50 e 100 kg de N ha⁻¹ obtiveram maior produção de matéria seca das folhas entre todos os tratamentos, com produção maior que 40% em relação à testemunha. As bactérias 2, 3, 4 e 5 apresentaram melhor produção de matéria seca das folhas em relação à testemunha, produzindo 30,18, 31,35, 30,46 e 30,33 g vaso⁻¹, respectivamente. Os tratamentos testemunha e a bactéria 1 apresentaram a menor produção de matéria seca das folhas (24,92 e 25,79 g vaso⁻¹). Em relação à produção de colmo, os tratamentos inoculados com as bactérias apresentaram menor produção de colmo, resultados semelhantes à testemunha. Conclui-se que a utilização das doses com 50 e 100 kg de N ha⁻¹ proporcionaram maior produção de matéria seca de folhas e colmo. No entanto, a inoculação das bactérias 2, 3, 4 e 5 mostraram-se promissoras na produtividade do capim-xaraés.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas; Fixação biológica de nitrogênio; Produção sustentável.

PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO ARROZ DE TERRAS ALTAS SOB SISTEMAS DE MANEJO, DOSES DE NITROGÊNIO E *Azospirillum brasilense*

Wellma Nascimento Pedra¹, Douglas de Castilho Gitti¹,
Daniela Tiago da Silva Campos², Orivaldo Arf¹, Ana Maria Rodrigues Cassiolato¹

¹UNESP, Campus de Ilha Solteira, Ilha Solteira, SP,
Brasil, anamaria@bio.feis.unesp.br; ²UFMT

O Plantio Direto (PD) e o Cultivo Mínimo (CM) são considerados sistemas conservacionistas por garantirem menor revolvimento do solo, mantendo mais preservados seus aspectos físicos, químicos e biológicos. O nitrogênio (N) é exigido em grande quantidade pela cultura do arroz e uma alternativa para reduzir a aplicação sua forma mineral é inocular *Azospirillum brasilense*. Além de ser diazotrófica, a bactéria pode atuar como promotora de crescimento por produzir fitohormônios que favorecerem o crescimento radicular e a absorção de água e nutrientes. O trabalho objetivou avaliar os efeitos do manejo do solo, doses de N e *A. brasilense* nos atributos químicos do solo e na produtividade do arroz de terras altas. O arroz foi semeado sobre a palhada do consórcio crotalária + milheto, como nos últimos quatro anos agrícolas, sempre tendo o arroz e o feijão como culturas de verão e inverno, respectivamente. O delineamento foi em blocos casualizados, no esquema fatorial 2 x 4 x 2, com três repetições, como segue: dois sistemas de manejo (PD e CM (preparo com escarificador + grade niveladora)); quatro doses de N em cobertura (0, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹) e inoculação de *A. brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 em sementes (presença e ausência). A densidade de semeadura foi de 80 kg ha⁻¹ e o espaçamento entrelinhas de 0,35 m, em parcelas compostas de cinco linhas com 6 m de comprimento, sendo a área útil constituída pelas três linhas centrais. A adubação de semeadura foi de 250 kg ha⁻¹ do formulado 4-30-10, enquanto a adubação de cobertura (ureia) foi realizada 29 dias após a emergência, de forma manual e próxima as linhas. Para a caracterização química do solo e quantificação de *Azospirillum* spp. no período do florescimento do arroz, de cada parcela foi coletada uma amostra composta de solo, de 5 amostras simples, da camada de 0 - 0,10 m, próximo a planta. A quantificação de *Azospirillum* sp. empregou o meio semi-sólido e semi-específico (meio NFb) e avaliação foi realizada por meio do método do número mais provável (NMP). A produtividade foi determinada pela pesagem dos grãos da área útil das parcelas, corrigindo a umidade para 13% e convertendo em kg ha⁻¹. Observou-se que o sistema PD proporcionou os mais elevados valores de MO, pH, SB e V%, assim como o de produtividade. A inoculação de *A. brasilense* garantiu maior produtividade quando associada ao sistema PD. A produtividade respondeu, ainda, às doses de N, com os maiores valores verificados nas doses mais elevadas. O NMP mostrou comportamento quadrático em resposta às doses de N, sendo os maiores números encontrados nas doses mais elevadas, no tratamento com inoculação; comportamento inverso ao verificado no não inoculado. Fonte financiadora: CAPES, CNPq e Agrisus.

Palavras-chave: Cultivo mínimo; Plantio direto; Cerrado.

PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO MILHO EM RESPOSTA A INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE BACTÉRIAS ASSOCIATIVAS

Janaína Dartora¹, Cid Renan Jacques Menezes¹, Edilaine Della Valentina Gonçalves²,
Cristiane Meinerz², Vandeir Francisco Guimarães²

¹IAPAR, Pato Branco, Brasil, janaína_dartora@yahoo.com.br; ²UNIOESTE

A seleção de estirpes específicas e eficientes constitui um fator chave para o sucesso da inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP's). O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de inoculação de estirpes de BPCP's sobre a produtividade da cultura do milho, híbrido 30F53, na safra verão 2012/13 e 2013/14. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições e parcelas subdivididas, cujas subparcelas foram constituídas de anos de cultivo (2012/13 e 2013/14) e as parcelas, por nove tratamentos relacionados à inoculação de estirpes de BPCP's: controle (sem N e sem inoculação); 30 kg ha⁻¹ N na semeadura; 160 kg ha⁻¹ N (30 kg ha⁻¹ N na semeadura + 130 kg ha⁻¹ N em cobertura); inoculação das estirpes Ab-V5; HM053; L26; L27; 4331; e 8121, associadas a 30 kg ha⁻¹ N na semeadura. A produtividade foi determinada com base na produção da área útil de cada parcela e expressa em kg ha⁻¹ após a correção da umidade dos grãos para 13% (base úmida). Houve interação entre os fatores inoculação e anos de cultivo para a produtividade de grãos. No ano 2012/13 a inoculação da estirpe de *A. brasilense* HM053 proporcionou 7.871 kg ha⁻¹, superando o tratamento controle e a adubação com 30 kg ha⁻¹ N, sem diferir, no entanto, dos demais tratamentos, inclusive da adubação com 160 kg ha⁻¹ N. No ano 2013/14, a adubação com 160 kg ha⁻¹ N proporcionou produtividade média de 4.536 kg ha⁻¹, superando o tratamento controle e a inoculação das sementes com a estirpe HM053 e com o isolado L27. Neste mesmo ano, a estirpe de *Rhizobium* sp. 8121 se destacou com média de produtividade de 4.267 kg ha⁻¹, o que representou um incremento de 1.427 kg ha⁻¹ na produtividade em relação ao uso isolado da adubação nitrogenada de base (30 kg ha⁻¹ N), demonstrando o potencial da estirpe nestas condições de cultivo. Quanto aos anos de cultivo, o ano 2012/13 apresentou resultado superior a 2013/14 para todos os tratamentos referentes à inoculação, com média geral de 6.874 kg ha⁻¹, refletindo uma redução de 3.625 kg ha⁻¹ em relação ao ano seguinte em que foi obtida produtividade média de 3.249 kg ha⁻¹. A redução expressiva na produtividade da cultura do milho de um ano para outro reflete a resposta das plantas ao estresse abiótico (rajadas de vento) no início do desenvolvimento, pois o estado de estresse impõe a manifestação de diversos mecanismos no metabolismo vegetal conforme o grau de severidade do distúrbio. Portanto, existe influência das condições de cultivo de cada ano no desempenho das estirpes de BPCP's avaliadas.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Rizobactérias; Seleção de estirpes.

PRODUTIVIDADE DA SOJA EM SUCESSÃO A CULTIVOS NO OUTONO-INVERNO E INOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum*

Ivan Arcanjo Mechi¹, Anna Luiza Farias dos Santos¹, Luan Marlon Ribeiro¹,
Ricardo Fachinelli¹, Priscila Akemi Makino¹, Felipe Ceccon¹, Gessi Ceccon²

¹UFGD, Dourados, Brasil, ivarmec@hotmail.com; ²Embrapa Agropecuária Oeste

A fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja é um processo realizado por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, ao passo que as do gênero *Azospirillum* são capazes de estimular a produção de fito-hormônios. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento da soja inoculada com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* em sucessão a quatro culturas de outono-inverno. O experimento foi realizado na Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados – MS, em solo Latossolo Vermelho distroférrico com textura muito argilosa. O clima da região segundo a classificação de Köppen é Tropical Monçônico, como Am. O experimento foi conduzido em esquema fatorial quatro por três, sendo a cultura da soja cultivada em sucessão a quatro cultivos de outono-inverno (milho solteiro, consórcio milho-braquiária, *Brachiaria ruziziensis* e feijão caupi) e com três formas de inoculações (testemunha, *Bradyrhizobium* e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*), totalizando doze tratamentos, no delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Utilizou-se a cultivar de soja BRS 360RR espaçadas 0,45 m entre linhas, com população de 300 mil plantas por hectare. Foram avaliadas a altura de plantas (AP), rendimento de massa seca de haste (RMSH) e folha (RMSF) por planta, índice de colheita (IC), massa de cem grãos (M100) e produtividade da soja. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. À exceção da produtividade, os resultados foram influenciados apenas pelo cultivo de outono-inverno. De forma geral, o cultivo de feijão-caupi proporcionou maiores resultados para AP (40,95 cm), RMSH (4,46 g planta⁻¹) e RMSF (4,19 g planta⁻¹). A soja cultivada após o milho solteiro apresentou maiores médias para IC (67,01%) e M100 (11,7 g). Para os resultados de produtividade verificou-se interação significativa entre cultivos de outono-inverno e inoculação. A produtividade da soja diferiu estatisticamente quanto à inoculação apenas quando cultivada após milho solteiro, sendo que o maior resultado foi observado no tratamento com *Bradyrhizobium* (2.737 kg ha⁻¹) e o menor no tratamento com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* (2.251 kg ha⁻¹). A explicação provável reside no fato de que o milho solteiro proporciona menor quantidade de palha e, consequentemente, menor quantidade de nutrientes na forma orgânica no solo do que o cultivo consorciado, não evidenciando assim o efeito do *Azospirillum*. A inoculação de *Bradyrhizobium* se mostrou eficiente apenas na sucessão soja-milho safrinha, contribuindo com incremento na produtividade da soja.

Palavras-chave: Feijão-caupi; *Brachiaria*; Milho safrinha.

PRODUTIVIDADE DA SOJA INOCULADA COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* APÓS TRÊS ÉPOCAS DE DESSECAÇÃO DE BRACHIARIA

Anna Luiza Farias dos Santos¹, Ivan Arcanjo Mechi¹, Luan Marlon Ribeiro¹,
Ricardo Fachinelli¹, Priscila Akemi Makino¹, Felipe Ceccon¹, Gessí Ceccon²

¹UFGD, Dourados, Brasil, annaluiza_di@hotmail.com; ²Embrapa Agropecuária Oeste

As principais bactérias utilizadas na inoculação de sementes das culturas são do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, sendo que o primeiro contribui com a fixação biológica do nitrogênio e o segundo é capaz de estimular o desenvolvimento das plantas. Objetivou-se avaliar a produtividade da soja inoculada com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* em sucessão a três épocas de dessecação de *Brachiaria brizantha* cv. Paiguás, cultivada em consórcio com milho safrinha. O experimento foi conduzido na Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados, MS no outono-inverno de 2014 e avaliações na soja 2014/2015. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distroférrico com textura muito argilosa e o clima da região, segundo a classificação de Köppen, é Tropical Monçônico, Am. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso com parcelas subdivididas. Nas parcelas principais foram alocadas as três épocas de dessecação (30 dias antes da semeadura – 30 DAS, 15 DAS e 1 DAS) e três inoculações (sem inoculação, com *Bradyrhizobium* e com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* nas sementes da soja), em parcelas de sete linhas de dez metros, e quatro repetições. A braquiária foi dessecada com *Gliphosate*, na dose de 1,44 kg e. a. ha⁻¹. A soja BRS 360RR foi semeada com espaçamento de 0,45 m entre linhas, em população de 250 mil plantas por hectare e adubação de 200 kg ha⁻¹ da fórmula NPK 0-20-20. Avaliou-se o rendimento de massa seca de haste (RMSH), massa de cem grãos (M100) e a produtividade em duas linhas centrais de cinco metros. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A produtividade foi influenciada pelas épocas de dessecação e inoculação, com maiores médias observadas na dessecação realizada 1 DAS, sem inoculação e com inoculação de *Bradyrhizobium* (2.436 e 2.301 kg ha⁻¹, respectivamente). Porém na inoculação com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* não houve diferença significativa entre as épocas de dessecação, possivelmente porque a inoculação com *Azospirillum* contribuiu para o aumento da produtividade nas dessecações realizadas aos 15 e 30 DAS. Dentro de cada época de dessecação, houve diferença significativa para inoculação quando realizou-se dessecação 15 DAS, com maiores produtividades na inoculação com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*. O RMSH teve influência apenas das épocas de dessecação e a M100 não foi influenciada por nenhum dos fatores, com média de 9,99 g.

Palavras-chave: *Brachiaria*; Milho safrinha; Inoculação de sementes.

RESPONSES OF SOYBEAN CULTIVARS TO BASAL AND TOPDRESSING N FERTILIZATION COMPARED TO SOLE INOCULATION WITH *Bradyrhizobium*

Glaciela Kaschuk¹, Marco Antonio Nogueira²,
Marcos Javier de Luca³, Mariangela Hungria²

¹UFPR, Curitiba, Brazil, glaciela.kaschuk@gmail.com; ²Embrapa Soja; ³UEL

Breeding of soybean lead to the release of new cultivars that have very high N demands. That scenario raised concerns on whether symbiotic N₂ fixation would be sufficient to catch up with the increased N needs, and so that, some have suggested that basal and/or topdressing N application would be required. In this study, we compare the responses of soybean with determinate (BRS-294-RR and BRS-295-RR) and indeterminate (Vmax-RR, BMX-Potência-RR and BRS 284) growth types in three field experiments performed in three different ecoregions of Brazil. The experiments consisted of four treatments, all inoculated with efficient *Bradyrhizobium* strains, but with differences in N fertilizer (as urea) application: (T1) control without N fertilizer; (T2) basal application of 30 kg N ha⁻¹ at sowing; (T3) topdressing of 50 kg N ha⁻¹ at full flowering; (T4) 30 kg N ha⁻¹ and 50 kg N ha⁻¹ as basal and topdressing, respectively. We did not observe positive effects of basal or topdressing treatments on biomass production or grain yield. However, it was clear that N fertilizer negatively affected nodule number and dry weight, which implies in a down-regulation in the symbiotic performance, without improving crop yields. The results indicated that biological nitrogen fixation can supply N needs of new soybean genotypes of both growth types.

Keywords: *C and N metabolism; N assimilation; Nodulation.*

RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA (*Glycine max*) À APLICAÇÃO DE FERTILIZANTE BIOINDUTOR E INOCULAÇÃO

José Filipe dos Santos Maciel¹, Maurício Rosa Magro¹, Joatan Césare Andrades Clamer¹, Ezequiel Kleinschmitt¹, Sônia Purin da Cruz¹, Rangel Viganó²

¹UFSC, Curitibanos, SC, Brasil, josefilipedossantosmaciel@gmail.com;

²Total Biotecnologia

Este trabalho objetivou avaliar o efeito da aplicação de um fertilizante bioindutor (Raiz TS[®]) associado a dois inoculantes: Total Nitro Full[®] líquido e Total Nitro Ultra[®] turfoso, à base de *Bradyrhizobium japonicum*. O experimento foi conduzido na cidade de Brunópolis - SC, em um delineamento de blocos ao acaso, subdividido em 6 parcelas com dimensões de 6,0 x 4,5 metros (27 m²) e com 4 repetições. Avaliou-se: o número de nódulos totais, número de nódulos viáveis, massa seca dos nódulos e a quantidade de massa seca da parte aérea no estágio vegetativo V6 (32 dias após a emergência). As aplicações do fertilizante e dos inoculantes foram de duas formas: no momento da semeadura para os tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5; e por pulverização sobre a linha de plantio no estágio vegetativo V1 para o tratamento 6. O tratamento 1 foi a testemunha absoluta, onde a soja foi semeada sem a aplicação de nenhum produto. No tratamento 2, foi realizada a aplicação de 80 g por 50 kg de sementes de Total Nitro Ultra[®], atuando como tratamento padrão de inoculação. No tratamento 3 efetuou-se a aplicação de 100 mL de Raiz TS[®] e 160 g de Total Nitro Ultra[®] por 50 kg de sementes. Nos tratamentos 4 e 5 foram utilizados 100 mL de Total Nitro Full[®] associados a 100 ou 200 mL de Raiz TS[®] respectivamente, por 50 kg de sementes. No tratamento 6 foi efetuada a pulverização sobre a linha de plantio com 300 mL de Raiz TS[®] e 100 mL de Total Nitro Full[®] diluídos em 405 mL de água. No estágio vegetativo V6 as plantas foram avaliadas e coletadas, sendo sete plantas por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Duncan. Os resultados mais expressivos foram observados na variável massa seca de parte aérea, com as plantas que foram pulverizadas com Raiz TS[®] e Total Nitro Full[®], e com as plantas inoculadas com Total Nitro Ultra[®]. Estes tratamentos promoveram um aumento de 40% e 32% da massa seca de parte aérea respectivamente em relação à testemunha. Os tratamentos com a aplicação de 100 mL de Raiz TS[®] nas sementes resultaram um incremento de 13%, e nas parcelas que aplicou-se 200 mL apresentaram 15% de aumento de massa seca, em relação à testemunha. Outros efeitos poderão ser observados nas análises de produtividade, podendo repercutir em um aumento e, consequentemente, em ganho econômico para os agricultores. Fonte financiadora: Total Biotecnologia.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium*; Massa; Associação.

SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIOS EFICIENTES PARA NODULAÇÃO DE ERVILHACA DE FOLHA ESTREITA

Maria Laura Turino Mattos, Fernanda Bortolini,
Andréa Mittelman, Liane Aldrigh Galarz

Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil, maria.laura@embrapa.br

A ervilhaca de folha estreita (*Vicia angustifolia*) é uma espécie forrageira com potencial de utilização em sistemas de Integração Lavoura-Pecuária, existindo em grande extensão de áreas de terras baixas no Rio Grande do Sul (RS). Porém, não existem estirpes recomendadas e/ou autorizadas para fabricação de inoculantes para essa espécie, havendo necessidade de seleção de estirpes de rizóbios com alta capacidade de nodular as raízes de *V. angustifolia* e fixar nitrogênio. Neste trabalho, avaliaram-se a eficiência de nodulação da estirpe SEMIA 384, autorizada para a espécie *Vicia sativa*, da estirpe SEMIA 2013, e das estirpes CMM 680, CMM 686, CMM 690, CMM 696, CMM 701, CMM 704 e CMM 705, isoladas em áreas de terras baixas do RS, para *V. angustifolia*, em condições de casa de vegetação. A metodologia empregada foi conforme a IN Nº 13 de 03/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Os tratamentos compreenderam: (T1) testemunha [ausência de fertilizante nitrogenado e inoculante]; (T2) controle com N-mineral [20 kg N ha⁻¹], 10 e 30 dias após a emergência das plantas; (T3) inoculação padrão (IP) estirpe SEMIA 384; (T4) IP estirpe SEMIA 2013; (T5) IP estirpe SEMIA 680; (T6) IP estirpe SEMIA 686; (T7) IP estirpe 690; (T8) IP estirpe 696; (T9) IP estirpe 701; (T10) IP estirpe 704; (T11) IP estirpe SEMIA 705. Esses foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições, totalizando 22 unidades experimentais. Utilizaram-se como unidade experimental caixas plásticas com capacidade para 12,0 dm³, as quais foram preenchidas com uma mistura estéril de areia + vermiculita na proporção de 2:1 (v/v) e semeadas com quatro plantas por caixa. Procedeu-se a desinfecção das sementes antes do plantio. Aos 65 dias após a emergência das sementes, realizou-se o corte das plantas, separação das raízes da parte aérea e coleta dos nódulos, secando-se em estufa a 65 °C. A estirpe SEMIA 384, autorizada para *V. sativa*, não apresentou efetividade de nodulação para *V. angustifolia* e os demais isolados CMM não estabeleceram relação simbiótica. A ausência de nodulação nas plantas inoculadas com a SEMIA 384 indica a sua especificidade para a *V. sativa*. Os resultados mostraram que somente a SEMIA 2013 proporcionou alta nodulação (54 nódulos planta⁻¹) e massa de nódulos secos (17,6 mg planta⁻¹) e 278 mg planta⁻¹ de matéria seca da parte aérea. Além disso, o valor da massa de raízes secas (154,9 mg planta⁻¹) foi superior aos encontrados nos T1 (67,1 mg planta⁻¹) e T2 (89,40 mg planta⁻¹), evidenciando o potencial da SEMIA 2013 (Fepagro) para a promoção do crescimento da *V. angustifolia*. Essa estirpe será avaliada em condições de campo quanto a sua eficiência na produção de forragem e capacidade para FBN.

Palavras-chave: *Vicia angustifolia*; *Bradyrhizobium*; Fixação biológica de nitrogênio.

USO DE BIOPROTECTOR EN SEMILLAS DE SOJA

Gustavo Marín Cáceres, Maria del Pilar Galeano, Lider Ayala, Alba Liz Gonzalez

Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción,
San Lorenzo, Paraguay, alizgon@gmail.com

La respuesta de la inoculación con *Bradyrhizobium japonicum* en soja es muy variable ya que depende de varios factores, entre ellos las condiciones climáticas que afectan la producción de granos. Los bioprotectores aplicados a los inoculantes permiten afrontar en mejores condiciones los eventos adversos durante la siembra del cultivo. Con el objetivo de evaluar el efecto del uso de bioprotector en el proceso de inoculación de semillas de soja con *Bradyrhizobium*, se llevó a cabo un ensayo en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción San Lorenzo, Departamento Central, Paraguay, ubicado entre las coordenadas geográficas de 25°27' latitud sur y 57°27' longitud oeste y a una altitud de 125 msnm, durante periodo agrícola 2014/2015. La precipitación media fue de 1.200 mm y temperatura media de 28°C. El diseño experimental en bloques completos al azar con cuatro repeticiones en esquema bifactorial; factor A: uso de bioprotector, con dos niveles: con y sin, más un testigo sin inoculación; factor B: tiempo desde inoculación hasta la siembra, desde el día 1 al 10, teniendo así treinta tratamientos. Los tratamientos fueron distribuidos en parcelas de 5 m de largo y 1,2 m de ancho cada una, constituidas de 4 hileras, con 18 plantas por metro lineal y espaciamiento entre hileras de 0,75 m. Cada unidad experimental ocupó 7,5 m² y se obtuvo 120 unidades experimentales. Las variables evaluadas fueron: altura de planta, cantidad de nódulos, peso de mil granos y rendimiento de granos. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error. Se encontraron diferencias estadísticas significativas para el uso de bioprotector, el tiempo de siembra después de la inoculación y la interacción de ambos factores para el rendimiento de granos de soja, el mayor valor fue de 2.250 kg de granos h⁻¹, mientras que al aumentar los días de almacenamiento decrece el rendimiento. No se encontraron diferencias estadísticas significativas para altura de planta, cantidad de nódulos y peso de mil granos de soja, cuyos valores promedios fueron 118 cm, 13 nódulos y 182 g, respectivamente. Se concluye que la utilización de bioprotector con la inoculación de *Bradyrhizobium japonicum* potencia la efectividad de la simbiosis y aumenta el rendimiento de la soja convirtiéndose en una herramienta fundamental para incrementar los ingresos del productor agropecuario.

Palabras clave: Inoculación; Nodulación; *Bradyrhizobium japonicum*.

UTILIZACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS DE LA HALÓFITA *Arthrocnemum macrostachyum* EN EL BIOCONTROL DE HONGOS PATÓGENOS

Carmen Pérez-Carmona¹, Susana Redondo-Gómez²,
Ignacio Rodríguez-Llorente², María Camacho¹

¹IFAPA, Sevilla, España, mariag.camachomartinez@juntadeandalucia.es;

²Universidad de Sevilla

La tendencia actual de la política agraria de la Unión Europea a disminuir la cantidad de insumos (fertilizantes y pesticidas, decreto aprobado por el Parlamento Europeo en enero de 2009) obligará al uso alternativo de otras soluciones, entre las que destacan el uso de microorganismos como inoculantes. En este contexto, es especialmente importante buscar nuevos métodos de producción agronómica y ecológicamente sostenibles. Las enfermedades fúngicas ocasionan importantes pérdidas en Andalucía (España) en varios cultivos hortícolas. Entre ellos, cabe destacar, por su importancia económica, la fresa y el espárrago, cultivos en los que Andalucía se sitúa a la cabeza nacional, produciendo el 70% de la producción total. Últimamente se han detectado nuevas enfermedades que han impactado severamente en estos cultivos, como la podredumbre carbonosa, cuyo agente causal es *Macrophomina phaseolina* y la fusariosis, cuyo agente causal es *Fusarium oxysporum*. El incremento de la prevalencia de estas enfermedades parece estar relacionado con el abandono del uso del bromuro de metilo como desinfectante de suelos, ya que los productos químicos alternativos usados en la actualidad, no son suficientemente eficaces para eliminar estos patógenos. El objetivo de este trabajo es la caracterización de bacterias susceptibles de ser utilizadas como alternativa a los desinfectantes químicos, en la lucha contra ambos patógenos. Para ello, se testaron bacterias aisladas de la rizosfera de *A. macrostachyum* en bioensayos de confrontación frente a dos cepas del hongo *M. phaseolina* y una de *F. oxysporum*. De 200 bacterias testadas, 22 fueron capaces de controlar totalmente el crecimiento de ambas cepas de *M. phaseolina*, teniendo la mitad de ellas actividad, no solo fungistática, sino fungicida, ya que no se obtuvo posterior crecimiento del hongo en medio *Potato Dextrosa Agar* al resembrar el micelio previamente expuesto a las bacterias en los ensayos de confrontación *in vitro*. En cuanto al control de *F. oxysporum*, se obtuvieron 8 bacterias con actividad fungistática y 1 con actividad fungicida. Estos resultados sugieren que algunas de estas bacterias podrían ser usadas como una alternativa ecológica y eficaz, al uso de productos químicos, en la lucha contra hongos patógenos en cultivos hortícolas. Este trabajo ha sido financiado por INIA (Proyecto RTA2012-00006-C03) y fondos europeos (FEDER).

Palabras clave: *Macrophomina*; *Fusarium*; Hortícolas.

INOCULATING COWPEA IN MOZAMBIQUE WITH RHIZOBIAL SELECTED STRAINS

Cesar Heraclides Behling Miranda, Simone Palma Favaro

Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, Brazil

The productivity of cowpea (*Vigna unguiculata*) in Mozambique averages 250 kg ha⁻¹, constrained, among other factors, by nitrogen (N) availability. The contribution of biological N fixation (BNF) by native strains is unknown, and inoculation is not adopted. The aim of this work was to evaluate the grain productivity of the cowpea variety Guariba inoculated with some selected rhizobia strains (SEMIA 6461, SEMIA 6462, SEMIA 6463 and SEMIA 6464). The experiment was conducted in Nampula, Mozambique, in an Entisol Quartipsamment soil. Efficiency of the inoculation was compared to three non-inoculated controls: non-inoculation, no N added; non-inoculation plus 100 kg N/ha; and non-inoculation plus 200 kg N ha⁻¹. Experimental design was a random complete block, with four blocks, being every replication six rows of seven meters each, apart each other 0.45 m. Space between replications was 0.9 m, and between blocks was 1.8 m. Soil was limed (1 Mg ha⁻¹) and fertilized at planting with 60 kg P₂O₅ ha⁻¹ (as triple superphosphate) and K₂O (as potassium chloride). Planting was made at the end of January, 2014. After 15 days of germination, plants were roughed out, being left a single plant every 0.2 m in the rows. Parcels of 9 m² within the internal rows were harvested after 87 days planting, when grains moisture reached around 200 g kg⁻¹. There was a large variation in grain productivity within replications, mainly because of poor rainfall and random attack of the parasitic plant *Alectra vogelli*. The variance analysis of the data indicated significant differences (P<0.05) only between the productivities of the non-inoculated with no N addition (660 kg of grains ha⁻¹) and the non-inoculated plus 200 kg N.ha⁻¹ (1572 kg ha⁻¹) controls. The non-inoculated plus 100 kg N.ha⁻¹ control produced 1098 kg ha⁻¹, while inoculation with SEMIA 6461, SEMIA 6464 and SEMIA 6462 strains resulted in productivities averaging 810, 953 and 1112 kg.ha⁻¹, respectively. The inoculation with SEMIA 6463 resulted in productivity of 1453 kg grains ha⁻¹. Despite the lack of statistical significance, these data suggest that it is possible to enhance cowpea grain productivity in Mozambique with the usage of FBN-efficient rhizobial strains. Possibly such strains could be selected locally, since nodules are always observed in a plethora of cowpea varieties and farming conditions.

Keywords: Grain productivity; Biological nitrogen fixation.

SESSÃO PÔSTER VI

**TECNOLOGIAS EM INOCULANTES
E INOCULAÇÃO**

A TEMPERATURA DO CULTIVO ALTERA A PRODUÇÃO DE MICROALGAS: O POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE BIOENERGIA NO PARANÁ

Lucas Alves Maroubó¹, João Henrique Caviglione², Diva de Souza Andrade²

¹IAPAR/Uel; ²IAPAR, Londrina-PR, Brasil, caviglione@iapar.br

As microalgas produzem metabólitos de interesse energético, sendo uma fonte renovável para produção de biocombustíveis, entre outras aplicações. Embora ocorram desde regiões temperadas a tropicais, ainda são escassos os trabalhos que estudam os efeitos da temperatura no desenvolvimento das microalgas. Este trabalho avaliou a produção de biomassa, lipídeos e clorofilas a, b e c por microalgas clorófitas, visando à produção de bioenergia e outras aplicações, quando cultivadas em temperaturas que ocorrem em diferentes regiões do Paraná. Os tratamentos foram distribuídos em parcelas subdivididas, em que, nas parcelas foram alocadas quatro condições de temperatura: 15/08 °C (A), 19/15 °C (B), 25/19 °C (C) e 39/25 °C (D) com fotoperíodo 12 h/12 h. As sub-parcelas receberam seis estirpes de microalgas, sendo cinco *Chlorella* sp. isoladas de águas continentais no Paraná (IPR7104, IPR7115, IPR7116, IPR7117, IPR7151) e uma *Neochloris oleoabundans* (UTEX1185). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com quatro repetições. Constatou-se que a temperatura influenciou na produção de biomassa, lipídeos e clorofilas a, b e c em algumas estirpes de microalgas. Com base nas condições de temperatura avaliadas foi possível sugerir estirpes para cultivos em larga escala, em função da distribuição espacial e sazonal da temperatura no Paraná. A temperatura do ar pode ser utilizada para sugerir cultivos em sistemas abertos, a partir da identificação da relação entre a temperatura do cultivo de microalgas neste sistema e a temperatura do ar. Para produção de biomassa, a estirpe UTEX1185 apresentou potencial de cultivo no extremo sul do Paraná, durante o inverno, onde as temperaturas médias diurnas ficam abaixo de 17 °C e as noturnas, abaixo de 11,5 °C. Entretanto, esta estirpe apresentou baixo potencial para fins de produção de lipídeo no extremo noroeste, no inverno; centro e norte, na primavera; todo o estado, no verão; e noroeste, no outono, onde as temperaturas variam entre 22 a 32 °C durante o dia e entre 17 e 27 °C durante a noite. Nestas regiões, a estirpe IPR7116 demonstrou potencial de cultivo para a produção de clorofilas. Tanto para produção de lipídeos quanto para clorofilas, a UTEX1185 apresentou potencial nas regiões: centro, no inverno; sul, na primavera; e centro-sul, no outono, onde as temperaturas médias diurnas variam entre 17 e 22 °C e as noturnas, entre 11,5 e 17 °C. A produção de biomassa seca pelas estirpes IPR7115 e IPR7116; o teor lipídico das estirpes IPR7115, IPR7117 e IPR7151; e o teor de clorofilas a, b e c das estirpes IPR7104 e IPR7151 não sofreram efeitos das condições de temperatura avaliadas.

Palavras-chave: Biomassa; Lipídeo; Potencial produtivo.

ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO E DA SOBREVIVÊNCIA DE *Azospirillum brasilense* ESTIRPES AB-V5 E AB-V6 EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

Mariana Sanches Santos¹, Jackson Seiti Gundi¹, Letícia Carlos Babujia¹,
André Luiz Martinez de Oliveira², Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, Brasil, mari_sanches_s@hotmail.com; ²UEL

Azospirillum brasilense compreende um grupo de bactérias diazotróficas associativas promotoras do crescimento vegetal. As estirpes Ab-V5 e Ab-V6 vêm sendo utilizadas na produção de inoculantes para as culturas de trigo (*Triticum aestivum* L.) e milho (*Zea mays* L.), resultando em aumento da produtividade. Inoculantes líquidos, preferidos por agricultores, são de fácil manuseio, entretanto, proporcionam baixa proteção às células, prejudicando sua sobrevivência. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma formulação líquida de inoculante com *A. brasilense* que proporcione alta concentração celular e garanta a sobrevivência das estirpes por um período comercialmente viável. As estirpes utilizadas foram as Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, que constam da Coleção de Culturas de Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas da Embrapa Soja. Foram utilizados como meio de cultivo: NFb (controle, meio tradicional para o cultivo de *Azospirillum*), FORM1, FORM2, FORM3 e FORM4. Para a realização da análise do crescimento celular foram colocadas alíquotas de 1 mL do inóculo em erlenmeyers contendo 100 mL de cada meio de cultura, previamente esterilizados. A incubação ocorreu a 120 RPM a 28 °C por 26 h. Após o período de crescimento celular, foi retirada uma amostra de 1 mL, colocada em tubo de ensaio com 9 mL de solução salina (NaCl 0,85%), produzindo a diluição 10⁻¹. Realizou-se diluições decimais até a diluição 10⁻⁷. Cada conjunto de diluição seriada foi realizado em triplicata. O método da gota foi utilizado para contagem celular, onde 30 µL da amostra foram inoculados em meio de cultura sólido (RC). A contagem de colônias foi realizada após 72 horas de incubação. O número de UFC por mililitro de formulação (N) foi calculado a partir da equação: N= Média de UFC x Fator de diluição da amostra x 33,33. Tanto para Ab-V5 quanto para Ab-V6, o meio NFb apresentou menor crescimento microbiano, 2,4x10⁸ e 2,58x10⁸, respectivamente. Para ambas as estirpes a FORM2 apresentou maior crescimento (9,62x10⁸ e 9,47x10⁸). A concentração celular de Ab-V5 caiu para 10⁷ na FORM4 após quatro dias de armazenamento e nas FORMS 1 e 3 após sete dias. A concentração de Ab-V6 se manteve em 10⁸ em todos os tratamentos após sete dias de armazenamento. Com esses dados conclui-se que, apesar de ser um meio utilizado para o crescimento de *A. brasilense*, o NFb se mostrou menos eficiente na obtenção e na manutenção de alta concentração celular quando comparado às outras formulações. A estirpe Ab-V6 apresentou maior sobrevivência celular aos sete dias de armazenamento, quando comparada Ab-V5. Estudos estão sendo conduzidos visando incrementar o tempo de sobrevivência das estirpes nas formulações.

Palavras-chave: Inoculantes; Formulações; Manutenção.

AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E TECNOLOGIAS DE INOCULAÇÃO PARA A CULTURA DA SOJA NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO MARANHÃO

Gisele Freitas Vilela¹, Mariangela Hungria¹, Marco Antonio Nogueira¹,
Leonardo José Motta Campos¹, M. D. M. Silva²

¹Embrapa Soja, Balsas, Brasil, *gisavilela1@gmail.com*; ²IFMA

O sul do Estado do Maranhão integra a região denominada MATOPIBA, cuja produção de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a terceira do país. As diretrizes dadas para esta região de expansão agrícola pretendem aliar a alta produtividade com a sustentabilidade, o que torna fundamental a contribuição dos microrganismos na nutrição e crescimento das plantas. Estudos envolvendo testes de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio (FBN) para as condições edafoclimáticas da cultura da soja na região norte e nordeste do país foram muito poucos, até o momento. Este trabalho teve como objetivo avaliar e validar estirpes e concentrações de bactérias diazotróficas, tecnologias de inoculação e inoculantes para a cultura da soja na região sul do Estado do Maranhão. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 15 tratamentos e seis repetições. O ensaio foi conduzido no campo experimental do IFMA (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão) Campus São Raimundo das Mangabeiras – MA, entre dezembro de 2014 e abril de 2015. Os tratamentos consistiram em quatro estirpes de *Bradyrhizobium* comerciais (SEMIA 5079, SEMIA 5080, SEMIA 587 e SEMIA 5019, em inoculante turfoso, aplicadas para fornecer 1.2 milhões de células (mc/semente); coinoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* SEMIA 5079 + 5080 e *Azospirillum* AbV5 + AbV6 turfoso; estirpes SEMIA 5079 + 5080 nas dosagens 1.2; 2.4; 3.6 e 4.8 mc/semente turfoso; inoculante líquido comercial 2 doses (SEMIA 5079+5080); inoculante líquido comercial no sulco 3 e 6 doses; inoculante comercial Lastro; controle não inoculado e controle não inoculado com adubação nitrogenada (200 kg de N/ha, 50% na semeadura e 50% no florescimento). Foram analisadas as seguintes variáveis: produção de grãos (kg/ha), massa de nódulos secos, N nos grãos, número de nódulos por planta e massa da parte aérea seca. Os tratamentos SEMIA 5079+5080 com 3.6 mc, SEMIA 5080, Inoculante líquido 2.4 mc na semente, SEMIA 5079+5080 com 2.4 mc e inoculante no sulco 7.2 mc foram semelhantes em produção kg/ha. O tratamento SEMIA 5079+5080 com 3.6 mc resultou em maior rendimento e N nos grãos, produzindo, em média, 47% a mais do que o tratamento controle com adubação nitrogenada. O tratamento SEMIA 5079+5080 com 3.6 mc também foi superior em número de nódulos/planta e massa da parte aérea seca. Os tratamentos SEMIA 5079+5080 com 3.6 mc, SEMIA 5080, Inoculante líquido 2.4 mc na semente, SEMIA 5079+5080 com 2.4 mc e inoculante no sulco 7.2 mc produziram, em média, 28% a mais do que o controle com adubação nitrogenada.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; Inoculante; Bradyrhizobium.

AValiação de Soluções Diluentes e Meios de Cultivo PARA RECUPERAÇÃO DE CÉLULAS DE *Rhizobium tropici* EM SEMENTES DE FEIJÃO

Isabel Cristina Mendonça Cardoso Jakoby, Tâmara Peres Ferreira dos Santos,
Moacir Ribeiro Neto, Lucas Santana Pinto, Edson Luiz Souchie

Instituto Federal Goiano, Rio Verde, GO, Brasil, isabeljakoby@gmail.com

Similarmente ao realizado na cultura da soja, a recuperação de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Rhizobium tropici*, inoculadas em sementes de feijão, é estratégica do ponto de vista científico e comercial. O estabelecimento de um eficiente protocolo de recuperação/quantificação de UFC, abre as portas para uma série de estudos estratégicos na área de tecnologia de inoculação, controle da qualidade de inoculantes e também de compatibilidade entre produtos. Com este trabalho, objetivou-se definir a solução diluente e o meio de cultura que permitam a quantificação do maior número UFC de *Rhizobium tropici*, após a inoculação de sementes de feijão, para estabelecer um protocolo de análise laboratorial. As sementes foram inoculadas com duas formulações de inoculantes, contendo a bactéria diazotrófica *Rhizobium tropici* SEMIA 4077, seguindo as recomendações dos fabricantes. Duas horas após a inoculação, amostras de 100 sementes foram coletadas e colocadas sob agitação nas soluções diluentes (solução de sacarose - 4%; solução salina - NaCl 0,85% com Tween 80 - 2,5% p/v; água peptonada e água deionizada). Os meios de cultura testados foram o meio manitol-extrato de levedura-ágar (YMA) com vermelho congo e meio triptona-extrato de levedura-ágar (TY). Após 15 minutos de agitação, alíquotas de 1 mL foram diluídas sucessivamente até 10^{-4} . Na sequência, 100 μ L das três últimas diluições foram retirados e inoculados, em triplicatas, nos meios de cultura. As placas de Petri foram incubadas em estufa de crescimento por sete dias a 28°C e a contagem de UFC de *Rhizobium tropici* feita diariamente, a partir 4º dia, quando se observou o início do crescimento. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (5%). Nas duas formulações de inoculantes avaliadas, a água peptonada foi o diluente que possibilitou a recuperação do maior número de UFC. Com a formulação sólido-turfosa, o uso da água peptonada possibilitou a recuperação de $2,83 \times 10^3$ e $3,9 \times 10^3$ UFC semente⁻¹ utilizando os meios YMA e TY, respectivamente. Nas sementes inoculadas com a formulação líquida, apenas o meio TY possibilitou crescimento de UFC, com média de $2,69 \times 10^4$ UFC semente⁻¹, utilizando água peptonada como diluente. A análise dos resultados permitiu concluir que, para estabelecer um protocolo de análise, novos testes precisam ser realizados considerando outros tempos de agitação, pois os valores de UFC recuperados foram inferiores ao exigido pela legislação vigente. Fonte financiadora: MCT/CNPq Chamada Pública MEC/SETEC/CNPq Nº 94/2013.

Palavras-chave: Inoculantes; Rizóbios; Feijoeiro.

AValiação Econômica da Co-Inoculação de *Rhizobium tropici* E *Azospirillum brasilense* NO FEIJOEIRO-COMUM

José Eduardo Barbosa de Souza¹, Enderson Petrônio de Brito Ferreira²

¹UFG, Goiânia, Brasil; ²Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Brasil, enderson.ferreira@embrapa.br

O feijoeiro-comum foi cultivado em uma área de 2,98 milhões de hectares na safra 2014/15 no Brasil, produzindo 3,15 milhões toneladas. Estima-se que o gasto com fertilizantes nitrogenados supera R\$ 500 milhões por ano. No entanto, a literatura tem demonstrado a possibilidade do fornecimento de N via processo de fixação biológica de N₂ para a cultura, alcançando produtividades acima de 2.500 kg ha⁻¹. Esse bom rendimento pode ser ainda melhorado com o uso de bactérias que apresentam outros mecanismos de promoção de crescimento. O objetivo deste trabalho consistiu em determinar o efeito da co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nos parâmetros econômicos da cultura do feijoeiro-comum. Foram realizados quatro experimentos em condições de campo, dois em 2013 e dois em 2014. O delineamento foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Para avaliação do custo da produção da cultura do feijoeiro-comum, foram utilizadas as informações da Federação da Agricultura e Pecuária de Goiás (FAEG). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para os experimentos realizados em 2013, o tratamento inoculação da semente com duas doses de *R. tropici* no plantio, mais uma pulverização de três doses de *A. brasilense* na fase fenológica V2/V3, foi o de melhor retorno financeiro, retornando R\$ 5,52 para cada real aplicado, resultando em uma receita líquida de R\$ 8.786,63 ha⁻¹, contra R\$ 8.274,85 observada no tratamento com N. Para o ano de 2014, o tratamento inoculação da semente com duas doses de *R. tropici* no plantio, mais uma pulverização de três doses de *A. brasilense* na fase fenológica V2/V3 foi o de melhor retorno financeiro, retornando R\$ 1,80 para cada real aplicado, resultando em uma receita líquida de R\$ 1.659,76 ha⁻¹, contra R\$ 1.363,85 observada no tratamento com N. Para a média dos quatro experimentos realizados em 2013 e 2014, o tratamento inoculação da semente com duas doses de *R. tropici* mais a pulverização após plantio com três doses de *A. brasilense* na fase fenológica V2/V3 apresentou retorno médio financeiro de R\$ 3,58 para cada real investido e receita líquida de R\$ 5.081,37 ha⁻¹, resultando em R\$ 408,90 ha⁻¹ a mais que o tratamento com N. Portanto, além das vantagens ambientais, a co-inoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* apresentou retorno financeiro positivo para a cultura do feijoeiro-comum e superior ao retorno financeiro da adubação nitrogenada.

Palavras-chave: Custo de produção; Retorno financeiro; Sustentabilidade.

BIOFILMES PARCIALMENTE HIDROFÍLICOS: UMA ALTERNATIVA PARA A PROTEÇÃO CELULAR DE RIZÓBIOS EM SEMENTES PRÉ-TRATADAS

Fábio Plotegher¹, Mariangela Hungria², Caue Ribeiro¹

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos - SP, Brasil, fabioplotegher@yahoo.com.br; ²Embrapa Soja

A principal cultura de verão do Brasil é a soja que representa, segundo o MAPA, cerca de 49% de toda a área de plantio de grãos do país. O crescimento da soja nas últimas três décadas se deve aos inúmeros avanços em pesquisa e inovação. Uma das principais tecnologias utilizadas na cultura de soja é a fixação biológica de nitrogênio (FBN), que tem um papel fundamental, pois pode suprir todas as necessidades de nitrogênio (N) das plantas. Com isso, os custos de produção diminuem, pois não serão utilizados fertilizantes químicos nitrogenados. No entanto, para se ter uma boa produtividade, além de garantir o suprimento de nutrientes, torna-se necessária a escolha de sementes com padrão genético, fisiológico e sanitário adequados, pois as sementes de soja representam o principal veículo para a disseminação de doenças e pragas (fungos) de importância econômica. Desse modo, o tratamento de sementes com agrotóxicos se faz necessário para o estabelecimento da lavoura. Essa prática, porém, influencia negativamente a FBN, podendo resultar em mortalidade das bactérias em até 90% algumas horas após a inoculação, comprometendo a eficiência da FBN. Uma alternativa para diminuir os efeitos de toxidez dos agrotóxicos às células bacterianas seria a utilização biofilmes, blendas ou compósitos baseados em polímeros naturais, a fim de formar uma barreira física entre os agrotóxicos e as células. Sendo assim, este trabalho desenvolveu uma proteção (coating) a base de polímeros naturais parcialmente hidrofílicos e biodegradáveis para o recobrimento de sementes de soja tratadas com agrotóxicos. Foram preparadas suspensões em água de polímeros naturais hidrofílicos, nas concentrações de 5% a 20% em massa. As suspensões foram caracterizadas quanto à sua viscosidade e capacidade de recobrimento superficial. As sementes foram recobertas na proporção de 2% em massa do polímero em relação à de semente. Após a secagem do material, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e foram efetuadas fraturas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), visando observar a espessura da camada obtida. As imagens de microscopia mostraram que o recobrimento se mostrou uniforme em toda a extensão do grão e que as espessuras das camadas variaram de 2 a 8 micrômetros, que podem ser suficientes para evitar o contato entre as células e os agrotóxicos, diminuindo assim a mortalidade das células das bactérias fixadoras de N.

Palavras-chave: Polímero; Recobrimento; Biodegradável.

BIOMASSA MICROBIANA E SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLO COM ADIÇÃO DE CAMA DE AVIÁRIO, FOSFATO NATURAL E MICRORGANISMOS

Thainara Camila Fernandes de Quadros, Renato Yagi, Bruno Henrique Martins,
Diva de Souza Andrade, Ana Paula Zandoná, Gabriel Esteves Freitas

IAPAR, Londrina, Brasil, *thainaracfquadros@gmail.com*

O uso de resíduos orgânicos em solos agrícolas contribui para o aporte de matéria orgânica. Esta prática visa a manutenção e aumento da fertilidade e qualidade do solo, afetando a eficiência de fertilizantes minerais. Microrganismos solubilizadores de fosfato também podem contribuir para o melhor uso destes fertilizantes, pois favorecem a disponibilização de fósforo para as culturas. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de cama de aviário, fosfato natural e inóculo de rizóbio, fungo e cianobactéria sobre o teor de carbono (C) da biomassa microbiana (BM) e de substâncias húmicas (SH). O experimento foi instalado em 2015, na Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná, em Ponta Grossa, Paraná, em Latossolo Vermelho de textura argilosa. Os tratamentos foram: 1) 8.000 kg ha⁻¹ de cama de aviário (CA); 2) 4.000 kg ha⁻¹ de fosfato natural Alvorada (F); 3) CA + 4.000 kg ha⁻¹ de fosfato natural Alvorada (CAF); 4) CA + F + M (inóculo de rizóbio, fungo e cianobactéria) (CAFM); 5) tratamento controle sem adubação (TC). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições. As amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-10 cm. O C da BM foi determinado pelo método fumigação-extração. As SH foram fracionadas em ácido húmico (FAH), fúlvico (FAF) e humina (HUM), sendo posteriormente quantificado o teor de C de cada fração (C-FAH, C-FAF e C-HUM, respectivamente) pelo método de Walkley-Black. O C-HUM constituiu a maior parte do C das SH, em todos os tratamentos, devido as suas características estruturais. O tratamento (F) apresentou maiores teores de C-HUM em detrimento aos demais. C-FAH e C-FAF não denotaram alterações entre as condições analisadas. Em geral, as frações de C das SH não apresentaram variação estatisticamente significativa entre os tratamentos. O comportamento observado pode ser atribuído ao curto período de tempo para análise do processo de humificação. O C da BM foi significativamente superior em relação ao tratamento controle (Tukey, $p < 0,05$) com valor médio de 376,25 ug C g solo⁻¹ no tratamento CAFM. Já para os tratamentos CA, CAF, F e TC os valores médios de BM foram 355,5; 339,75; 305,5 e 291,75 ug C g solo⁻¹, respectivamente, não diferindo entre si. A aplicação conjunta de cama de aviário, fosfato natural e inóculo de microrganismos contribuiu para o aumento da biomassa microbiana em Latossolo Vermelho argiloso.

Palavras-chave: Cianobactéria; Humina; Rizóbio.

BIOPOLÍMERO NATURAL: SU UTILIZACIÓN COMO VEHÍCULO DE BIOFERTILIZANTES DE MANÍ

Montoya Patricia¹, Bianco María Verónica², Páez Gerardo³, Melchiorre Mariana²

¹Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales; ²Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, Córdoba, Argentina, bianco.maria@inta.gob.ar;

³Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Nacional

La República Argentina es el segundo exportador mundial de maní y la producción se desarrolla principalmente en el centro y sur de Córdoba. En este cultivo el uso de recubrimientos en las semillas además de permitir encapsular y vehiculizar bioinsumos y otros compuestos, posibilita reducir daños en el tegumento y las consecuentes pérdidas de germinación que ocurren durante la clasificación, acopio y siembra. Con el objetivo de contribuir al incremento de la producción sustentable y no contaminante en la región semiárida central de Argentina, se planteó desarrollar tecnologías innovadoras de aplicación de biofertilizantes microbianos a semillas de maní. En el presente trabajo se muestra el desarrollo de un recubrimiento biopolimérico para semillas de maní usando una matriz porosa natural como vehículo y soporte del simbiote específico. Semillas de maní ASEM 484 INTA fueron recubiertas con el biopolímero compuesto por almidón de mandioca, colágeno y glicerol. Luego de estabilizar la mezcla a 70°C se la enfrió a 25°C y se le adicionó un cultivo de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 6144 (1,7x10⁹ bacterias/120 g de semillas). Para la aplicación del recubrimiento se empleó una paila rotatoria con circulación forzada de aire. Los procedimientos se realizaron en condiciones de asepsia. Se cuantificó la viabilidad de las bacterias inmersas en el polímero a lo largo del tiempo mediante la técnica directa de recuento de unidades formadoras de colonias. Dichos valores se correlacionaron con la reacción de hidrólisis del compuesto diacetato de fluoresceína como método alternativo rápido de cuantificación de carga microbiana. Las semillas recubiertas se sembraron en macetas con tierra esterilizada, para la evaluación del número de nódulos y parámetros de crecimiento y en cámaras húmedas para evaluación del poder germinativo. La velocidad de germinación fue mayor en las semillas recubiertas que en las no recubiertas posiblemente debido al aumento de la velocidad de imbibición atribuible a la gran higroscopicidad del recubrimiento. Fue posible recuperar *B. japonicum* viables a partir de los recubrimientos y obtener plantas noduladas usando estas semillas. Aquellas plantas provenientes de semillas recubiertas con el agregado de *B. japonicum* en la matriz presentan un aumento significativo del peso fresco y peso seco de los nódulos. También se observa un aumento estadísticamente significativo del número total de nódulos por plantas. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la tecnología aquí planteada es una opción válida y eficiente para optimizar el rendimiento del cultivo de maní incrementando la disponibilidad de nitrógeno propiciando el establecimiento de la simbiosis.

Palabras clave: Recubrimiento biopolimérico; Fertilización biológica; Producción sustentable.

CHARACTERIZATION OF EFFECTIVE NATIVE RHIZOBIA ISOLATES FOR GROUNDNUT INOCULATION IN GHANA

Ophelia Osei¹, Ivan de Alencar Menezes Júnior², Jacob Ulzen¹,
Janaina Costa Ribeiro Rouws³, Benjamin D. K. Ahiabor⁴, Robert Michael Boddey³,
Robert Clement Abaidoo¹, Luc Felicianus Marie Rouws³

¹Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana,
oosei52@yahoo.com; ²UFRRJ; ³Embrapa Agrobiologia;
⁴CSIR - Savanna Agricultural Research Institute

Inoculation of legumes with exotic strains of rhizobia on farmers' fields in Ghana is rare particularly in groundnut cultivation. Few inoculation studies attempted on this legume revealed conflicting results presumably due to competition barrier posed by native rhizobia. These competitive characteristics coupled with the presence of moderate to highly effective native rhizobium strain populations, adapted to the prevailing environmental conditions, highlights a possibility of obtaining native strains with symbiotic potentials equal to, or even superior to exotic inoculant strains. This study sought to identify, describe and assess the effectiveness of indigenous rhizobium population from uninoculated farmers' fields to select highly effective strain(s) for increased groundnut productivity. Bioprospecting for nodules from cowpea and groundnut at their mid – flowering stages in northern Ghana was done followed by isolation and authentication of isolates under controlled conditions. An initial greenhouse evaluation of the symbiotic potential of the isolates (65) in comparison with the Brazilian strain (BR 3267) was conducted in sterilized river sand. Fifteen percent of the isolates had symbiotic effectiveness indices similar to the strain BR 3267 and were selected for further testing on a Brazilian groundnut variety (BR 1) in comparison to the recommended strain for groundnut inoculation (BR 1436) in a Leonard jar system. Seven of the isolates induced nodule formation on groundnut with significant differences ($P<0.05$) in nodulation and shoot dry weight (SDW). Isolates NAG0216 and NAG0716, which were found to belong to the genus *Bradyrhizobium* by 16S rRNA gene sequence analysis, produced SDW which were statistically similar to the dry weights produced by the positive control treatments (+ N; BR 3267, and BR 1436). Total nitrogen (N) accumulation by plants varied significantly ($P<0.05$) with isolate NAG0716 producing the highest. The N accumulated by NAG0716 inoculated plants was not significantly different from the positive control strains and N treated plants. Shoot to root ratio also varied significantly ($P<0.05$) with NAG0716 producing the highest (15.28) which was 86% higher than the – N, uninoculated control. The isolate NAG0716 therefore appears to possess superior symbiotic potential and is a promising strain for use as groundnut inoculant in Ghana.

Keywords: *Competitiveness; symbiotic potential; biological nitrogen fixation.*

COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS UTILIZADAS NA CONTAGEM DE FUNGOS NÃO-MICORRÍZICOS EM LABORATÓRIOS DE CONTROLE

Paloma Garcia Cabrini, Carolina Espeche, Jéssica Horwat,
Rosana Massa, Claudio Penna

Stoller do Brasil, Cosmópolis, Brasil, pcabrini@stoller.com.br

Os fungos filamentosos, em especial do gênero *Trichoderma*, são cada vez mais utilizados na agricultura brasileira como biocontroladores de pragas e promotores de crescimento vegetal. Como consequência, há uma maior demanda de análises de qualidade desses produtos nos laboratórios das indústrias produtoras, importadoras ou exportadoras e órgãos regulamentadores. No entanto, não há um protocolo recomendado para o controle de qualidade. Além disso, os resultados são expressos em alguns casos de forma ambígua, utilizando-se como sinônimos os termos: conídios, conídios viáveis e unidades formadoras de colônias. Com essa problemática, planteou-se como objetivo comparar três metodologias de controle de qualidade de produtos que contem esporos de *Trichoderma* que geram resultados em 1) conídios (totais), 2) conídios viáveis e 3) em unidades formadoras de colônias usando um mesmo produto comercial oleoso, registrado no Ministério de Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA). Para tanto, utilizou-se um protocolo para contagem de conídios em câmara de Neubauer (recomendado em cursos de capacitação de Embrapa Meio Ambiente), outro para porcentagem de conídios viáveis (sugerido pela Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico) e um terceiro para unidades formadoras de colônias (protocolo validado internamente em comparação com o recomendado em cursos de capacitação de Embrapa Meio Ambiente). Avaliaram-se em duplicata e em três momentos distintos, 39 lotes diferentes de um produto comercial, suspensão concentrada oleosa à base de *Trichoderma* spp., registrado no MAPA. Os resultados foram analisados com o programa GraphPad Prism 6. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre as três metodologias, sendo que a primeira apresentou os valores maiores (consideram-se conídios vivos e mortos) e a terceira os menores. As diferenças foram mais marcadas no último ponto de análises. Embora com as metodologias 2) e 3) sejam contados os conídios viáveis, a 2) tem um componente de subjetividade importante. Portanto, enquanto não exista uma metodologia validada e recomendada por órgãos de controle competentes, é de suma importância na hora de informar os resultados de análises deste tipo de produtos, deixar em claro o que e como foi medido para evitar ambiguidades.

Palavras-chave: Contagem de conídios; *Trichoderma*; Comparação de metodologias.

COMPATIBILIDADE DO FERTILIZANTE LÍQUIDO NUCLEUS O-PHOS COM *Bradyrhizobium japonicum* FASE LABORATÓRIAL

Daniela Tiago da Silva Campos¹, Salomão Lima Guimarães¹, Thayllon Victor da Silva¹,
Marcos Franciel Alves de Freitas¹, Jeniffer Lorraine Silva Rodrigues¹,
Renato De Almeida Júnior²

¹UFMT, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, camposdts@yahoo.com.br; ²Country Manager -
Brasil Marubeni Specialty/Helena

A cultura da soja é responsável por mais de 56 % da área cultivada do país, permanecendo como a principal responsável pelo aumento de área, com uma estimativa de 3,6 % de crescimento (1,1 milhão de hectares). A utilização de micro-organismos e produtos químicos, como fertilizantes líquidos e defensivos agrícolas na agricultura é cada vez mais frequente, dada a crescente preocupação da comunidade científica em garantir melhores resultados, quantitativa e qualitativamente, nas produções agrícolas, não deixando, no entanto, de defender o ambiente, de forma a obter-se um desenvolvimento agrícola sustentável. O trabalho teve como objetivo avaliar, em laboratório, a compatibilidade da mistura do fertilizante Nucleus O-PHOS com *Bradyrhizobium japonicum* após 30 min. da mistura pronta. O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Solo da FAMEVZ, Campus de Cuiabá, MT e quantificou-se a sobrevivência de *B. japonicum* em meio de cultura 79 acrescido de vermelho Congo e os antibióticos vancomicina e actidione. Utilizou-se um inoculante comercial que continha as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* Semia 5079 e *Bradyrhizobium diazoefficiens* Semia 5080, na concentração de 3×10^9 UFC/mL, onde foi utilizada a dose de 1200 mL/ha, recomendada pelo fabricante para a aplicação no sulco de plantio. Para o Nucleus O-PHOS na formulação 08-24-00 e a densidade de 1,28 g/L utilizaram-se as doses de 10, 20 e 30 L/ha; como testemunha utilizou-se a mistura do inoculante com água de torneira. Após a mistura e decorridos os 30 min. fez-se a diluição seriada em solução salina (0,9 %) e distribuição de 200 µL da mistura em meio de cultura com o auxílio de alça de Drigalsky. As placas foram incubadas à temperatura de 28 °C por 7 dias. Os resultados obtidos evidenciam que a simples mistura do inoculante com a água de torneira já promove um decréscimo na população de bactérias fixadoras de nitrogênio, que foi de $1,5 \times 10^7$ UFC/mL, seguida pelas quantidades de $1,4 \times 10^7$ UFC/mL; 1×10^7 UFC/mL; 5×10^6 UFC/mL resultantes das respectivas doses 10, 20 e 30 L/ha de Nucleus O-PHOS. Conclui-se que houve uma redução no número de bactérias fixadoras de nitrogênio, mas não chegou a atingir níveis críticos e nem esteve à beira dos recomendados pelo MAPA.

Palavras-chave: Transferência de tecnologia; Contagem de bactérias fixadoras de nitrogênio; Fertilizante líquido.

CULTIVATION OF MICROALGAE USING HYDROPONIC FERTILIZERS SUPPLEMENTED WITH YEAST EXTRACT

Gisele Milani Lovato¹, Alisson Wilson dos Santos Sanzovo¹, Lucas Alves Maroubos², Guilherme Henrique Bruno³, Victor Mello⁴, Paulo Salomon⁵, Diva de Souza Andrade¹

¹IAPAR, Ibioporã, Brazil, *allissonuenp@gmail.com*; ²UEL; ³UNIFIL; ⁴UNOPAR; ⁵UFRJ

Microalgae are photosynthetic microorganisms, which have huge potential for biofuel production, however the medium culture represents about 30% of total production costs. To reduce this cost on a commercial scale-up, culture medium formulated with agricultural fertilizers could be an option, because these provide nutrients at lower price. The objective of this study was to evaluate the growth of microalgae in culture media contained nitrate of calcium (CaNO_3), monoammonium phosphate ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), formulated N/P/K/Mg/S and micronutrients. We analyzed one strain of diatom (UFRJ-3D) isolated from caatinga and two strains of chlorophytes, IPR7104 and IPR7016, which were isolated from continental waters in Parana, Brazil and maintained in the Collection of Microorganisms (IPR) at Instituto Agronômico do Paraná, of Soil (IAPAR). These two green microalgal strains were cultivated with different nitrogen and phosphorus (N:P) ratios to determine their potential growing in media contained fertilizers to provide nutrients. It was included two control treatments, Modified Guillard's Culture Medium (f/2) for diatom and Bold's Basal Medium (BBM) for chlorophytes. The seven treatments evaluated consisted of three N:P ratios of 1:1 (M1); 3:1 (M2) and 5:1 (M3) and two doses of yeast extract as a supplementary source of nitrogen, organic carbon, and vitamins, that was added with one-day (YE1) and two-day intervals (YE2). The experimental assay was carried out with three repetitions in 250 mL glass flask containing 100 mL of medium on a rotary shaker with 85 rpm at 28°C under a white fluorescent light at $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ with photoperiod of 12:12 h light:dark for two weeks. Electric conductivity was in an average significantly higher in the M3 with YE2. For the two strains, the pH of media did change only between BBM and the media with fertilizers. Media made with fertilizers presented an average of pH7.31 and 7.49 while BBM had pH8.7 and 9.27 for strains IPR7104 and IPR7016, respectively. Electrical conductivity (mS cm^{-1}) was higher in medium M3 with (YE2) for both strains, showing an average 6.9 fold than BBM. Optical density measured at 670 nm was higher in media with yeast extract (YE1) for both strains. The dry biomasses of IPR7104 ranged from 3.53 to 7.80 g L^{-1} without significant differences between the media, whereas IPR7016 produced 7.80 g L^{-1} in medium M3Y2 that was significantly different from those in BBM with 4.18 g L^{-1} . In conclusion, the cultivation of diatom and green microalgae using fertilizers as a source of nutrients is a viable alternative that provide increased growth.

Keywords: Biomass; Electrical conductivity; Optical density.

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE INOCULANTES ESPECÍFICOS FORMULADOS CON MICROORGANISMOS SELECCIONADOS POR ZONA

Daniela S. Bruzzese¹, Lucrecia Pobliti¹, Aníbal R. Lodeiro²

¹Barenbrug Argentina, Pergamino, Argentina,
inoculantes@barenbrug.com.ar; ²IBBM-UNLP-CONICET

Ante la creciente demanda de alimentos a nivel mundial, surge la necesidad de optimizar los recursos para maximizar la producción agropecuaria y alcanzar el máximo potencial de cada unidad productiva. Uno de los principales requerimientos nutricionales del cultivo de soja (*Glycine max*) es el nitrógeno (N), cuya disponibilidad en el suelo es variable y suele ser limitante del rendimiento. La fijación biológica de nitrógeno puede aportar hasta un 70% del nitrógeno requerido por la planta, lo cual implica un enorme ahorro en fertilizantes químicos y una considerable disminución del daño ambiental. En Argentina la inoculación de soja se ha realizado tradicionalmente con *Bradyrhizobium japonicum* E-109, cepa utilizada por todas las compañías formuladoras de inoculantes por ser la primera en aislarse y demostrar resultados positivos sobre el cultivo. En este trabajo se aislaron y evaluaron nuevas cepas de diferentes áreas geográficas del país con el objetivo de desarrollar inoculantes comerciales específicos para cada región, con mejor desempeño que los inoculantes tradicionales de aplicación general. Los aislamientos se caracterizaron morfológica y fisiológicamente en medios de cultivo específicos. Se realizó una primera selección en función de las propiedades simbióticas y características de fijación biológica de nitrógeno y la correspondiente caracterización genética mediante análisis de secuencia de ARN 16S. Las cepas seleccionadas en esta instancia fueron luego evaluadas en cuanto a su capacidad de ser multiplicadas eficientemente a escala industrial, tanto en cultivos axénicos como en co-cultivos. Finalmente, el comportamiento de cada una de las formulaciones desarrolladas en base a la combinación de estas cepas fue evaluado a campo bajo diferentes condiciones edafoclimáticas. Los resultados obtenidos en estos ensayos resaltan claramente la influencia ambiental sobre el desempeño de las cepas utilizadas como inoculante. Durante tres campañas consecutivas, la producción del cultivo de soja resultó consistentemente superior en aquellos tratamientos donde la semilla había sido inoculada con formulaciones especialmente desarrolladas para ese ambiente. El incremento promedio de los rindes resultó ser de hasta un 8% en comparación con los inoculantes tradicionales y un 15% en comparación con el cultivo sin inoculante. Este resultado demuestra que es posible incrementar los rindes del cultivo de manera sustentable, potenciando tecnologías ya aplicadas a la producción.

Palabras clave: Inoculación; Soja; Ambientes.

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE INOCULANTES CONTENDO *Rhizobium tropici* CIAT 899 PARA A CULTURA DO FEIJOEIRO

Jackson Seiti Gundi¹, Letícia Carlos Babujia², Marco Antonio Nogueira²,
André Luiz Martinez de Oliveira¹, Mariangela Hungria²

¹UEL, Londrina, Brasil, jackson_seiti89@hotmail.com; ²Embrapa Soja

Phaseolus vulgaris L., conhecido popularmente como feijão comum, representa a principal fonte proteica na dieta de mais de 300 milhões de pessoas. A produtividade média do feijoeiro pode ultrapassar 3500 kg ha⁻¹, no entanto, a implementação de práticas agrícolas inadequadas e a deficiência no suprimento de nitrogênio fazem com que a produtividade média nacional seja baixa. Neste contexto, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) promove melhorias na cultura do feijoeiro a baixo custo e de maneira sustentável. Bactérias do gênero *Rhizobium*, como *Rhizobium tropici* CIAT 899 (=SEMIA 4077), fornecidas na forma de inoculantes, são capazes de suprir o nitrogênio necessário à cultura, garantindo rendimentos duas ou mais vezes superiores à média nacional. A principal limitação ao uso de inoculantes na cultura do feijoeiro se deve à preferência dos agricultores por formulações líquidas, pela maior facilidade de aplicação. Contudo, a taxa de sobrevivência dessas bactérias cai drasticamente durante os primeiros meses de armazenamento, não mantendo as concentrações mínimas estabelecidas pela legislação brasileira. O objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações líquidas de inoculantes contendo *R. tropici* CIAT 899 para a cultura do feijoeiro, com altas concentrações celulares e com a manutenção da viabilidade celular mínima exigida pelo MAPA (1,0+E09 UFC mL⁻¹) após o armazenamento. Foi empregado o teste Tukey para comparação entre as médias em UFC mL⁻¹ das formulações a $p \leq 0,05$. Inicialmente, realizou-se a otimização de componentes do meio visando aumento da concentração celular e, posteriormente, avaliou-se a viabilidade de *R. tropici* após o armazenamento a 26 ± 2 °C na formulação desenvolvida. A formulação obtida foi produzida em escala semipiloto, em fermentador com capacidade de 10 L. A viabilidade celular foi avaliada segundo as metodologias estabelecidas pelo MAPA (Instrução Normativa nº 30 de 2010) para contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Em sequência, foram avaliados diversos aditivos com capacidade de prolongar a viabilidade celular de *R. tropici* no meio em desenvolvimento. A formulação básica de inoculante líquido desenvolvida permitiu a obtenção de altas concentração celulares em escala semipiloto ($1,28E+10 \pm 2,52E+09$ UFC mL⁻¹), no entanto, foi observada uma acentuada redução celular após o armazenamento. Os aditivos A e B contribuíram com aumentos na sobrevivência de 2,93 e 3,10 vezes, respectivamente, após 28 dias de armazenamento, enquanto o aditivo C permitiu um incremento de 8 vezes na viabilidade celular durante o mesmo período de armazenamento. Financiamento: Embrapa, Projeto CNPq (562008/2010-1), bolsa de mestrado do CNPq, bolsa de pós-doutorado do CNPq (505155/2013-3).

Palavras-chave: Inoculante; Feijão comum; *Rhizobium*.

EFEITOS DA COINOCULAÇÃO DE QUATRO DIFERENTES ESPÉCIES BACTERIANAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS NA CULTURA DO MILHO

Joatan Césare Andrades Clamer¹, Ezequiel Kleinschmitt¹, Maurício Rosa Magro¹, José Filipe dos Santos Maciel¹, Rangel Viganó², Sonia Purin da Cruz¹

¹UFSC, Curitibanos, Brasil, joatan_92@hotmail.com; ²Total Biotecnologia

A busca por alternativas que sejam capazes de reduzir custos, bem como minimizar os impactos ambientais no setor agropecuário, vem aumentando a cada dia. Dentre elas, a coinoculação é uma tecnologia em sintonia com a abordagem atual da agricultura, demonstrando sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental. Os benefícios desta técnica já são reconhecidos na cultura da soja, porém para o milho ainda não existem estudos que comprovem a sua eficácia. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito obtido pela coinoculação de quatro diferentes espécies bacterianas com relação aos parâmetros vegetativos de altura, ponto de inserção da primeira espiga e massa seca da parte aérea da cultura do milho. O experimento foi implantado durante o mês de outubro de 2015 em condições de campo no município de Curitibanos-SC. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com 5 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram: T1 – controle nitrogenado com 100% de N (50% base e 50% cobertura); T2 – 100% de N (50% base e 50% cobertura) + coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropicii*; T3 – 100% de N (50% base e 50% cobertura) + coinoculação com *A. brasilense* e *R. leguminosarum*; T4 – 100% de N (50% base e 50% cobertura) + coinoculação com *A. brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*; T5 – 100% de N (50% base e 50% cobertura) + coinoculação com *A. brasilense*, *R. tropici*, *R. leguminosarum*, e *P. fluorescens*. Todos os produtos foram fornecidos pela Empresa Total Biotecnologia. Os inoculantes foram aplicados em pulverização na linha de plantio seis dias após a semeadura e as plantas foram coletadas para análise durante o estágio R1. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que para a variável altura, a média geral foi de 2,44 m. Já para o ponto de inserção da primeira espiga os valores ficaram com média de 1,17 m. Já para a massa seca da parte aérea, a média entre os tratamentos foi de 160,58 g. Conclui-se que para a região edafoclimática em questão e a cultivar de milho utilizada, os tratamentos de coinoculação não se mostraram uma estratégia eficiente para os parâmetros vegetativos avaliados. Entretanto, ainda será realizada uma avaliação final de produtividade, a qual pode resultar em diferenças entre os tratamentos com relação ao tratamento nitrogenado, demonstrando a viabilidade da coinoculação na cultura do milho. Fonte financiadora: Total Biotecnologia e Cultivar Insumos Agrícolas e Cereais.

Palavras-chave: *Azospirillum*; *Pseudomonas*; *Rhizobium*.

ESTIRPES DE RIZÓBIO CONTRIBUEM PARA AUMENTO DA PRODUTIVIDADE E RENTABILIDADE DO FEIJOEIRO-COMUM

Dâmiany Pádua Oliveira, Marislaine Alves de Figueiredo, Bruno Lima Soares, Caio Peixoto Chain, Ricardo Pereira Reis, Augusto Ramalho de Moraes, Fatima Maria de Souza Moreira, Messias José Bastos de Andrade

UFLA, Lavras, MG, Brasil, damiany.padua.oliveira@gmail.com

O feijoeiro-comum tem grande expressão no Brasil devido ao significativo contingente de pequenos produtores rurais envolvidos em sua produção e por representar importante fonte proteica na dieta da população. Em geral, a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio pode representar redução nos custos de produção e nos impactos ao ambiente desta cultura. Considerando a diversidade e extensão territorial do país, é importante validar estirpes em diferentes condições edafoclimáticas, com vistas a consolidar sua recomendação como inoculantes. Estudos quanto à viabilidade econômica da inoculação com *Rhizobium* no feijoeiro, contudo, são escassos e poderiam auxiliar na escolha da estirpe a ser adotada. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho agrônomo de estirpes de *Rhizobium* inoculadas em sementes da cultivar BRSMG Madrepérola de feijoeiro, bem como a viabilidade econômica de seu uso em cultivo de campo. Quatro experimentos de campo foram conduzidos na primavera-verão 2012/2013, em quatro regiões de Minas Gerais. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com 4 repetições e 7 tratamentos: inoculação com as estirpes CIAT 899^T de *Rhizobium tropici*, UFLA 02-68 de *R. etli* bv. *mimosae*, UFLA 02-100 de *R. etli*, UFLA 02-127 de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e UFLA 04-173 de *R. miluonense*, mais duas testemunhas, uma sem inoculação + nitrogênio (N) fonte ureia, na dose de 80 kg ha⁻¹ N (½ em semeadura e ½ em cobertura aos 20 dias após a emergência) e outra sem inoculação e sem N mineral. A estirpe CIAT 899^T já é recomendada para a fabricação de inoculante comercial e as demais, coletadas na Amazônia, demonstraram alta eficiência na fixação biológica de nitrogênio. Concluiu-se que a simbiose do feijoeiro-comum com as estirpes avaliadas, sobretudo com UFLA 04-173, UFLA 02-127 e CIAT 899^T, permitem produtividades satisfatórias, com redução da dose de N mineral e dos custos econômicos e, conseqüentemente, dos ambientais, com alta rentabilidade. Fonte Financiadora: CAPES (PROEX 590/2014), CNPq e FAPEMIG.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio; *Rhizobium* spp.; *Phaseolus vulgaris* L.

EVALUACION DE *Azotobacter* sp. COMO BACTERIA FIJADORA DE NITROGENO, ECOTECNOLOGIA PARA EL SECTOR AGRICOLA COLOMBIANO ETAPA 1

A. Torres¹, J. Rico¹, A. Molano¹, A. Guzman²

¹Universidad ECCI, Bogota, Colombia, molano.andres@ecci.edu.co;

²Universidad Nacional

El crecimiento del sector agrícola en Colombia ha disminuido, no ha incrementado la demanda debido a que el Gobierno Nacional no ha invertido suficiente, ha habido un incremento en la demografía mayor a la que se efectúa en la oferta de alimentos conduciendo a guerras cíclicas por el recurso escaso y hay escasas de evoluciones recientes en el sector agrícola que muestren un crecimiento en la economía del país. En Colombia el suelo es utilizado y tratado con agro fertilizantes y fertilizantes con base a nitrógeno, estos pueden ser la urea, amonios, dióxidos de nitrógeno, entre otros, afectando la calidad ambiental del suelo. Este estudio pretende caracterizar y determinar el efecto de la cepas nativas de *Azotobacter* sp. sobre el crecimiento vegetario de *Pisum sativum* (arveja), como una alternativa al uso indiscriminado de fertilizantes químicos, tomando muestras de raíces y rizósfera del suelo. Sembrando el cultivo y analizando el crecimiento mediante cepas en medio sólido como agente *Azotobacter* y Ashby incubando a 34°C. Luego procediendo a llevarlo a una dilución en caldo Ashby en shaker mezclándolo durante quince días para luego inocularlas al suelo con la planta en crecimiento. La revisión bibliográfica disponible en Colombia demostró que los estudios sobre las leguminosas son relativamente escasos. Este estudio se realizó a partir de la leguminosa *Pisum sativum*, siendo esta uno de los mayores grupos de plantas alimentarias que requiere el nitrógeno como fertilizante para su crecimiento y producir una alta demanda en el mercado. El *Azotobacter* sp., es una bacteria gran negativa utilizada en este estudio como una biotecnología para brindarle nitrógeno a las leguminosas para fermentarlas sin necesidad de utilizar un agente químico. Esta bacteria tiene la capacidad de crear un medio libre de nitrógeno que resulta muy beneficioso para las plantas ya que también puede controlar enfermedades de las plantas debido a los subproductos que produce.

Palabras clave: *Azotobacter* sp.; Biofertilizante; Inoculo.

MICROORGANISMOS NA PRODUÇÃO DE BIOFERTILIZANTES A PARTIR DE COPRODUTOS DO XISTO

Gisele Milani Lovato¹, Kelly Campos Guerra Pinheiro de Goes²,
Rafael Bruno Nomura², Renato Yagi¹, Diva de Souza Andrade¹

¹IAPAR, Londrina, Brasil, gimilanibio@yahoo.com.br; ²UEL

Durante o processo de pirólise do xisto betuminoso visando à produção de óleo, gás e subprodutos, é gerado grande quantidade de resíduos, como xisto retornado (XR) e finos de xisto (FX), que podem ser trabalhados e utilizados como fertilizantes, entre outras aplicações. Nesse contexto, o objetivo foi avaliar, após um processo de digestão anaeróbica, a biodisponibilização de nutrientes com objetivo de um adubo orgânico. O experimento foi conduzido com ajuste das amostras dos coprodutos XR e FX para pH neutro (7,6 aproximadamente), adicionando às amostras carbonato de cálcio. Diferentes microrganismos foram inoculados e incubados junto aos coprodutos, totalizando oito tratamentos e um controle sem inoculação, em três repetições. Os tratamentos de inoculação foram: *Rhizobium* sp. (IPR1539) isolado de solo ácido e capaz de produzir polissacarídeos; cianobactéria (IPR7120) isolada de águas continentais no Paraná; *Talaromyces pinophilus* isolado de finos de xisto; inóculo de resíduo biodigerido da suinocultura; consórcio de rizóbio, microalga e fungo; consórcio de rizóbio e microalga; consórcio de rizóbio e fungo; e consórcio de microalga e fungo. A concentração inicial dos inóculos foi: $9,9 \times 10^8$ células de rizóbio, $2,0 \times 10^5$ de fungo e $6,7 \times 10^8$ de microalga. As amostras, que constituíram de 30 mL, foram incubadas em uma proporção 1:1 (v:v) de coproduto e água, sendo adicionado 10% (do volume total) de inóculo específico de cada tratamento e 0,2% de extrato de levedura. Após incubação dos coprodutos com os microrganismos, foi observado aumento nos teores de nutrientes, exceto nitrogênio e fósforo. O teor de potássio e zinco foram maiores em XR e FX com a inoculação dos três microrganismos juntos. O teor de cálcio em XR foi maior no controle, não diferindo estatisticamente da inoculação com microalgas, rizóbio e microalgas, e rizóbio e fungo, e em FX não houve diferença significativa entre os tratamentos. O magnésio não teve valores significativamente diferentes entre os tratamentos em XR e FX, e o maior valor foi com os três microrganismos juntos. O teor de carbono não teve diferença significativa de valores entre os tratamentos na incubação dos dois coprodutos. Para as incubações com XR os valores de pH variaram de 5,0 no controle a 6,5 no tratamento com inoculação do fungo. Nas amostras com FX não ocorreu alteração significativa no pH após a microbiodigestão, e os valores mantiveram próximos do inicial. O processo de digestão anaeróbica dos coprodutos do xisto com diferentes microrganismos biodisponibilizaram os nutrientes potássio, cálcio, magnésio, enxofre e zinco.

Palavras-chave: *Talaromyces pinophilus*; *Rhizobium*; cianobactéria.

OTIMIZAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO MIXOTRÓFICO PARA PRODUÇÃO DE LIPÍDEOS, PROTEÍNAS E BIOMASSA DA *Neochloris oleoabundans*

Helder Rodrigues da Silva¹, Cássio Egidio Cavenaghi Prete¹,
Guilherme Henrique Bruno², Diva de Souza Andrade²

¹UEL, Londrina, PR, Brasil, heldersrodrigues@hotmail.com; ²IAPAR

As microalgas representam um grupo bastante heterogêneo de microrganismos fotossintetizantes que apresentam ampla versatilidade metabólica. Quando cultivadas intensivamente, as microalgas exibem potencial para gerar biomassa com múltiplos produtos de interesse biotecnológico, tais como lipídios, pigmentos e biocombustíveis renováveis. Para produções de biomassa em grandes escalas é importante considerar as diferentes formas de metabolismo das microalgas, a fim de melhorar a produtividade. Nesse grupo existem espécies de microalgas heterotróficas, capazes de oxidar compostos orgânicos externos como fonte de carbono e energia. Existem, ainda, as fotoheterotróficas, as quais necessitam de luz para oxidar compostos orgânicos, bem como espécies mixotróficas, que além da fotossíntese também são capazes de oxidar fontes de carbono. Este grupo de espécies com nutrição mixotrófica apresenta-se como uma das alternativas para aumentar a produtividade de biomassa. Assim, os objetivos deste trabalho foram otimizar um meio de cultivo mixotrófico para o crescimento da microalga *Neochloris oleoabundans* e caracterizar os produtos da biomassa obtida deste meio BBM (Bold Basal Medium) otimizado pela suplementação com extrato de levedura. O delineamento experimental em esquema fatorial completo foi composto por dois fatores e três níveis, com três repetições. Os fatores estudados foram diluição do meio BBM (20, 60 e 100%), e as doses de extrato de levedura (1,0; 6,0 e 11,0 g L⁻¹). A *Neochloris oleoabundans* (UTEX 1185) foi crescida durante 15 dias, em frascos de vidro, em câmara de crescimento com condições controladas de fotoperíodo de 12 h com temperatura de 28,0 ± 2,0°C, na fase luminosa, e 22,0 ± 2,0°C, na fase escura. A densidade de fluxo de fótons da radiação fotossinteticamente ativa foi de 100 ± 20 μE m⁻² s⁻¹. O fator diluição do meio BBM não apresentou diferenças significativas. A maior produção de biomassa seca foi de 5 g L⁻¹ no meio BBM suplementado com 11 g L⁻¹ de extrato de levedura. Os teores de clorofilas a e b e carotenoides total foram de 25,9±0,4 mg L⁻¹; 6,78±0,6 mg L⁻¹ e 8,45±0,21 mg L⁻¹, respectivamente. O teor de lipídeos na biomassa foi de 35% e o N total de 4,6%. As porcentagens de proteína foram calculadas com os fatores de conversão do N total de 4,92 e 6,25 e correspondeu a 22,89 e 30,25% de proteína. A microalga *Neochloris oleoabundans* apresenta maior produtividade de biomassa no meio de cultivo otimizado com extrato de levedura.

Palavras-chave: Bold basal medium; Extrato de levedura; Microalgas.

PRODUCCIÓN DE *Azospirillum brasilense* 1229 EN CULTIVO SÓLIDO A ESCALA SEMI-PILOTO

Cándida María Martínez-Ramírez¹, José Antonio Martínez-Ruiz¹,
Rosalba Esquivel-Cote², Ronald Ferrera-Cerrato², Gerardo Saucedo-Castañeda¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana, México,
México, *kndy_8@yahoo.com.mx*; ²Colegio de Postgraduados

La formulación de bioinoculantes incluye el uso de acarreadores para disminuir la pérdida gradual de la viabilidad durante el tiempo de anaquel. El uso de la fermentación líquida (FL) para la producción de bioinoculantes presenta algunos inconvenientes, el proceso de separación y purificación aumenta el costo total del producto; además, el tiempo de supervivencia de los microorganismos en suelo es corto. El cultivo en medio sólido (CMS) permite el crecimiento aeróbico de microorganismos en la matriz de un material sólido húmedo, ofrece condiciones similares al hábitat natural de las bacterias rizosféricas y disminuye los costos del proceso. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de *A. brasilense* 1229 en cultivo sólido en condiciones semi-piloto. La producción del bioinoculante en cultivo sólido, se realizó en un reactor batch semi piloto. La metodología y el medio de cultivo utilizados pertenecen a un compromiso confidencial de la Universidad Autónoma Metropolitana. El crecimiento microbiano se midió indirectamente por respirometría y se determinaron las UFC por el método de micro conteo en placa con medio Nfb modificado para el material fermentado húmedo y deshidratado. Se observó la máxima tasa de producción de CO₂ a 22.8 h (1.52 mgCO₂/gMSI.h). Los valores experimentales obtenidos se ajustaron al modelo logístico ($R^2 = 0.998$), se estimaron la velocidad específica de producción de CO₂ (μ_{CO_2}) y la producción máxima de CO₂ obteniendo 0.31 (h⁻¹) y 18.98 mgCO₂/gMSI, respectivamente. A 72 h, la viabilidad del material húmedo (%H=61.43) fue de $1.4 \times 10^9 \pm 0.5$ UFC/gSH y del material deshidratado (%H=3.97) $1.3 \times 10^9 \pm 0.3$ UFC/gSS. Lo anterior indica que las células se mantienen viables después del proceso de secado. El conteo de UFC a dos meses de almacenamiento a 4 y 30°C fue $2 \times 10^9 \pm 0.3$ y $1.0 \times 10^9 \pm 0.3$ UFC/gSS, respectivamente. Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura para bioinoculantes de *Azospirillum* producidos en fermentaciones líquidas. La producción de *Azospirillum* en cultivo sólido permitió obtener un producto viable para ser usado como bioinoculante.

Palabras clave: Bioinoculante; Cultivo sólido; Viabilidad celular.

PRODUTIVIDADE DE SOJA PRÉ-INOCULADA COM *Bradyrhizobium japonicum* EM CONDIÇÃO DE CAMPO

Oswaldo Machineski¹, Maria Aparecida de Matos¹, Gabriel Esteves Freitas¹,
Gabriel Ribeiro do Espírito Santo¹, Karla Cristiane de Souza Santa Clara¹,
Andréa Scaramal da Silva², Arnaldo Colozzi Filho¹

¹IAPAR, Londrina, PR, Brasil, omachineski@iapar.br; ²UEL

A fixação biológica de nitrogênio pode suprir o nitrogênio necessário à cultura da soja, reduzindo custos e aumentando a produtividade. Novas tecnologias estão sendo desenvolvidas com o objetivo de eliminar a inoculação no dia do plantio, o que dá agilidade ao processo reduzindo as atividades no plantio. A inoculação prévia das sementes com inoculantes que sejam capazes de garantir a sobrevivência e viabilidade dos rizóbios nas sementes é uma das alternativas que estão sendo propostas. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tempos de pré-inoculação da soja sobre a produtividade da cultura. O experimento foi conduzido a campo no Instituto Agrônomo do Paraná em Londrina, safra 2014/15. Os tratamentos foram a pré-inoculação da soja aos 60, 45 e 30 dias antes do plantio em sementes tratadas com os fungicidas Rocks da FMC, Standak Top da Basf e Maxin XL, e os tratamentos controle e inoculação no dia do plantio. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições. A soja utilizada foi à variedade BMX potência RR, indicada para a região e o inoculante usado foi o RIZOLIQ LLI + Premax, da Rizobacter. A adubação e tratos culturais foram conduzidos conforme recomendação para a cultura da soja. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 10%. A população naturalizada de rizóbio da soja no solo foi de $6,49 \log_{10}$ UFC g⁻¹ solo⁻¹. O inoculante atendeu às exigências da legislação brasileira quanto ao número de células viáveis de bradyrhizobium de $9,19 \log_{10}$ UFC ml⁻¹ e isento de contaminantes. A inoculação aos 60 e 45 dias pré-plantio não alterou significativamente a massa seca de nódulos, a massa seca de raízes e os teores de nitrogênio nos grãos em relação à inoculação padrão no dia do plantio. O tratamento de pré-inoculação aos 30 dias e tratamento das sementes com o Rocks, apresentou maior concentração de N nos grãos e menor massa de grãos em relação à inoculação padrão. A produtividade da soja pré-inoculada aos 60, 45 e 30 dias não diferiu da produtividade da soja inoculada no dia do plantio com o inoculante padrão.

Palavras-chave: Inoculante; Pré-inoculação; Protetor celular.

RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA À COINOCULAÇÃO, DIFERENTES FORMULAÇÕES E FORMAS DE INOCULAÇÃO

Maurício Rosa Magro¹, José Filipe dos Santos Maciel¹,
Joatan César Andrades Clamer¹, Ezequiel Kleinschmitt¹,
Rangel Vigano², Sonia Purin da Cruz¹

¹UFSC, Curitibanos, Brasil, *mauriciorosa_22@msn.com*; ²Total Biotecnologia

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da cultura da soja à coinoculação e diferentes formulações, bem como métodos de inoculação. A cultivar utilizada foi Nidera 6909. O experimento foi realizado no município de Brunópolis, estado de Santa Catarina, durante a safra 2015-2016, em local já cultivado com soja anteriormente. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 4 repetições. Cada repetição constituiu de uma parcela contendo 9 linhas com 6 m de comprimento, e espaçamento de 0,5 m entrelinhas. Foram testados seis tratamentos: 1) Testemunha sem inoculação 2) Inoculação padrão com *Bradyrhizobium japonicum* turfoso aplicado na semente. 3) Coinoculação com *B. japonicum* turfoso + *Azospirillum brasilense* turfoso, aplicados na semente 4) Coinoculação com *B. japonicum* líquido + *A. brasilense* líquido + aditivo Protege Max®, aplicados na semente, 5) Coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* aplicados em pulverização no estádio V1. 6) Coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Rhizobium tropici* + *Pseudomonas fluorescens*, aplicados em pulverização no estádio V1. Todos os produtos utilizados foram fornecidos pela empresa Total Biotecnologia. No estádio V6 foram analisados em cada planta coletada, o número de nódulos, nódulos maiores que 2 mm, nódulos viáveis, massa seca de nódulos, e massa seca da parte aérea. O tratamento 5 com pulverização de duas espécies de bactérias, diminuiu em 42% a nodulação em comparação a inoculação padrão, porém promoveu acréscimo de 18% em relação à matéria seca da parte aérea. O tratamento 6, com pulverização de quatro espécies de bactérias, aumentou em 32% a massa seca da parte aérea em comparação ao tratamento padrão. As demais variáveis avaliadas não sofreram efeito significativo dos tratamentos em questão. No final do ciclo da cultura será realizada ainda uma análise de produtividade, e poderá ser comprovada a viabilidade do uso da coinoculação na produção deste grão. Fonte financiadora: Total Biotecnologia.

Palavras-chave: Bradyrhizobium; Azospirillum; Inoculante.

SOBREVIVÊNCIA DE *Bradyrhizobium* EM SEMENTES PRÉ-INOCULADAS DE SOJA NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE AGROTÓXICOS

Marcos Vinícios Conceição Garcia, Eduara Ferreira,
Mariangela Hungria, Marco Antonio Nogueira

Embrapa Soja, Londrina, Brasil, marcosvinicioscgarcia@gmail.com

A inoculação de sementes de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* spp. representa uma opção economicamente viável para o agricultor, diminuindo os custos de produção. Os agrotóxicos usados habitualmente para tratamento fitossanitário de sementes de soja, visando o controle de pragas e doenças, são muitas vezes críticos para garantir a germinação das mesmas. Esses compostos químicos, porém, podem ser prejudiciais ao *Bradyrhizobium*, resultando em alta mortalidade de células. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência de *Bradyrhizobium* em diferentes formulações de inoculantes contendo protetores e adesivos de células, em presença de diferentes agrotóxicos e em diferentes períodos de tempo. O início da análise deu-se com o tratamento das sementes com agrotóxicos, seguindo a ordem dos tratamentos e, após 2 h, procedeu-se à inoculação com os diferentes tratamentos de inoculação. O ensaio foi conduzido com 8 tratamentos, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições e subamostras A, B e C para cada tratamento, com plaqueamento aos 0 (4 h), 7, 21 e 45 dias após a inoculação, para contagem das células viáveis. Os tratamentos foram: T1 – Inoculante Padrão (Turfoso) Estirpes SEMIA 5079 e 5080; T2 – Inoculante X (Líquido) Estirpes SEMIA 5079 e 5080; T3 – Inoculante X com Protetor Y; T4 – T3 mais Fungicida Z (Thiran, Carbendazin); T5 – T4 mais Inseticida S (Fipronil); T6 – T5 mais Inseticida T (Imidacloprid); T7 – T6 mais Nematicida N (Fluensulfone); T8 – T7 mais Polímero. No tempo zero os tratamentos T5, T6, T7 e T8 mostraram redução significativa (Tukey, $p < 0,05$) no número de células viáveis. O tratamento T3 resultou em diferença significativa em relação aos tratamentos T5, T6, T7 e T8 em todas as avaliações, alcançando a melhor taxa de sobrevivência em todas avaliações; contudo, o número de células viáveis só foi satisfatório até os sete dias de tratamento. Embora aplicando protetores, nos tratamentos em que foram utilizados agrotóxicos a taxa de mortalidade foi superior a 90% em 7 dias, chegando a 100% para o T6 em 0 (4 h) dias e 100% para o T5 em 7 dias. Os resultados indicam, portanto, que, mesmo no melhor tratamento, em condições controladas de laboratório e na ausência de agrotóxicos, o tempo máximo de inoculação antecipada foi de sete dias. Desse modo, inoculações antecipadas na presença de agrotóxicos devem ser consideradas com cuidado, mesmo na presença de protetores e adesivos bacterianos.

Palavras-chave: Recuperação de células; Inoculação; Sementes pré-inoculadas.

STRAIN SPECIFIC PCR ASSAY FOR THE DETERMINATION OF NODULE OCCUPANCY OF GRAIN LEGUMES BY THE ELITE-STRAIN BR 3262 IN GHANA

Ophelia Osei¹, Jean Luiz Simões de Araújo², Jerri Édson Zilli²,
Robert Michael Boddey², Benjamin D. K. Ahiabor³,
Robert Clement Abaidoo¹, Luc Felicianus Marie Rouws²

¹Department of Crop and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Ghana;

²Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Brazil, luc.rouws@embrapa.br;

³CSIR, Savannah Agricultural Research Institute

Inoculation of cowpea in northern Ghana with the Brazilian elite rhizobium strain *Bradyrhizobium pachyrhizi* BR 3262 has shown yield increases in field experiments. Quantifying the competitiveness and contribution of this strain to grain yield remains a major challenge partly because methods of assessing competition between introduced and native strains are not specific enough. As such, positive responses to inoculation are attributed to high symbiotic potential of introduced strains and negative responses to the greater competitiveness of native ineffective strains. This study is part of a project that aims to develop and evaluate a PCR protocol for specific detection of the BR 3262 in cowpea nodules. DNA sequences specific to the BR 3262 strain were identified by performing blast similarity analyses against the genome of the *B. pachyrhizi* type strain PAC48^T and to other closely related strains. Finally, selected genomic regions specific to BR 3262 were checked for other possible matches against the GenBank. Eleven highly specific primer pairs were designed for BR 3262 specific regions and qualitatively tested using PCR with the DNA of the target (BR 3262) and PAC 48^T strains. Gel electrophoresis confirmed that all newly selected primers only amplified the RNA of target strain (BR 3262) and not the type strain. These results imply that the primers were specific to BR 3262 *in vitro*. The next step will be to test these primers on a wider variety of bacteria and on nodules formed on inoculated cowpea plants under greenhouse and field conditions. It is expected that the primers developed in this study will facilitate the determination of nodule occupancy of cowpea by BR 3262 and its competitiveness under field conditions in Ghana.

Keywords: *Inoculation; Comparative genomics; Competitiveness.*

THE USE OF STARCH/FIBER-BASED FOAM AS INOCULANT CARRIER FOR *Azospirillum brasilense*

André Luiz Martinez de Oliveira, Karina Maria Lima Milani,
Odair José Andrade Pais dos Santos

UEL, Londrina, Brazil, almoliva@gmail.com

Extrusion technology is a high-temperature, short-duration process with the advantage of high versatility and the absence of effluents. This process enables the development of blends made of complex immiscible materials, resulting in novel homogeneous materials presenting high porosity, low density, low cost, and biodegradability. The effectiveness of a biodegradable foam – named ‘biocomposite’ (patent pending at INPI, Brazil under the protocol no. BR 1320120298626) – produced in a single step process by melt extrusion as an inoculant carrier for the plant growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense* Ab-V5 was accessed in a greenhouse trial using pots containing a 2:1 (v:v) mixture of unsterilized sand and Oxisol as substrate. Maize (hybrid P30F53H, Pioneer) growth was evaluated under four conditions: pure substrate; substrate with 2 g of uninoculated BioC; substrate inoculated with 2 mL of *A. brasilense* Ab-V5 cell suspension (2×10^6 cells mL⁻¹); and substrates with 2 g of inoculated BioC (*A. brasilense* Ab-V5, 2×10^6 cells g⁻¹ BioC). All bacterial cultures were grown on erlenmeyer flasks (250 mL volume) containing 50 mL of culture media in a rotary shaker at 150 rpm and maintained at 28 ± 2 °C for 36 h (late lag-growth phase). The maize seeds were planted at increasing intervals of time counted as days elapsed from the date of substrate preparation, starting from day 0 (one hour after substrate preparation) and thereafter at 2, 4, 6 and 10 days after substrate preparation. In addition, each pot received 200 mL of distilled water twice a week, and 200 mL of Hoagland solution modified by depleting nitrogen on a weekly basis. The evaluation of maize development after 30 days of growth indicated that *A. brasilense* Ab-V5 successfully promoted root development and dry mass accumulation. Maize plants grown on substrates that received the inoculated biocomposite 10 days before planting have shown increases in root volume and root dry weight, which was not observed for the plants grown on substrates treated with the same PGPB applied as a bacterial suspension. Plants sown in substrates treated with uninoculated biocomposite or with an *A. brasilense* suspension at later dates (2, 4, 6 or 10 days after substrate preparation) did not show any increase in the maize growth. This result indicates a protective and nutritional effect of the biocomposite and suggests its potential to sustain the viability of *A. brasilense* Ab-V5 up to 10 days after its introduction to the substrate in the absence of a host plant.

Keywords: Bacterial immobilization; Maize inoculation; Plant growth-promoting bacteria.

USO DE INOCULANTES BACTERIANOS PARA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA TORTA DE PINHÃO-MANSO

Freddy Zambrano Gavilanes¹, Helder Rodrigues da Silva¹, Rafael Guayato Nomura¹,
Carmen Luisa Barbosa Guedes¹, Diva de Souza Andrade²

¹UEL, Londrina, Brasil, *freddyzg_86@hotmail.com*; ²IAPAR

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é considerado uma oleaginosa de relevância para o desenvolvimento da bioenergia, pela percentagem de óleo em suas sementes que pode variar de 40-60%, servindo para a fabricação de biodiesel. Após o processo da extração do óleo fica a torta, que é um resíduo sólido rico em nutrientes e proteínas, mas com limitação de uso, pois possui vários fatores anti-nutricionais e tóxicos, como os ésteres de forbol. Neste contexto, avaliou-se a produção de biogás em condições de laboratório a partir da torta de pinhão-manso, usando torta armazenada durante 6 e 18 meses, com três tipos de inóculos provenientes de consórcios de bactérias, obtidos do isolamento e concentração da mesma torta e um inóculo da biodigestão de rejeitos suínos. Utilizaram-se microbiodigestores com volume de 50 mL onde foram colocadas as tortas conforme os tratamentos e como gasômetros seringas de 60 mL. Os biodigestores contendo 20% de sólidos totais foram mantidos a 30 °C no escuro durante 21 dias. Analisaram-se os sólidos totais, fixos e voláteis, a fim de determinar a eficiência do processo na remoção da matéria orgânica e seu efeito na produção de biogás. A maior produção de biogás foi de 83,67 mL, observada no tratamento controle (água) da torta armazenada durante 18 meses. Entretanto, aplicando o inóculo formado pelo consórcio de 14 bactérias no tratamento com a torta armazenada por 18 meses obteve-se a melhor concentração de gás metano, com 84,33%. Após a digestão anaeróbica os substratos apresentaram aumento significativos de macro e micronutrientes, mostrando-se ainda o potencial da torta de pinhão-manso para uso na agricultura como biofertilizante.

Palavras-chave: Jatropha curcas; Gás metano; Biofertilizante.

VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO DE CONCENTRAÇÃO E PUREZA DE INOCULANTES CONTENDO RIZÓBIOS EM PLACAS POR ESPALHAMENTO

Eduara Ferreira¹, Renan Augusto Ribeiro², Josiane Fukami³, Moisés Aquino¹,
Marco Antonio Nogueira¹, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, Brasil, eduarda.ferreira@embrapa.br; ²CNPq; ³UEL

A validação de metodologias analíticas é um dos requisitos presentes na Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005. Sendo assim, a validação da metodologia analítica para a análise de Concentração e Pureza de Inoculantes contendo Rizóbios, pelo Método do Espalhamento, é importante para a garantia da qualidade analítica e a implementação do sistema de qualidade no laboratório. Seu objetivo é demonstrar que os resultados das análises obtidos com a metodologia utilizada são precisos e confiáveis. Para a validação analítica do método em questão, os parâmetros de Precisão – repetitividade e precisão intermediária foram avaliados. A repetitividade verifica a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo, com o mesmo analista e mesma instrumentação, enquanto que a precisão intermediária verifica a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Foram utilizados inoculantes comerciais com suporte líquido e turfoso contendo estirpes comerciais autorizadas para a cultura da soja, com concentração mínima de 10^9 células/mL. Para cada amostra de inoculante foram realizadas três análises, compostas por três séries de diluições. As diluições 10^5 , 10^6 e 10^7 foram inoculadas em placas de Petri, utilizando-se três placas distintas para cada diluição. O resultado final foi expresso em UFC (Unidades formadoras de colônia)/g, para inoculantes turfosos e UFC/mL para inoculantes líquidos. O parâmetro de precisão intermediária foi avaliado em três dias diferentes e por dois analistas diferentes. A precisão do método analítico foi expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%) da série de medidas realizadas, sendo aceito valores inferiores a 50% para a repetitividade e menores que 20% para precisão intermediária, conforme a Instrução Normativa Nº 30, de 12 de novembro de 2010, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Como os resultados obtidos para todas as análises não ultrapassaram o critério de aceitação definido, pode-se considerar a metodologia analítica para a determinação da Concentração e Pureza de Inoculantes, contendo Rizóbios pelo Método do Espalhamento, do Laboratório de Biotecnologia do Solo, validada para os parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Gestão da qualidade; Precisão; Fixação biológica do nitrogênio.

SESSÃO PÔSTER VII

**ENSINO, DIFUSÃO E
TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA**

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA DE INOCULAÇÃO PARA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM SOJA

Arnold Barbosa de Oliveira¹, André Mateus Prando¹, Luís Cesar Vieira Tavares¹,
Edson de Oliveira², Marco Antonio Nogueira¹, Mariangela Hungria¹

¹Embrapa Soja, Londrina, PR, Brasil, arnold.oliveira@embrapa.br; ²Coperagro

O projeto inoculantes e a sustentabilidade da agricultura: bom para o agricultor, bom para o Brasil, tem como objetivo aumentar a adoção da tecnologia de inoculantes com base no processo de fixação biológica de nitrogênio na agricultura nacional, visando a promoção de uma agricultura com baixa emissão de carbono nas culturas de soja, milho, feijão comum e feijão-caupi. Integradas a esse projeto, diversas ações têm sido feitas na Região Sul do Brasil e no Estado de São Paulo, buscando intensificar a transferência de tecnologia (TT) da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) realizada por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e da promoção de crescimento de plantas, pela bactéria *Azospirillum brasilense*. Nesse sentido treinou-se a assistência técnica envolvida, para disseminar as boas práticas de inoculação com os microrganismos mencionados, na cultura da soja. No primeiro momento (safra 2013/2014) houve um nivelamento e interação com os técnicos da assistência técnica. A partir daí o protocolo para a implantação e condução das Unidades de Referência Técnica (URTs) foi elaborado e entregue e explicado para os técnicos utilizar em produtores que não utilizam adequadamente essa tecnologia. Após a safra 2013/2014 observou-se que o trabalho com FBN deveria ser vinculado com outras boas práticas agrícolas como manejo integrado de pragas e doenças e conservação de solo, para que houvesse uma maior integração, interesse e divulgação. A partir daquela safra se ampliou a integração com as diferentes equipes temáticas para atingir maior número de produtores. Parceiros importantes e consultores externos ajudaram a alavancar este trabalho, permitindo a promoção de encontros para divulgação de resultados. De maneira geral, o interesse pela inoculação foi retomado, revertendo uma tendência negativa que vinha se estabelecendo. O trabalho está se estendendo para as safras seguintes, buscando atingir mais produtores que ainda não utilizam a tecnologia.

Palavras-chave: Inoculante; Difusão de tecnologia; Glycine max L.

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA SOBRE INOCULAÇÃO EM SOJA EM PARCERIA ENTRE EMBRAPA E EMATER

André Mateus Prando¹, Arnold Barbosa de Oliveira¹,
Mariângela Hungria¹, Fernando Teixeira de Oliveira², Nelson Harger²

¹Embrapa Soja, Londrina, Brasil, andre.prando@embrapa.br; ²EMATER-PR

Em algumas regiões do PR a prática de inoculação com *Bradyrhizobium* da soja tem sido negligenciada por parte dos agricultores, além disso, se dissemina a utilização de nitrogênio mineral na cultura. Por essas razões, a Embrapa Soja, em parceria com o Instituto Emater-PR, promoveu na safra 2015/16 ações com objetivo de intensificar a adoção da tecnologia da inoculação com base no processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) na cultura da soja. Nesse sentido foi realizado um nivelamento técnico com os extensionistas sobre boas práticas da inoculação. Ao final do treinamento foi acordado que os profissionais participantes do treinamento conduziram Unidades de Referência Técnica (URTs) em área de agricultores para demonstrar e difundir os benefícios da FBN. Foram implantadas 45 URTs distribuídas no Estado do Paraná nas seguintes Regionais: Apucarana, Campo Mourão, Cascavel, Cornélio Procopio, Cianorte, Londrina, Maringá, Ivaiporã e União da Vitória. No mês de dezembro foi realizado um giro técnico em pelo menos uma URT de cada regional, reunindo, agrônomos, técnicos locais e agricultores. Na interação com os agricultores presentes, constatou-se que alguns não utilizam inoculante ou apenas despejam inoculante na caixa de sementes da semeadora, sem o devido cuidado com a prática de inoculação. Na ocasião foram debatidas as boas práticas para a inoculação e demonstradas nas áreas onde as sementes foram inoculadas a presença, o número, a coloração e a distribuição dos nódulos nas raízes das plantas. Outro ponto abordado foi sobre os dados de pesquisa mostrando o efeito negativo do uso de adubo nitrogenado, sobre a simbiose entre o *Bradyrhizobium* e a planta, prejudicando a FBN. O próximo passo é a divulgação dos resultados obtidos nas URTs, de modo que maior número de produtores possam utilizá-los e obter os benefícios resultantes desta tecnologia.

Palavras-chave: Bradyrhizobium; Glycine max; Difusão de tecnologia.

ÍNDICE DE AUTORES

A

A. Castellano-Hinojosa	158
A. Guzman	293
A. Molano	293
A. Torres	293
A. Valladolid.....	158
Abreo Eduardo	156
Adailson Feitoza de Jesus Santos.....	218
Adalberto Amador Rezende Filho.....	256
Adelson Paulo Araújo	220
Ademir Sergio Ferreira de Araújo	111, 193
Adeneide Candido Galdino Saraiva	139
Adesh Ramsubhag	181
Adrian Richard Schenberger Santos	157
Adriana Ambrosini.....	233
Adriana Fabra	182, 207
Adriana Montañez	255
Adriane Ribeiro da Silva.....	148, 160
Adriano Moreira Knupp.....	220
Agustín Nuñez	105
Alba Liz Gonzalez	272
Alba Lúcia Cavalheiro	214, 215
Albertha Joseph-Alexander	181
Alcides de Oliveira Gomes.....	155
Alejandro Perticari.....	103, 258
Aleksandro Ferreira da Silva	152, 153
Alex Tineo Bermúdez.....	247
Alexander Goesmann	65
Alexandre Cardoso Baraúna	140
Alexandre Daniel Schneider	221
Alexandre Lima Nepomuceno	219
Alfred Pühler	65
Alisson Wilson dos Santos Sanzovo	288
Altier Nora	156
Alvadi Balbinot	260
Amalia Baraibar	239

Amanda Aleixo	146, 149
Amanda Azarias Guimarães.....	132, 147
Amanda Favetta.....	150, 245
Amanda Kulzer	199
Amanda Painter.....	189
Amaral Machaculeha Chibeba.....	206
Amira S. Nieva	60
Ana B. Menedez	60
Ana Dolores Santiago de Freitas.....	131, 152, 153
Ana Maria Rodrigues Cassiolato.....	241, 265
Ana Paula Guimarães	225
Ana Paula Zandoná.....	197, 237, 283
Ana Tereza Ribeiro Vasconcelos	178
Anahí Coniglio	73
Anderson Jose Scherer	150, 167, 173, 189, 245
Anderson Kikuchi Calzavara.....	208, 214, 215
André Luiz Martinez de Oliveira	146, 208, 211, 214, 215, 278, 290, 301
André Luiz Oliveira de Francisco.....	197
André Mateus Prando	96, 307, 308
André Shigueyoshi Nakatani.....	183
Andréa Mittelman	271
Andrea Pérez Briones	67
Andrea Rodríguez Blanco	255
Andrea Scaramal da Silva	237, 297
Andreas Schlüter	65
Andrés Estrada-Bonilla Germán	236
Andres Garriz.....	60
Andrés Iriarte.....	144, 161, 175
Andrés Moreno-Galván	236
Andressa Estevam	199
Andrey Barbosa Cordeiro	164
Ángel Pimentel	254
Ângela C. Ikeda	205
Angélica Nunes Tiepo	208, 214
Ângelo Rafael Bini.....	209, 231, 251
Aníbal R. Lodeiro	66, 289
Anna Karolina Grunvald.....	196, 219, 228, 232
Anna Luiza Farias dos Santos.....	267, 268
Antonio Carlos Torres da Costa	199
Antônio Eduardo Pípolo	228
Antonio Gil Serrano	85

Antonio Lagares.....	65, 97
Arnaldo Colozzi Filho	191, 197, 216, 237, 297
Arnold Barbosa de Oliveira.....	307, 308
Arsenio Terrón	254
Artenisa Cerqueira Rodrigues.....	193
Artur Berbel Lirio Rondina.....	134, 238, 260
Augusto Ramalho de Moraes	242, 292
Aurenivia Bonifacio	193
Auro Akio Otsubo	104

B

B. Gomes	205
B. Soriano-Bernilla.....	158
Barbara Schaedler Fidelis Schneider	162
Beatriz do Carmo Dias	143
Beatriz Urbano	254
Benjamin D. K. Ahiabor.....	285, 300
Beyhaut Elena.....	156
Biana Harumi Kuwano	196, 238
Bianca Machado Silva.....	134
Bianca Obes Corrêa	262
Bianco María Verónica.....	284
Brad Nutt	58
Brenda Cristye Tonon	134, 238, 260
Brenda Luiza Graczyki.....	250
Breno Augusto Moraes.....	231, 251
Breyenner Gustavo Pavão Bertagnoli	216
Bruna Durante Batista	234, 261
Bruno Augusto Prohmann Tschoeke	234
Bruno Brito Lisboa.....	233
Bruno Fiorin Zaninetti.....	256
Bruno Henrique Martins.....	283
Bruno Lima Soares.....	242, 292

C

C. Glienke.....	205
C. Rípodas.....	85
Caio Peixoto Chain.....	292
Camila Fernandes Domingues Duarte	264
Camila Gazola Volpiano	199
Camilo Rebolledo Padilla	67
Cándida María Martínez-Ramírez.....	296
Canon Engoke.....	98
Carlos Alberto Arrabal Arias	232
Carlos Alberto de Bastos Andrade.....	230
Carlos Fabián Piccinetti.....	258
Carlos Labandera	75
Carlos Vergara Torres Júnior	225, 246
Carlos Vinicius M. dos Santos.....	243
Carmen Luisa Barbosa Guedes	302
Carmen Pérez-Carmona	273
Carolina Chumpitaz-Segovia.....	249, 257, 263
Carolina Espeche	286
Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos	131, 152, 153, 246
Carolina Honda	134, 238, 260
Carolina Weigert Galvão.....	157, 162, 209, 231, 251
Caroline Bournaud.....	151
Caroline de Jesus Coelho	250
Cassiele Uliana Facco.....	230
Cássio Egidio Cavenaghi Prete	295
Caue Ribeiro	282
Cecilia Baginsky	201
Cecilia Ríos.....	144
Cecilia Rodríguez Esperón	175
Célica Cagide	213
Celuta Sales Alviano	210
Cerecceto Victoria	156
César Antonio Díaz Alcántara	254
Cesar Heraclides Behling Miranda.....	274
Cid Renan Jacques Menezes.....	266
Cíntia Caroline Gouveia da Silva	153
Clarissa Mayra Bastos Gomes.....	139
Claudia Barlocco	240

Claudio Penna.....	286
Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio	96
Cristian Antonelli	60
Cristiane Meinerz	266
Cristiano Martinotto.....	252
Cristina Aparecida Delmondes Rodrigues	221, 227
Cynthia Gyogluu	166

D

D. Zavaleta	158
Daiane Barreto	209
Daiene Camila Dias Chaves Corsini.....	241
Dâmiany Pádua Oliveira	242, 292
Daniel Collino	202
Daniel Wibberg.....	65
Daniela Costa.....	69
Daniela Gomez	202
Daniela Mendoza Cid.....	67
Daniela S. Bruzzese.....	289
Daniela Tiago da Silva Campos	265, 287
Daniela Vallejos	258
Daniele Cabral Michel	140
David Herridge.....	89
Deisi Navroski	150, 167, 189, 245
Diego Ary Rizzardi.....	230
Diego Rivera Bottia	73
Diogo Rodrigues da Silva	264
Diva de Souza Andrade	117, 192, 200, 277, 283, 288, 294, 295, 302
Doris Zúñiga-Dávila.....	60, 135, 158, 244, 249, 257, 263
Douglas de Castilho Gitti	265
Douglas Fabiano Gomes	130, 174, 178, 183
Douglas Rocha Noguero	211

E

E. Mateos-Naranjo.....	212
Éder Zampa	230
Ederson da Conceição Jesus	162, 165
Edilaine Della Valentina Gonçalves.....	266
Edmilson Bianchini	208, 214, 215
Edson de Oliveira.....	307
Edson Lazarini.....	256
Edson Luiz Souchie	280
Eduara Ferreira	141, 299, 303
Eduardo Favero Caires.....	209, 231, 250, 251
Elena Beyhaut.....	105, 240, 255
Elena Fabiano	69, 144, 161, 175
Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo	199
Ellen Juliete Damasceno Capurro	262
Elson Barbosa da Silva Júnior	259
Emanuel Maltempi de Souza.....	162
Enderson Petrônio de Brito Ferreira.....	110, 220, 281
Enilson Luiz Saccol de Sá	74
Enio Massao Matsuura	134
Eric Hiroki Saito	256
Erick Parize	209
Ernesto Moya	248
Ernesto Ormeño-Orrillo.....	57, 70
Esperanza Martínez-Romero	70
Euan Kevin James	59, 144, 159
Eulogio Bedmar	158, 195
Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio .	152
Evertton Geraldo Capote Ferreira.....	177
Ezequiel Kleinschmitt.....	270, 291, 298

F

F. A. Blanco	85
Fabiane Paulitsch.....	148, 160, 250
Fabiane Vezzani Machado	100
Fábio Aurélio Dias Martins	242

Fabio Bueno dos Reis Junior	59, 110, 138, 159, 163, 226
Fábio de Oliveira Pedrosa	157, 162
Fabio Martins Mercante	104, 110, 168
Fábio Plotegher	138, 282
Fabíola M. Carvalho.....	178
Fabricio Dario Cassán	73, 195
Fabício M. Lopes	180
Fatima Maria de Souza Moreira	132, 147, 242, 292
Fátima Regina de Vasconcelos Goulart.....	210
Federico Battistoni.....	69, 144, 161
Federico Rosconi	69
Felipe Ceccon	267, 268
Felipe Vicioso.....	254
Felix D. Dakora	99, 166
Fernanda Bortolini.....	271
Fernanda Carolina da Silva	157, 231
Fernanda dos Santos Dourado	165
Fernanda Santana de Paulo.....	259
Fernando Gomes Barcellos.....	177
Fernando González-Andrés	254
Fernando Ibañez.....	182, 207
Fernando Teixeira de Oliveira	308
Flávia Constantino Meirelles	241
Florencia Donadio	195
Francis Ochoa-Acevedo	249, 257, 263
Francisco Escaray.....	60
Francisco Javier López Baena	184, 185
Francisco Javier Ollero Márquez.....	68, 123, 176, 183, 184, 185, 190, 226
Francisco Noya	69
Francisco Pérez-Montaña	184, 185
Franklin Galvão.....	162
Frans J. de Bruijn	91
Freddy Zambrano Gavilanes	302
Fuk-Ling Wong.....	179

G

G. Prado.....	158
G. Puglielli.....	212

Gabriel Esteves Freitas	237, 283, 297
Gabriel Prieto	258
Gabriel Ribeiro do Espírito Santo	297
Gary Moraga.....	235
George Cedeño.....	235
Gerardo Saucedo-Castañeda	296
German A. Estrada Bonilla.....	261
Gesiele A. Barros-Carvalho	180
Gessi Ceccon.....	267, 268
Giliard Stafin	197
Gilles Béna.....	138, 151
Giovano Migliorini	262
Gisele Freitas Vilela	229, 279
Gisele Milani Lovato	192, 288, 294
Glaciela Kaschuk	100, 269
Godofredo Mamani Mamani.....	247
Gonzalo Torres Tejerizo	65
Graeme Schwenke.....	89
Graham O'Hara.....	58
Graziela Moraes de Cesare Barbosa	191, 216
Gregory Gouveia.....	181
Guilherme Fernando Capristo Silva	230
Guilherme Henrique Bruno	288, 295
Guillermo Maroniche	258
Gustavo de Souza Lamberti	167
Gustavo Feitosa de Matos	133
Gustavo González Anta.....	116
Gustavo Graziano Malimpence	261
Gustavo Marín Cáceres.....	272
Gustavo Ribeiro Xavier	169, 246, 259

H

Halley Caixeta Oliveira	208, 214, 215
Helder Rodrigues da Silva	295, 302
Helio Antonio Wood Joris	209, 231, 251
Helson Mario Martins Vale.....	163
Henrique Debiasi	260
Higo Forlan Amaral	243

Hon-Ming Lam	179
Horacio Russell	239
Hudson Zequine de Oliveira	264
Hugo Luizzi	255

I

I. Rodriguez-Llorente	212
Iêda Carvalho Mendes.....	96, 110, 138, 163
Ignacio Jofré Fernandez.....	67
Ignacio Rodríguez-Llorente.....	273
Irene Jiménez-Guerrero.....	184, 185
Iris Esther Marcano	254
Isabel Cristina Mendonça Cardoso Jakoby	280
Isamar Moyano	226
Ivan Arcanjo Mechi.....	267, 268
Ivan de Alencar Menezes Júnior	285
Ivan Luis Zenzen	142
Izabela Rodrigues Sanches	256

J

J. Clua	85
J. Emiliano.....	136
J. M. Barcia-Piedras	212
J. Rico.....	293
Jackeline Rossetti Mateus de Lacerda	143, 210
Jackson Seiti Gundi.....	278, 290
Jacob Ulzen.....	285
Jakeline Renata Marçom Delamuta	129, 130, 141, 145, 148
Jakson Leite	169
Jamile Queiroz Pereira	142
Janaina Costa Ribeiro Rouws	133, 285
Janaína Dartora	266
Jason Terpolilli	58
Jazmín Reyes	70
Jean Luiz Simões de Araújo	129, 133, 140, 169, 300

Jean-Jacques Drevon	83
Jeferson H. Hendges	252
Jeniffer Lorraine Silva Rodrigues.....	287
Jerri Édson Zilli.....	96, 109, 129, 140, 159, 169, 259, 300
Jesiane Stefania da Silva Batista	136, 148, 160, 174, 250
Jesica Fernanda de Souza	221
Jéssica Horwat	286
Jessica Santos Silva	139
Jesús Lirio-Paredes	249, 257, 263
Jhonathan Rafael Hartmann Hister	155, 227, 245
Jildemar Santos de Moraes	218
Joana Montezano Marques	143, 210
João Antônio Pissinati Pelaquim.....	219, 228, 232
João Frederico Mangrich dos Passos.....	154
João Henrique Caviglione	277
João Lúcio de Azevedo	234
João William Bossolani	256
Joatan Césare Andrades Clamer.....	270, 291, 298
Jochem Blom	65
Johan Stiben Rodríguez Melo.....	182
John Howieson	58
Jorge Rodrigo Arndt.....	155, 221, 227, 245
José Antonio Martínez-Ruiz.....	296
José Antonio Pimenta.....	208, 214, 215
José Eduardo Barbosa de Souza	281
José Enrique Ruíz-Sainz	185
José Filipe dos Santos Maciel	270, 291, 298
José Gualpa	73
José Ivo Baldani	133, 165
José Luis López	65
José María Vinardell	185
José R. B. Farias	219
José Roberto Portugal	241
José Salvador Simoneti Foloni	238
José Terra.....	105
Josiane Fukami	176, 190, 303
Josimar da Silva Chaves	137
Juan de la Cruz Araujo	254
Juan Sanjuán.....	97
Julia L. F. Abrantes	176
Juliana dos Santos Costa.....	132

Julio César Franchini	260
Julio Cesar Pires Santos	154
Julio Martínez Romero	70
Juscélia da Silva Ferreira	153

K

Kamila Kock	146, 149, 189
Kamylla Ramirez Fidelis	209
Karina Maria Lima Milani	146, 149, 208, 211, 214, 215, 301
Karla Cristiane de Souza Santa Clara	297
Karla Emanuelle Campos Araújo	225, 246
Katty Ogata-Gutiérrez	249, 257, 263
Kelly Alexandra Souza Menezes	152
Kelly Campos Guerra Pinheiro de Goes	191, 192, 200, 294
Ken E. Giller	95
Krisle da Silva	137

L

L. Amenc	83
L. Gomez	83
L. R. Olchanheski	136
Laís Mayara Melo Duré	262
Laíse da Silveira Pontes	197
Lara Rezek Rocha	262
Laura Avellaneda-Franco	236
Laura Sandes	144, 161, 175
Leandro Datola Tullio	148, 174, 250
Leandro Paiola Albrecht	155
Leandro S. de Oliveira	252
Leonardo de Paiva Barbosa	147
Leonardo José Motta Campos	229, 279
Leonardo Magalhães Cruz	162
Letícia Carlos Babujia	278, 290
Leticia Reis	209, 231, 251
Liane Aldrigh Galarz	271
Lider Ayala	272

Ligia Dombroski dos Santos.....	157
Lígia M. O. Chueire	141
Liliane M. Mertz-Henning.....	219
Lindete Míria Vieira Martins.....	152
Lionel Moulin.....	138, 151
Lorena Gómez	70
Lorrana Verdes Flores.....	199
Luan Marlon Ribeiro.....	267, 268
Luana Patricia Pinto.....	221
Luc Felicianus Marie Rouws.....	133, 285, 300
Lucas Alves Maroubo	277, 288
Lucas Ferreira Lima Sobreira Rolim	163
Lucas Lenin Resende de Assis.....	147
Lucas Mateus Hass	155, 221, 227, 245
Lucas Santana Pinto.....	280
Lucia Satomi Hirooka.....	157, 251
Luciana Grange.....	150, 155, 167, 173, 189, 221, 227, 245
Luciane M. P. Passaglia	142, 233
Luciano Paulino da Silva	163, 174
Lucrecia Pobliti	289
Lucy Seldin.....	143, 210
Luís Cesar Vieira Tavares.....	307
Luis E. Servín.....	70
Luis Luyo Sanchez.....	244
Luisa Caroline Ferraz Helene	145
Luiz Gonzaga Almeida.....	178
Luiz Gustavo Moretti de Souza	256
Luz de Bashan.....	195
Lygia V. G. Terasawa.....	205

M

M. Castaingts	85
M. D. M. Silva	279
M. E. Zanetti	85
M. Lazali	83
M. Matsubara	158
M. Pileggi.....	136
Macarena Gerding.....	235, 248

Maira Rejane Costa.....	168
Manuel Esau Megías Saavedra	226
Manuel Megías.....	68, 85, 123, 176, 183, 184, 190, 217, 226
Man-Wah Li	179
Marcel Takahiro Moriwak.....	146, 149
Marcelo Fragomeni Simon	159
Marcia Reed Rodrigues Coelho	210
Márcia Rufini	147, 242
Marco Antônio Bacellar Barreiros	150, 155, 167, 173, 189, 221, 227, 245
Marco Antonio Nogueira	84, 130, 134, 141, 190, 191, 194, 196, 206, 219, 228, 232, 238, 260, 269, 279, 290, 299, 303, 307
Marco Martino	255
Marcos Franciel Alves de Freitas	287
Marcos J. R. Matias.....	252
Marcos Javier de Luca	269
Marcos Vinícios Conceição Garcia	299
Margarita Sicardi	255
María A. Morel	213
Maria Aparecida de Matos	191, 197, 200, 297
Maria Berenice Reynaud Steffens	162
María Camacho	212, 273
María Caridad Nápoles García.....	80
Maria Carolina Quecine.....	234
María Cecilia Rojas	201
Maria de Fátima Guimarães	206
Maria del Pilar Galeano	272
Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra.....	131, 153
Maria Eugenia Llames	60
María Florencia Del Papa.....	65
Maria Jose Corriale.....	60
María Laura Tonelli	207
Maria Laura Turino Mattos	271
Maria Luiza Ribeiro Bastos da Silva	131
María Mayans.....	240
Maria Paula Campestre	60
María Soledad Figueredo	182, 207
Maria Teresa de Paula	146, 149, 211
María Zabaleta	144, 161, 175
Mariana Fernandes Hertel.....	208, 214, 215

Mariana Melchiorre	198, 202
Mariana Montanares.....	201
Mariana Mortalena	240
Mariana Sanches Santos.....	278
Mariangela Hungria.....	96, 129, 130, 134, 138, 141, 145, 151, 164, 168, 174, 176, 177, 178, 180, 183, 184, 190, 194, 196, 205, 206, 219, 226, 228, 229, 232, 238, 256, 260, 264, 269, 278, 279, 282, 290, 299, 303, 307, 308
Mariano Pistorio.....	65
Maribel Parada Ibañez.....	67
Marie A. Van Sluys.....	180
Mario Andrade Lira Junior	139
Mario O. Aguilar	85
Marise Fonseca dos Santos	199
Marislaine Alves de Figueiredo	242, 292
Marisol Vargas	248
Marta Regina Barrotto do Carmo	148, 160
Mateus Dalpubel Mattiuzzi	155
Mateus Henrique Fávaro	208
Matias Bailleres	60
Mauricio Reyes Schencke	67
Maurício Rosa Magro	270, 291, 298
Maurine Sepúlveda Caamaño	235, 248
Mauro Degli Esposti.....	70
Mauro Ortiz	178
Mayo Juan Pablo	202
Melchiorre Mariana	284
Melissa Obando Castellanos.....	195
Messias José Bastos de Andrade	242, 292
Miguel Fagiani	198
Milena Serenato Klepa	148, 160
Min Xie	179
Ming-Yan Cheung.....	179
Miriam Memenza-Zegarra.....	135, 257
Moacir Ribeiro Neto	280
Moacir Tuzzin Moraes	260
Moisés Aquino.....	303
Monica Alzate.....	146, 149, 211
Mónica Rosenblueth	70
Montoya Patricia	284

Murilo Dalla Costa	154
Murilo Donizeti do Carmo	264

N

Naamala Judith.....	166
Nacira Muñoz	179
Nahyara Fernanda Pereira Cezário	191, 200
Natalia Mattos	240
Natalia Neutzling Camacho	165
Nathalie Fleiderman	201
Nátia Auras	96
Nayara de Jesus Moraes	193
Nelson Harger.....	308
Nery Luz Santillana Villanueva.....	247
Newton Pereira Stamford	153
Nora Altier	240, 253
Norma Gouvêa Rumjanek	169, 246
Norman Neumaier.....	219

O

O. Domergue	83
Odair José Andrade Pais dos Santos.....	301
Ophelia Osei	285, 300
Orivaldo Arf	241, 265
Oscar A. Ruiz.....	60
Oswaldo Machineski	237, 297

P

P. K. A. Paula	136
Pablo del-Cerro.....	183, 184, 185
Pablo González	198

Páez Gerardo	284
Paloma Garcia Cabrini	286
Pamella Macedo de Souza.....	210
Pathmanathan Umaharan	181
Patrícia Freitas Costa	147
Paula Cerezini	194, 196, 238
Paula Fernanda Armelim	237
Paulo Ivan Fernandes	152
Paulo Salomon.....	288
Pedro Henrique Storms Gonçalves.....	221
Pía Oyarzúa.....	235
Pilar Navarro-Gómez	185
Pip Brock.....	89
Priscila Akemi Makino	267, 268

R

R. A. Valdez-Núñez	158
R. Parra	212
Rafael Bruno Nomura	294
Rafael Gonçalves Vilela.....	261
Rafael Guayato Nomura	302
Rafael Martins Aniceto	234
Rafael Mazer Etto	157, 162, 209, 231, 251
Rafael Schueroff de Meira	227
Rafaela Cristina de Oliveira Bueno	167
Rafaela Furmam	157
Ramiro Lascano	198
Rangel Celso Sousa	178
Rangel Viganó.....	270, 291, 298
Raquel Castro Pires.....	159
Raúl Platero	69, 144, 161, 175
Rayssa Pereira Vicentin.....	132
Rebeca Fuzinato Dall'Agnol	138, 151, 164
Renan A. Ribeiro	129, 130, 141, 145, 164, 168, 303
Renan José Casarotto Appel	150, 167, 173, 189
Renan Sanches	264
Renata Carolini Souza	138
Renata Estebanez Vollú	143, 210

Renata Stolf Moreira	208, 214, 215
Renato De Almeida Júnior	287
Renato Valenzuela Bedregal	118
Renato Yagi	283, 294
Ricardo Antônio Ayub	157, 162, 231, 251
Ricardo Cesario dos Santos	225
Ricardo Fachinelli	267, 268
Ricardo Pereira Reis	292
Ricardo Silva Araujo	119
Robert Abaidoo	98
Robert Clement Abaidoo	285, 300
Robert Michael Boddey	90, 225, 285, 300
Robinson Cipriano	96
Rodrigo Rodrigues Matiello	250
Rodrigo Veras da Costa	229
Romina Molina	73
Ron Yates	58
Ronald Ferrera-Cerrato	296
Rosa Mota	96
Rosalba Esquivel-Cote	296
Rosália e Silva Santos	152
Rosana Massa	286
Ruth Bonilla-Buitrago	236

S

S. A. V. Pileggi	136
S. Redondo-Gómez	212
Salomão Lima Guimarães	287
Samara Moreira Perissato	155, 245
Samuel Ribeiro Passos	140, 169
Sandra Castro	239
Sandra Cortes-Patiño	236
Sanjay K. Jaiswal	166
Sara Romani Ortolan	199
Sebastián Acosta-Jurado	185
Segundo Urquiaga Caballero	90, 96, 225
Semira M. Beyan	166
Sergio Eduardo Contreras	244

Sérgio Miana de Faria	151
Shamayin T. Ramírez-Puebla	70
Sheila Caioni	256
Silmar Primieri	154
Sílvia Aparecida Ferreira Albuquerque	157
Sílvia Garaycochea.....	253
Simone Palma Favaro	274
Sofie De Meyer	58
Solon Cordeiro Araújo	96, 115
Sônia Purin da Cruz	270, 291, 298
Stella Zerbino.....	105
Steve K. Boahen.....	98, 206
Sumaya Mário Nosoline	259
Susana Castro Sowinski	213
Susana Redondo-Gómez	273

T

Tâmara Peres Ferreira dos Santos	280
Tânia Lúcia Costa	152
Tatiane Viegas Debiasi	215
Thainara Camila Fernandes de Quadros.....	197, 283
Thais Freitas da Silva	143, 210
Thaís Luft da Silva	150, 167
Thayllon Victor da Silva	287
Thiago Gonçalves Ribeiro	165
Thiago Trento Biserra	264
Tiago de Lisboa Parente	256
Tim Haskett.....	58

U

Ulysses Cecato	264
Uriel Koziol	69

V

V. Dalla Via.....	85
V. J. B. F. Nascimento	136
Vagner Zuconelli	252
Vandeir Francisco Guimarães	266
Vanesa Amarelle.....	69
Vanesa Rostán	240
Vanessa Kava	205
Vanilda Mroginski de Souza.....	209
Venicios Vieira Gabre	231, 251
Veronica Massena Reis	79, 133
Vicente Paulo da Costa Neto	193
Victor Mello.....	288
Victoria Cerecetto.....	240
Vinícius Santos Gomes	153
Violeta Matus	70
Vitor Del Alamo Guarda	229
Vitória Fátima Trento Teixeira.....	221
Vivian Nogueira Marques Cervantes	194, 238
Viviane Radl.....	169

W

W. F. Ríos-Ruiz.....	158
Waldemar Zangaro	134
Walkyria Neiverth.....	194, 219, 238, 260
Wekislei Jordi de Souza Coelho	227, 245
Wellinton L. Figueredo	252
Wellma Nascimento Pedra	265
Willian Zuconelli	252
Wilza Fagundes Cerqueira	218

X

Xinpeng Qi	179

Y

Yishu Gao.....	179
Yoav Bashan.....	195



Apoio



Ministério da
Educação



Patrocínio Bronze



Patrocínio Prata



Patrocínio Ouro



Promoção



Realização

