

EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE ESTIRPES DE RIZÓBIO PARA CAUPI, ISOLADAS DE SOLO SOB CERRADO NO ESTADO DO PIAUÍ

Jerri Édson Zilli⁽¹⁾, Maria Cristina Prata Neves⁽²⁾, Francisco Freire Filho⁽³⁾, Norma Gouvêa Rumjanek⁽²⁾. ⁽¹⁾Aluno de Mestrado – CPGA-CS, UFRRJ, 23890-000, Seropédica RJ, jerrizilli@bol.com.br; ⁽²⁾Pesquisadora – Embrapa Agrobiologia, 23890-000, Seropédica RJ; ⁽³⁾Pesquisador da Embrapa Meio-Norte, 61006-220, Terezina Piauí.

INTRODUÇÃO

O caupi (*Vigna unguiculata*) é uma importante fonte nutricional, especialmente em áreas rurais de subsistência no Nordeste do Brasil, onde ele é bem adaptado devido sua alta tolerância a temperaturas elevadas, baixa pluviosidade, baixa fertilidade e salinidade alta dos solos (Martinazzo, 1989). Estas características tem despertado o interesse de pesquisadores, que vêem no caupi um recurso genético estratégico para as condições de clima semi-árido (Xavier, 2000). A adaptabilidade, somada à efetiva contribuição da FBN (fixação biológica de nitrogênio) quando o caupi está associado com rizóbio, tem ganho destaque entre grandes produtores agrícolas nos cerrados do estados do Piauí e Maranhão. Nestas áreas, o caupi tem sido introduzido em lavouras recém desbravadas, logo após o cultivo de arroz, ou em rotação bianual. Nestas condições, tem sido observada uma produtividade média de 1500 Kg.ha⁻¹. Parte dos problemas relativos à fertilidade do solo, para esta cultura, podem ser amenizados com o uso de inoculantes com estirpes de rizóbio eficientes, o que não tem sido adotado no Brasil, sendo a FBN decorrente meramente por estirpes nativas com eficiência variável. A não adoção de inoculação para o caupi no Brasil, em parte, ocorre pois os resultados de pesquisa têm mostrado que o caupi pode formar simbiose com diferentes grupos de rizóbio, o que torna difícil a formação de nódulos pela estirpe inoculante (Wani et al. 1995).

Este trabalho objetivou avaliar a eficiência simbiótica e a relação filogenética baseada na análise de restrição do 16S rDNA amplificado (ARDRA) entre 12 isolados de *Bradyrhizobium* sp., provenientes de caupi cultivado com solo do Cerrado do Piauí.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 16 tratamentos: 12 isolados provenientes do cultivo de caupi com solo de Cerrado do Piauí, 2 estirpes (BR2001 e BR3262) da coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia, um controle sem inoculante e sem N e um controle com 100ppm de N.vaso⁻¹.semana⁻¹. As sementes de caupi (cultivar BR17) foram desinfestadas (H₂O₂; 3 min) e semeadas em vasos de Leonard, contendo vermiculita e areia (2:1 v/v) abrigados em casa de vegetação. Os inoculantes foram incubados (96h; 28°C) em meio YMA (manitol/extrato de levedura) e a inoculação foi feita 3 dias após a germinação

das sementes. Aos 55 dias após a semeadura, coletou-se o experimento, avaliando-se os parâmetros N-total acumulado na parte aérea, massa seca total, massa seca de nódulos e eficiência nodular. O ARDRA do 16S rDNA, foi realizado utilizando-se as bactérias supra citadas e 6 estirpes padrões: BR29 (*Bradyrhizobium elkanii*), BR111 (LMG6131^T-*B. japonicum*), BR112 (LMG6217^T-*Sinorhizobium fredii*), BR10016 (CFN299^T-*Rhizobium tropici* IIA), BR10026 (CFN42^T-*R. etli*) e BR5410 (CFN299^T-*Azorhizobium caulinodans*). O PCR foi realizado de acordo com Young et al. (1991), com os primers Y1 e Y3 (Haukka, 1997). A restrição foi procedida com 9 endonucleases: *Hinf* I, *Hae* III, *Hha* I, *Rsa* I, *Dde* I, *Nde* II, *Msp* I, *Alu* I e *Taq* I (Laguerre et al., 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sete dos isolados provenientes de solo de Cerrado apresentaram médias significativamente iguais a estirpe BR2001 e superior ao tratamento com 100ppm de N.semana⁻¹, em todos os parâmetros analisados. A estirpe BR2001 é atualmente recomendada pela RELARE como inoculante para caupi e apresenta bons resultados em casa de vegetação, porém Ferreira et al. (1999), não detectaram a formação de nódulos por esta estirpe em caupi a nível de campo, sugerindo que ela possui dificuldade em competir por sítios de nodulação. Os isolados que apresentaram eficiência semelhante a BR2001 por serem provenientes de solo de Cerrado, podem representar uma boa alternativa de inoculantes para a região, pois provavelmente eles devem estar bem adaptados as condições de solo destes locais. Apesar de não ter apresentado diferença significativa da associação com a estirpe BR2001 quanto ao N acumulado, o teor de N observado no tratamento com a estirpe BR3262 foi cerca de 15% maior. Quanto a matéria seca (Tabela 1), dez estirpes apresentaram acúmulo significativamente igual ao tratamento com 100ppm N.semana⁻¹, sendo que as estirpes BR3262, BR2001 e os isolados, 1, 3, 10, 11 e 12 tiveram médias de acumulação de N estatisticamente superior a este tratamento, o que poderia garantir uma boa disponibilidade de N para a produção de grãos. O parâmetro de eficiência nodular (N fixado/ massa de nódulos) indicou que apenas os isolados 6 e 7 não tiveram uma eficiência semelhante a da estirpe BR2001, mostrando que embora o acúmulo de N foi maior para alguns isoalados, a atividade nodular foi semelhante. Neste caso a massa de nódulos foi o parâmetro discriminante entre os isoaldos para a acumulação de N, onde as estirpe que propiciaram maior massa de nódulos, foram as que acumularam mais N. A análise filogenética (Figura 1) revelou que as estirpes e os isolados estudados agruparam-se com o gênero *Bradyrhizobium*, demonstrando que todas provavelmente pertençam a este gênero. Os isolados isolados 3, 5, 6, 7, 8 e 12 agruparam-se a pelo menos 90% com a estirpe BR29, sendo que os isolados 6 e 9 foram homólogas a esta estirpe. Foram encontrados 2

isolados, 1 e 10 com o mesmo perfil de restrição da estirpe *B. japonicum* (BR111), ao passo que os isolados 4 e 11, apresentaram similaridade de 85% com este grupo. De maneira geral, os resultados revelam que a nodulação do caupi tanto com isolados próximos a *B. japonicum* como *B. elkanii* favorecem altos níveis de FBN para a cultura, podendo representar inoculantes potenciais para áreas do Cerrado do Piauí. Entretanto, estes resultados precisam ser confirmados em experimentos de campo, de modo a se avaliar o potencial competitivo e de sobrevivência nas condições edafoclimáticas da região.

Tabela 1 – Médias de massa seca total (g), nitrogênio total acumulado na parte aérea das plantas, massa de nódulos secos (g) e eficiência nodular (nitrogênio total acumulado na parte aérea da planta por massa seca de nódulos, mg.g⁻¹) de plantas de caupi inoculadas com 15 diferentes isolados de *Bradyrhizobium* sp ou fertilizadas com 100 ppm de N.

Estirpes	N-total da parte aérea (mg)	Massa seca total (g)	Massa de nódulos secos (g)	Eficiência Nodular (mg.g ⁻¹)
BR3262	293,27 a	8,66 a	0,59 abcd	585,62 ab
BR2001	250,12 ab	7,74 abc	0,42 abcd	660,52 a
12	239,58 abc	7,39 abcd	0,57 abcd	495,07 abc
10	239,17 abc	6,96 ab	0,89 a	283,24 abc
1	218,83 abcd	6,58 abc	0,72 abc	304,08 abc
3	198,53 abcde	5,97 abcd	0,52 abcd	368,52 abc
11	206,88 abcde	6,41 abcd	0,67 abcd	347,53 abc
6	133,93 abcd	5,86 abcd	0,59 abcd	217,53 bc
4	124,70 bcdef	5,82 abcde	0,38 abcd	400,66 abc
2	93,28 bcdef	4,51 bcde	0,28 bcd	353,26 abc
7	118,06 bcdef	4,55 abcd	0,77 ab	147,61 c
8	71,17 def	3,41 cde	0,34 bcd	273,94 abc
5	78,54 def	3,68 bcde	0,25 cd	270,73 abc
9	56,60 ef	2,66 de	0,23 d	278,42 abc
100 ppm de N	52,09 ef	1,93 abcde	-	-
Controle (S/I)	5,39 f	0,87 e	-	-
CV (%)	39,9	21,1	23,9	25,5

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Os dados N-total parte aérea, massa de nódulos secos e eficiência nodular foram corrigidos com raiz quadrada para terem distribuição normal.

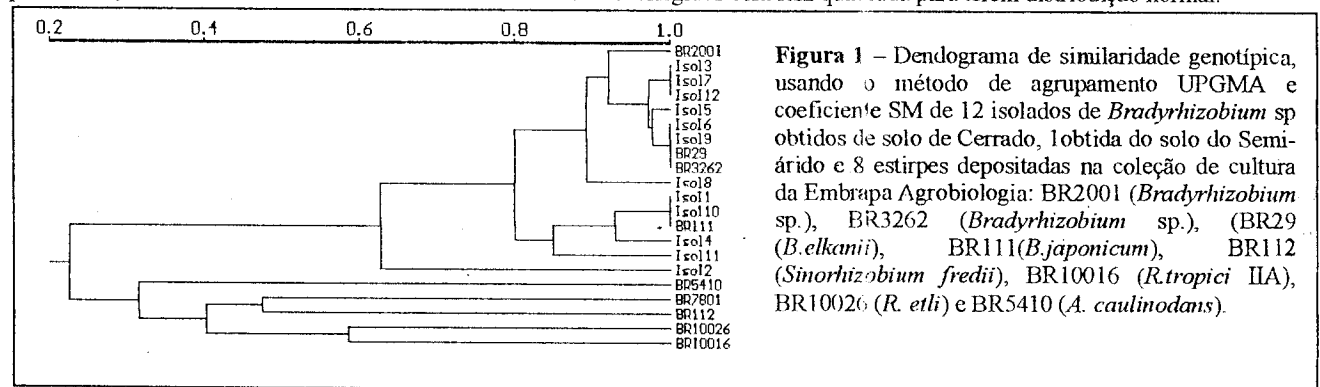


Figura 1 – Dendrograma de similaridade genotípica, usando o método de agrupamento UPGMA e coeficiente SM de 12 isolados de *Bradyrhizobium* sp obtidos de solo de Cerrado, 1 obtida do solo do Semi-árido e 8 estirpes depositadas na coleção de cultura da Embrapa Agrobiologia: BR2001 (*Bradyrhizobium* sp.), BR3262 (*Bradyrhizobium* sp.), (BR29 (*B.elkanii*), BR111(*B.japonicum*), BR112 (*Sinorhizobium fredii*), BR10016 (*R.tropici* IIA), BR10026 (*R. etli*) e BR5410 (*A. caulinodans*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Haukka, K. Helsinki: University of Helsinki, 1997. 94p. Tese de doutorado.
- Laguette, G.; Allard, M-R.; Revoy, F.; & Amarger, N. Appl. Environ. Microbiol. 60:56-63, 1994.
- Martinazzo, A. F. Rio de Janeiro: UFRRJ. 1989, 154p. Tese de mestrado.
- Neves, M.C.P.; Urquiaga-Caballero, S.S.; Peres, J. R.; Suhet, A.R. e Boddey, R.H. In: Cong. Bras. Ciências Solo, Campinas, 1987, p. 39.
- Young, J.P.W.; Downer, H.L.; Eardly, B.D. J. Bacteriol. 173: 2271 – 2277, 1991.
- Xavier, G. R. Rio de Janeiro: UFRRJ, 2000, 104p. Tese de mestrado.
- Ferreira, E.P.B.; Zilli, J.E.; Rumjanek, N.G.; Neves, MC.P. In: XX Cog. Bras. Microb., Salvador, 1999, p. 303.

Apoio financeiro: Embrapa Agrobiologia, Capes, UFRRJ e CNPq.