



FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

Seleção de estirpes de rizóbio para *Mimosa scabrella* Benth.

Fernanda Grimaldi⁽¹⁾; Aleksander Westphal Muniz⁽²⁾; Murilo Dalla Costa⁽³⁾; Maiana Nerbas⁽⁴⁾; Ronielly Hádna da Silva Nunes⁽⁵⁾; Telma Andréa Carvalho Silva⁽⁶⁾; Enilson Luiz Saccol de Sá⁽⁷⁾; Everton Rabelo Cordeiro⁽⁸⁾

⁽¹⁾ Estudante de doutorado; Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal; Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina; fernandagrimaldi@ymail.com; ⁽²⁾ Pesquisador A, Embrapa Amazônia Ocidental, CEP:69010-970, Manaus, AM, aleksander.muniz@cpaa.embrapa.br; ⁽³⁾ Pesquisador, Epagri, CEP: Lages, SC, murilode@epagri.sc.gov.br; ⁽⁴⁾ Bióloga, Universidade do Planalto Catarinense, Lages, SC; ⁽⁵⁾ Estudante, bolsista de IC CNPq, Uninorte, Manaus, AM; ⁽⁶⁾ Eng. Agrônoma, bolsista CT-Petro, Manaus, AM; ⁽⁷⁾ Professor, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; enilson.sa@ufrgs.br; ⁽⁸⁾ Pesquisador A, Embrapa Amazônia Ocidental, CEP:69010-970, Manaus, AM, everton.cordeiro@cpaa.embrapa.br

RESUMO – A espécie *Mimosa scabrella* Benth. é natural da floresta ombrófila mista e pode ser utilizada em vários setores da economia brasileira como a agricultura e a indústria farmacêutica. E ainda, na recuperação de áreas degradadas por atividades humanas como a mineração. Essa leguminosa faz simbiose com bactérias diazotróficas presentes no solo, que possibilitam a fixação biológica de nitrogênio. Entretanto, nem todas as estirpes bacterianas presentes no solo apresentam a mesma capacidade de fixar nitrogênio e assim faz-se necessário selecionar estirpes mais eficientes e eficazes nesse processo. Desse modo o objetivo desse trabalho foi selecionar estirpes de rizóbio eficazes para simbiose com *Mimosa scabrella*. As variáveis analisadas foram produção de massa seca de parte aérea, número de nódulos e massa seca de nódulo, eficiência e eficácia da fixação biológica de nitrogênio. Os resultados demonstraram que as estirpes EEL 2904, EEL 5004, EEL 3804A, EEL 3404A, EEL 12404B, EEL 6104B, EEL 4504B, EEL 18804B, EEL 16804B, EEL 3804B, EEL 12004A, EEL 10504B são as mais eficientes e podem ser utilizadas em novos trabalhos de seleção tanto em casa-de-vegetação quanto a campo.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas ; rizóbio; nodulação

INTRODUÇÃO - A espécie *Mimosa scabrella* Benth. é natural da floresta ombrófila mista e pode ser utilizada em vários setores da economia brasileira com destaque agricultura e indústria farmacêutica (Carvalho, 2003). Na agricultura pode ser utilizada como reflorestamento e árvore melífera, enquanto na indústria farmacêutica seu uso é na produção de agentes antivirais em doenças como a febre amarela e a dengue (Ono et al., 2003). Além disso, essa espécie pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas por atividades antrópicas como a mineração (Regensburger et al, 2008). Em função de seu potencial de uso como planta agrícola, medicinal e restauradora ambiental, a *Mimosa scabrella* é um importante recurso

genético vegetal a ser divulgado, estudado e utilizado para a pesquisa.

A *Mimosa scabrella* Benth (Figura 1) apresenta simbiose com bactérias diazotróficas, que proporcionam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e maior aporte desse nutriente em diversos ecossistemas como a Floresta Ombrófila Mista e o Cerrado. No entanto, nem todas as estirpes de bactérias nativas encontradas no solo apresentam a mesma capacidade de FBN. Em função da potencialidade da espécie no uso como planta agrícola, medicinal e restauradora ambiental faz-se necessário selecionar estirpes com maior capacidade de FBN. O objetivo deste trabalho, portanto, consistiu na seleção de estirpes de rizóbio eficazes para simbiose com *Mimosa scabrella*.

MATERIAL E MÉTODOS - O isolamento das estirpes de rizóbio foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Estação Experimental da Epagri de Lages. Esse isolamento foi obtido a partir de nódulos coletados na rizosfera de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) no município de Correia Pinto-SC. No laboratório, os nódulos obtidos foram lavados em água corrente, desinfestados por um minuto em álcool 70 %, e imersos por cinco minutos em hipoclorito de sódio a 2%. Em seguida, os nódulos foram lavados cinco vezes com água destilada estéril e macerados. Uma gota deste macerado foi adicionada em placa de Petri contendo meio sólido de agar-manitol-extrato de levedura (AML) com vermelho congo (Vincent, 1975). Os isolados foram testados nas plantas hospedeiras de bracatinga em condições de casa de vegetação, em vasos com areia e vermiculita estéril (2:1 v/v) e solução nutritiva de Hoagland (Teiz & Zeiger, 2004). A composição da solução nutritiva foi modificada nos tratamentos inoculados através da redução de nitrogênio. No início do experimento, cada vaso foi regado com 200 ml desta solução nutritiva e após quatro semanas foram adicionados mais 100 ml por vaso desta

mesma solução. Para a inoculação das plantas, as bactérias foram desenvolvidas no mesmo meio AML, sem vermelho congo, em tubos a uma temperatura de 28 °C. Depois do crescimento, cada cultura foi suspensa em água estéril. Desta suspensão foi inoculado um ml por vaso contendo três plantas já germinadas. Os 188 isolamentos realizados foram depositados na coleção de bactérias diazotróficas do Laboratório de Biotecnologia da Estação Experimental da Epagri de Lages, sendo 23 isolados testados com relação à eficiência na produção de massa seca da parte aérea (MSPA), número de nódulos (NNOD) e massa seca de nódulos (MNOD). Ainda, foram utilizadas a cepa referência SEMIA 5156 e testemunhas sem e com adição de nitrogênio mineral. O experimento foi conduzido durante o ano de 2005 com delineamento completamente casualizado com três repetições durante 90 dias. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente com o auxílio do programa Assistat v. 7.5. Para análise de variância e separação de médias os dados foram transformados através da macro Box-Cox. Já a eficiência e eficácia da FBN foram determinadas conforme as fórmulas abaixo:

RESULTADOS E DISCUSSÃO - Os resultados demonstraram que as estirpes avaliadas podem ser divididas em três grupos conforme a produção de matéria seca da parte aérea (Tabela 1). O grupo I (TEST+N) apresentou produção de massa seca da parte aérea com 57,28 mg/vaso, sendo maior que a dos demais grupos. Já o grupo II (EEL 2904, EEL 5004, EEL 3804A, EEL 3404A, EEL 12404B, EEL 6104B, EEL 4504B, EEL 18804B, EEL 16804B, EEL 3804B, EEL 12004A, EEL 10504B) apresentou uma produção de matéria seca de 30,84 a 39,01 mg/ vaso, que foi maior do que a obtida pelo grupo III com 15,49 a 29,35 mg/vaso. As estirpes com maior produção de matéria seca da parte aérea foram eficientes na fixação biológica de nitrogênio com desempenho superior a testemunha sem nitrogênio. No entanto, essas estirpes não foram eficazes quando comparadas a testemunha com nitrogênio. Por sua vez, cabe salientar que as estirpes mais eficientes apresentaram um desempenho superior à estirpe referência SEMIA 5156.

Com relação à nodulação as estirpes estudadas podem ser separadas em cinco grupos diferentes (Tabela 1). O grupo I apresentou um número nódulos/vaso entre 11,54 a 14,81 nódulos/vaso, sendo maior que os demais grupos. Já o grupo II apresentou entre 7,52 a 9,41 nódulos/vaso, sendo superior aos grupos III, IV e V. Por sua vez, o grupo III apresentou 6,06 nódulos/vaso, sendo maior que os grupos IV e V. Por conseguinte, o grupo IV apresentou 3,84 nódulos/vaso, sendo maior que o grupo V que não apresentou nodulação. Quanto à produção de massa seca dos nódulos as estirpes utilizadas nesse estudo

podem ser classificadas em quatro grupos distintos. O grupo I apresentou uma massa seca de nódulos de 10,68 a 12,40 mg/vaso, sendo maior que os demais grupos. Já o grupo II apresentou uma massa seca de nódulos de 8,19 a 9,66 mg/vaso, sendo maior que os grupos III e IV. Por sua vez o grupo III apresentou uma produção de massa seca de nódulos de 2,41 mg/vaso, sendo maior que o grupo IV que não nodulou. Os resultados da nodulação demonstraram que em condições controladas em casa de vegetação a massa seca de nódulos poderá ser considerada como parâmetro de seleção da eficiência da estirpe em fixa o nitrogênio biologicamente, enquanto que o número de nódulos não poderá ser utilizado. Os dados referentes ao número de nódulos foram similares aos obtidos em experimentos com seleção de estirpes de rizóbio para a cultura da ervilha (Brose & Muniz, 2008).

CONCLUSÕES - Conclui-se que as estirpes EEL 2904, EEL 5004, EEL 3804A, EEL 3404A, EEL 12404B, EEL 6104B, EEL 4504B, EEL 18804B, EEL 16804B, EEL 3804B, EEL 12004A, EEL 10504B são as mais eficientes e podem ser utilizadas em novos trabalhos de seleção tanto em casa-de-vegetação quanto a campo.

AGRADECIMENTOS – Agradecimentos a Epagri pela infra-estrutura e suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- BROSE, E.; MUNIZ, A. W. Isolamento e seleção em condições estéreis de estirpes de rizóbio para ervilha. *Agropec. Catarin.*,21(1):92-96, 2008.
- CARVALHO, P. E. R. . *Espécies Arbóreas Brasileiras*. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1. 1039 p, 2003.
- ONO, L. ; WOLLINGER, W. ; ROCCO, I. M. ; COIMBRA, T. L. M. ; GORIN, P. A. J. In vitro and in vivo antiviral properties of sulfated galactomannans against yellow fever virus (BeH11 strain) and dengue 1 virus (Hawaii strain). *Antiviral Research*, Bélgica, v. 60, p. 201-208, 2003.
- REGENSBURGER, B.; COMIN, J. J.; AUMOND, J.J. Integração de técnicas de solo, plantas e animais para recuperar áreas degradadas. *Cienc. Rural*,38(6): 1773-1776,2008
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Assimilação de nutrientes minerais*. In: *Fisiologia Vegetal*, 3 Ed.- Porto Alegre:Artmed, p. 285-308, 2004
- VINCENT, J. M. *Manual practico de rhizobiologia*. 1o ed. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur, 1975, 200p.OBS: Se preferir pode inserir quebra de página ou quebra de coluna após as referências.

Tabela 1. Massa seca da parte aérea, número e peso de nódulos de *Mimosa scabrella* inoculada com estirpes de rizóbio em casa de vegetação e condições hidropônicas. Médias de 3 repetições.

Estirpes	MSPA(mg/vaso)	NNOD/ vaso	MNOD (mg/ vaso)	Eficiência (%)	Eficácia (%)
TEST+N	57,28 a	0,00 e	0,00 d	271,60	100,00
EEL 2904	39,01 b	14,81 a	12,08 a	184,97	68,10
EEL 5004	38,14 b	13,19 a	12,40 a	180,84	66,59
EEL 3804A	37,02 b	13,25 a	12,12 a	175,53	64,63
EEL 3404A	36,31 b	12,03 a	11,33 a	172,17	63,39
EEL 12404B	35,71 b	11,54 a	10,68 a	169,32	62,34
EEL 6104B	35,08 b	8,24 b	10,85 a	166,33	61,24
EEL 4504B	34,94 b	9,41 b	11,21 a	165,67	61,00
EEL 18804B	33,47 b	12,36 a	9,66 b	158,70	58,43
EEL 16804B	33,36 b	10,48 a	9,09 b	158,18	58,24
EEL 3804B	33,10 b	12,02 a	13,95 a	156,95	57,79
EEL 12004A	32,33 b	11,71 a	11,06 a	153,30	56,44
EEL 10504B	30,84 b	6,06 c	9,57 b	146,23	53,84
EEL 13904B	29,35 c	7,52 b	8,40 b	139,17	51,24
EEL 10604A	26,46 c	7,96 b	8,57 b	125,46	46,19
EEL 6604B	26,31 c	12,74 a	11,92 a	124,75	45,93
EEL 17204C	26,29 c	0,00 e	0,00 d	124,66	45,90
EEL 10204A	25,61 c	0,00 e	0,00 d	121,43	44,71
EEL 15004	24,77 c	0,00 e	0,00 d	117,45	43,24
EEL 3204A	24,57 c	5,60 c	6,79 b	116,50	42,89
EEL 10504A	23,01 c	7,63 b	8,19 b	109,10	40,17
SEMIA 5156	21,94 c	3,84 d	2,41 c	104,03	38,30
EEL 15904A	21,17 c	0,00 e	0,00 d	100,38	36,96
TEST S/N	21,09 c	0,00 e	0,00 d	100,00	36,82
EEL 9504A	19,57 c	0,00 e	0,00 d	92,79	34,17
EEL 12004B	15,49 c	0,00 e	0,00 d	73,45	27,04

*Para o cálculo da variância os dados foram transformados pela ferramenta Box-cox. As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.