

Resumos

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril



8 a 10 de Agosto de 2017

Sinop, MT

Embrapa

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrossilvipastoril
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**Resumos do
Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da
VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril**

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Daniel Rabello Ituassu

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Fernanda Satie Ikeda

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

***Embrapa
Brasília, DF
2017***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrossilvipastoril

Rodovia dos Pioneiros, MT 222, km 2,5
Caixa Postal: 343
78550-970 Sinop, MT
Fone: (66) 3211-4220
Fax: (66) 3211-4221
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição

Embrapa Agrossilvipastoril

Comitê de publicações

Presidente

Flávio Fernandes Júnior

Secretário-executivo

Daniel Rabello Ituassú

Membros

Aisten Baldan, Alexandre Ferreira do Nascimento, Dulândula Silva Miguel Wruck, Eulalia Soler Sobreira Hoogerheide, Flávio Dessaune Tardin, Jorge Lulu, Laurimar Gonçalves Vendrusculo, Rodrigo Chelegão, Vanessa Quitete Ribeiro da Silva

Normalização bibliográfica

Aisten Baldan (CRB 1/2757)

1ª edição

Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Agrossilvipastoril.

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis; Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril (6. : 2017 : Sinop, MT.)

Resumos ... / Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis e da VI Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril / Alexandre Ferreira do Nascimento (et. al.), editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa, 2017.
PDF (335 p.) : il. color.

ISBN 978-65-87380-46-9

1. Congresso. 2. Agronomia. 3. Ciências ambientais. 4. Zootecnia. I. Embrapa Agrossilvipastoril. III. Título.

Editores Técnicos

Alexandre Ferreira do Nascimento

Engenheiro agrônomo, doutor em Solos e nutrição de plantas, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Daniel Rabello Ituassu

Engenheiro de Pesca, mestre em Biologia de Água Doce e Pesca, pesquisador da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Eulália Soler Sobreira Hoogerheide

Engenheira agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

Fernanda Satie Ikeda

Engenheira agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT

José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior

Engenheiro agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Sinop, MT



Bactérias endofíticas associadas à *Brachiaria Brizantha* e *Cymbopogon spp.* e o potencial para fixar nitrogênio

Camila Juliana Medeiros Marino^{1*}, Bruce Raphael Alves Rodrigues¹, Eliza de Lara², Anderson Ferreira³

^{1*}UFMT, Sinop, MT, camila_mm21@hotmail.com, bruceraphael@hotmail.com,

²FASIPE, Sinop, MT, eliza-delara@hotmail.com,

³Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT, anderson.ferreira@embrapa.com.

Introdução

O nitrogênio é um constituinte nutricional essencial para as plantas, presentes em grandes quantidades, que podem ser obtido do solo a partir da decomposição de materiais orgânicos, utilização de fertilizantes, ou pela fixação biológica de nitrogênio atmosférico (N₂) (Motta, 2007). Este elemento pode ser encontrado disponível no solo na forma de nitrato, amônia, aminoácidos, peptídeos e purinas (Barbosa et al., 2012). As plantas possuem habilidade de absorver esse nitrogênio quando disponível em sua forma de íon nitrato (NO₃⁻) e amônio (NH₄⁺), no entanto o nitrogênio presente na atmosfera se encontra em sua forma molecular (N₂) inacessível para as mesmas (Gírio, 2014). Desta forma, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) ocorre pela ação de bactérias diazotróficas, que possuem nitrogenases que promovem a redução do N₂ atmosférico em compostos úteis para planta (Nunes, 2013). Estes organismos podem ser encontrados de forma livre, como endofíticos obrigatórios ou facultativos e simbióticos (Silva, 2015). As bactérias diazotróficas fazem parte do grupo de bactérias denominado rizobactérias presentes com grande variabilidade no solo capazes de colonizar raízes de plantas promovendo efeito positivo sobre elas (Nunes, 2013).

Os processos pelo qual as rizobactérias favorecem o crescimento de planta, por meio de ação direta, envolvem o estímulo da nodulação de plantas leguminosas, a fixação assimbiótica de nitrogênio, a produção de hormônios, produção de fosfatases entre outros fatores (Ribeiro, 2010). Bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*, entre outras, podem ser responsáveis pelo suprimento de N em gramíneas forrageiras do tipo braquiária. A adubação nitrogenada é um método utilizado para aumentar a disponibilidade de nitrogênio em plantas, porém quando aplicados ao solo sofrem grandes perdas por lixiviação ou por volatilização, tornando-se um processo de alto custo para o produtor, além de o consumo ser em larga escala (Sartor, 2009). Desta forma, como saída sustentável torna-se necessário a exploração do potencial de fixação de nitrogênio (FBN) atmosférico em gramíneas (Silva, 2010). No presente estudo objetivou-se isolar bactérias endofíticas de folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e de *Cymbopogon spp.* e avaliar a capacidade desses isolados fixar nitrogênio.



Material e Métodos

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Ecologia da Embrapa Agrossilvipastoril, localizada na cidade de Sinop, MT. As amostras de *Brachiaria brizantha* cv Marandu, foram coletadas no experimento ILPF corte da Embrapa Agrossilvipastoril e as amostras de *Cymbopogon spp.* coletadas em 3 residências no município de Sinop (uma no bairro Boa Esperança (11,8418 S' 55,5284 W') e duas no bairro Jardim Itália II (11,8487 S' 55,5339 W')). Foram coletadas 3 plantas diferentes para cada espécie em estudo. E para cada planta foi realizado um isolamento diferente. O método utilizado para o isolamento de bactérias endofíticas foi o descrito por Araújo et al. (2001). As folhas foram lavadas em água corrente para retirar resíduos de poeira e solo. Em seguida, foi realizada a descontaminação superficial imergindo as amostras de folha em álcool 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos, posterior imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido de duas lavagens em água esterilizada. Após a descontaminação o tecido vegetal foi triturado em uma solução salina tamponada (PBS: 1,44 Na₂HPO₄; 0,24 KH₂PO₄; 0,20 KCl; 8,00 NaCl; pH 7,4). Foi utilizado 1 g de tecido vegetal e 9 mL de PBS.

Para inoculação, utilizaram-se amostras na diluição 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³. O meio de cultura utilizado foi TSA (Tryptone Soya Agar) a 10% (5 g de Tryptone Soya Agar e 15 g de Agar Base para 1 L de água ultra pura, em pH de 7,3). Os isolamentos foram repetidos três vezes colocados em câmara de climática do tipo B.O.D, no período de 7 dias à 28 °C. Para verificar se o processo de desinfestação foi eficiente, alíquotas da última água utilizada para lavagem foram inoculadas nas mesmas condições acima. Para purificação das bactérias aplicou-se a técnica de estria de esgotamento em meio de cultura sólido TSA. Após a purificação as bactérias foram submetidas ao teste de fixação biológica de nitrogênio em meio NFB conforme citado por Döbereiner et al. (1995). Os frascos foram incubados cerca de 7 a 9 dias, até que o meio apresentasse turbidez ou formação de película. Como controle positivo foi inoculado tubos com a bactéria *Azospirillum spp.* comercial.

Para as análises estatísticas, os dados foram avaliados quanto sua normalidade pelo teste de Shapiro Wilk e posteriormente analisada quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Após isso, os dados foram submetidos a teste de médias Tukey de 5% de significância. Todas as análises foram realizadas com Software R (versão 2.7.1).



Resultados e Discussão

Ao comparar os isolamentos das folhas da *B. brizantha* e capim limão verificou-se que a espécie *B. brizantha* cv. Marandu apresentou quantidades de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) 12x superiores aos encontrados em *Cymbopogon* spp. As plantas de *B. brizantha* possuem $79,93 \times 10^3$ g e capim-limão $6,4 \times 10^3$ g de tecido vegetal.

Através do teste em meio de cultivo NFB foi possível observar que 25,33% dos isolados de capim-limão e 22,22% de *B. brizantha* foram capazes de fixar nitrogênio. As braquiárias são hospedeiras comuns de bactérias endofíticas diazotróficas fixadoras de nitrogênio (Melloni et al., 2004), porém no presente trabalho observou-se que capim limão também hospeda bactérias fixadoras de nitrogênio e em maior quantidade. Uma das possíveis explicações para a maior presença de fixadores de nitrogênio em capim limão é devido ao não uso de adubação nitrogenada nas plantas estudadas. O não uso de adubação nitrogenada força as espécies vegetais a fazerem simbiose com bactérias para obtenção desse importante nutriente (Sartor, 2009). Já, a *B. brizantha* avaliada recebeu adubação nitrogenada, o que acaba reduzindo as interações com bactérias fixadoras de nitrogênio. O presente trabalho reforça a importância de se prospectar bactérias fixadoras de nitrogênio em outras espécies de gramíneas que não as espécies já utilizadas em sistemas produtivos. Adicionalmente, esse é o primeiro relato de isolamento de bactérias endofíticas fixadoras de nitrogênio em *B. brizantha* e *Cymbopogon* sp no norte de Mato Grosso.

Conclusão

A braquiária apresentou 12 vezes mais UFC que o capim-limão. O capim-limão possui maiores quantidades de isolados bacterianos capazes de fixar nitrogênio.

Referências

- ARAÚJO, W. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; AGUILARVILDOSO, C. I.; BARROSO, P. A. V.; SARIDAKIS, H. O.; AZEVEDO, J. L. Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 229-236, 2001.
- BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; MOTTA, A. C. Fixação biológica de nitrogênio em *poaceae*. **Revista Evidência**, v. 12 n. 1, p. 7-18, 2012.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995.
- GÍRIO, L. A. da S. **Eficiência agrônômica de bactérias diazotróficas na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP.
- MELLONI, R., NÓBRAGA, R. S. A., MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita, em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 1, p. 85-93, 2004.



MOTTA, A. M. **Interação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e fungo micorrízico arbuscular no crescimento do *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke em condições de campo.** 2007. 53 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

NUNES, R. S. G. **Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas e promotoras de crescimento em arroz irrigado.** 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

RIBEIRO, C. M. **Isolamento, seleção e caracterização de rizobactérias com potencial para promoção do crescimento em *Araucaria angustifolia*.** 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

SARTOR, L. R. **Eficiência de utilização de nitrogênio, fósforo e potássio por plantas de papuã submetidas a diferentes intensidades de pastejo e níveis de nitrogênio.** 2009. 114 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

SILVA, A. F. **Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas nativas de áreas com diferentes tempos de regeneração da caatinga.** 2015. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

SILVA, L. L. G. G.; ALVES, G. C.; RIBEIRO, J. R. A.; URQUIAGA, S.; SOUTO, S. M.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidade de corte. **Revista Archivos de Zootecnia.** v. 59, n. 225, p. 21-30, 2010.