



FERTBIO 2012

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

Eficiência simbiótica de rizóbios em *Adesmia tristis*

Aleksander Westphal Muniz⁽¹⁾; Telma Andréa Carvalho Silva⁽²⁾; Murilo Dalla Costa⁽³⁾ ; Felipe Tonato⁽⁴⁾; Enílson Luiz Saccò de Sá⁽⁵⁾; Everton Rabelo Cordeiro⁽⁶⁾; Ronielly Hâdna da Silva Nunes⁽⁷⁾

(1) Pesquisador A, Embrapa Amazônia Ocidental, CEP:69010-970, Manaus, AM, aleksander.muniz@cpaa.embrapa.br; (2) Eng. Agrônoma, bolsista CT-Petro, Manaus, AM; (3) Pesquisador, Epagri, CEP: 88040-900, Lages, SC, murilodc@epagri.sc.gov.br; (4) Pesquisador A, Embrapa Amazônia Ocidental, CEP:69010-970, Manaus, AM, felipe.tonato@cpaa.embrapa.br; (5) Professor, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; enilson.sa@ufrgs.br; (6) Pesquisador A, Embrapa Amazônia Ocidental, CEP:69010-970, Manaus, AM, everton.cordeiro@cpaa.embrapa.br ; (7) Estudante, bolsista de IC CNPq, Uninorte, Manaus. AM, ronny.89@hotmail.com

RESUMO – A eficiência simbiótica de rizóbios aumenta a produtividade de leguminosas forrageiras. Entre essas leguminosas destaca-se a espécie *Adesmia tristis* do sul do Brasil. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de rizóbios em *Adesmia tristis*. Os rizóbios foram coletados a partir de nódulos dessa espécie provenientes de municípios da serra catarinense. As variáveis avaliadas foram: massa seca da parte aérea, nodulação e eficiência. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento em delineamento completamente casualizado com quatro repetições. Os resultados demonstraram que a indução na produção de massa seca foi inferior a testemunha com nitrogênio mineral. A maior nodulação foi obtida através da inoculação com as estirpes EEL32510A, EEL4810 e EEL32310B. As estirpes EEL4910, EEL32510A, EEL4810, EEL32310B e EEL32410 apresentaram uma eficiência muito baixa e as demais foram ineficientes. Conclui-se que as estirpes de rizóbios utilizadas nesse trabalho são ineficientes na fixação biológica de nitrogênio para *Adesmia tristis*. Dessa forma, faz-se necessário uma nova seleção a fim de buscar estirpes eficientes para essa leguminosa.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas; rizóbio; nodulação

INTRODUÇÃO - As leguminosas nativas se caracterizam por sua qualidade forrageira, capacidade de adaptação e de fixação de nitrogênio em simbiose com rizóbio. Nos campos nativos do Rio Grande do Sul e Santa Catarina podem ser encontradas 13 espécies de leguminosas do gênero *Adesmia* (Miotto e Leitão Filho, 1993). Dentre as espécies de *Adesmia* destacam-se *Adesmia latifolia* e *Adesmia tristis*, que apresentaram níveis consideráveis de proteína bruta e digestibilidade.

Os trabalhos conduzidos para avaliar os efeitos da inoculação de rizóbios na produção de forragem foram realizados na espécies de *A. latifolia* e *A. arujoii* (Scheffer-

Basso et al., 2001, 2005). Em Santa Catarina, os estudos ainda são incipientes em relação à seleção de isolados eficientes para *A. latifolia* (Muniz et al., 2012). Existe uma necessidade de investigar a eficiência de rizóbios também em outras espécies de *Adesmia*. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de rizóbios em *Adesmia tristis*.

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 de *Adesmia tristis* proveniente de quatro municípios da serra catarinense (Lages, Painel, Urupema e São Joaquim). 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). A eficiência simbiótica dos isolados foi avaliada nas plantas hospedeiras de *Adesmia tristis* cultivadas em vasos com areia e vermiculita estéril (2:1 v/v) e solução nutritiva de Norris (Norris & Date, 1976). As plantas foram cultivadas em salas climatizadas com um fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 22±2°C. Cada vaso foi regado semanalmente com 200 ml desta solução nutritiva. Para a inoculação das plantas, as bactérias foram desenvolvidas no meio 79 líquido em tubos de ensaio de 25 x 200 mm a uma temperatura de 28 °C sob agitação de 120 rpm por três dias (Vincent, 1975). Deste meio foi inoculado um ml por vaso contendo três plantas germinadas com altura aproximada de 10 cm. Os 11 isolados da coleção foram testados com relação à produção de massa seca da parte aérea, número de nódulos e massa seca de nódulos. O experimento foi conduzido com delineamento completamente casualizado com quatro repetições e avaliado após 45 dias de sua implantação. Foram

utilizados dois tratamentos como testemunhas: um não inoculado com adição de nitrogênio (TESTCN), outro não inoculado sem adição de nitrogênio (TESTSN). O tratamento com nitrogênio recebeu 700 mg.L⁻¹ de nitrato de amônio, que foi parcelado semanalmente (BRASIL, 2009). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de separação de médias de Scott-Knott (Scott & Knott, 1974). A eficiência (ER) foi determinada de acordo com a fórmula de Date e Norris (1979):

$$E = (\text{MSPA tratamento inoculado} / \text{MSPA tratamento com N}) \times 100$$

As classes de ER consideradas para seleção das estirpes foram: 0 a 20 % = ineficiente; 21 a 40 % = muito baixa; 41 a 60 % = baixa; 61 a 80 % = média; 81 a 100 % = alta; e > 100 % = muito alta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO - Os resultados de matéria seca da parte aérea variaram entre 48,2 a 368,0 mg.⁻¹ vaso. O tratamento com adição de nitrogênio apresentou a maior produção de MSPA do que as estirpes testadas. As estirpes EEL32410, EEL32510A, EEL4810 e EEL32310B apresentaram maior produção de massa seca da parte aérea do que a testemunha não inoculada e as estirpes EEL32510B, EEL4910, EEL4710, EEL15110 e EEL44010. A produção de massa seca tem sido o principal parâmetro de seleção de rizóbios tanto para espécies de *Adesmia* como em outras plantas forrageiras como trevos (Brose, 1994; Muniz et al., 2012).

A massa seca de nódulos variou entre 0 e 16,5 mg.⁻¹ vaso. As estirpes que induziram a maior massa seca dos nódulos foram EEL32510A, EEL4810 e EEL32310B. O número de nódulos variou entre 0 e 58,0. A maior produção de nódulos foi induzida pelas estirpes EEL32510A, EEL4910 e EEL32410. Esse número de nódulos não pode ser utilizado na seleção de estirpes efetivas como observado para as culturas de ervilha e lentilha (Brose e Muniz, 2008; Muniz e Brose, 2008).

A eficiência das estirpes variou entre 13,1 a 35,6 %. As estirpes EEL4910, EEL32510A, EEL4810, EEL32310B e EEL32410 apresentaram uma eficiência muito baixa e as demais foram ineficientes.

CONCLUSÕES - Conclui-se que as estirpes de rizóbios utilizadas nesse trabalho são ineficientes na fixação biológica de nitrogênio para *Adesmia tristis*. Dessa forma,

faz-se necessário uma nova seleção a fim de buscar estirpes eficientes para essa leguminosa.

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

REFERÊNCIAS

- BROSE, E. Seleção de rizóbio para trevo-branco em solo ácido. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 29, n. 2, p. 281-285, 1994.
- BROSE, E.; MUNIZ, A. W. Isolamento e seleção em condições estéreis de estirpes de rizóbio para ervilha. Agropec. Catarin., 21(1):92-96, 2008.
- MIOTTO, S. T. S.; LEITÃO FILHO, H. F. Leguminosae-Faboideae, Gênero *Adesmia* DC. Boletim do Instituto de Biociências, Porto Alegre, n. 52, p. 1-157, 1993.
- MUNIZ, A. W.; BROSE, E. Isolamento e seleção de estirpes de rizóbio (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) para lentilha em condições hidropônicas. Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v. 21, n. 3, p. 91-94, 2008.
- MUNIZ, A. W.; DALLA COSTA, M.; WOLFF, C. L.; OLIVEIRA, W. A. F.; SÁ, E. L. S. Seleção de estirpes de rizóbio para *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vogel. Biotemas, 25(1):177-180, 2012.
- 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.
- SCHEFFER-BASSO, S. M.; JACQUES, A. V. A.; DALL'AGNOL, M.; RIBOLDI, J.; CASTRO, S. M. J. Disponibilidade e valor nutritivo de forragem de leguminosas nativas (*Adesmia* DC.) e exóticas (*Lotus* L.). Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 975-982, 2001.
- SCHEFFER-BASSO, S. M.; VENDRUSCOLO, M. C.; CECCHETTI, D. Desempenho de leguminosas nativas (*Adesmia*) e exóticas (*Lotus*, *Trifolium*), em função do estádio fenológico no primeiro corte. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 1871-1880, 2005.
- VINCENT, J. M. Manual práctico de rhizobiología. 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 (MSPA), número (NNOD) e massa seca de nódulos (MNOD) em *Adesmia tristis*. Média de 4 repetições

Estirpe	MSPA	MNOD	NNOD	ER
	mg. ⁻¹ vaso		Número	(%)
EEL32510A	122,0 B	16,1 A	58,0 A	33,1
EEL32510B	62,0 C	9,2 B	37,7 B	16,8
EEL4910	78,0 C	9,8 B	48,0 A	21,2
EEL4810	120,0 B	16,1 A	33,5 B	32,6
EEL32310B	98,7 B	16,5 A	38,5 B	26,8
EEL32410	131,0 B	12,6 B	45,0 A	35,6
EEL4710	56,3 C	11,4 B	32,2 B	15,3
EEL15110	55,2 C	2,8 C	7,7 C	15,0
EEL44010	54,5 C	1,2 C	3,3 C	14,8
TSN	48,2 C	0,0 C	0,0 C	13,1
TCN	368,0 A	0,0 C	0,0 C	100,0
CV (%)	23,8	42,9	37,4	-

*médias com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$). CV =Coeficiente de variação.