



# FERTBIO 2012

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

## Microrganismos Diazotróficos Inoculados em Feijão Caupi

### cv. Guariba no Sudoeste da Amazônia

**Marinete Flores da Silva**<sup>(1)</sup>; **Ana Letícia D'anzicourt Guimarães**<sup>(2)</sup>;

**José Henrique Vallin**<sup>(3)</sup>; **Elias Melo de Miranda**<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup>Bolsista de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Regional CNPq, Microbiologia do Solo, Embrapa Acre– CPAFAC, Rodovia BR-364, km14, Rio Branco, Ac. CEP.: 69908-970, fone: (68) 3212-3235, Fax (68) 3212-3284 marinete@cpafac.embrapa.br, <sup>(2)</sup>Estudante de graduação em Biologia da União Educacional do Norte (UNINORTE ) Estagiária do departamento de Fitopatologia da Embrapa Acre, Analista do departamento de Fitopatologia da Embrapa Acre, Pesquisadores A da Embrapa Acre, giselle@cpafac.embrapa.br, elias@cpafac.embrapa.br.

**RESUMO.** A Seleção de microrganismos eficientes em fixar nitrogênio atmosférico pode promover economia de fertilizantes. Com vistas na obtenção de benefício nutricional para as plantas, as sementes de caupi cv. Guariba foram inoculadas com microrganismos fixadores de nitrogênio, isolados de nódulos de acessos de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) depositados no BAG Embrapa Acre. O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições e quatorze tratamentos, sendo onze isolados do amendoim forrageiro mais a estirpe BR1405, fertilização química nitrogenada e o controle absoluto, usados como testemunhas. As sementes de caupi foram desinfestadas e semeadas em vasos de Leonard modificado e inoculados 2 mL contendo ao redor de  $10^7$  células mL<sup>-1</sup> dos isolados BR1405, 80 C, 31 E, 27 A, 53 C, 56 A, 31 C, 75 A, 67 A, 19 A, 61 A e 2 A. Aos 35 dias foi feita a coleta das plantas, sendo separados os nódulos e a parte aérea, que foram secos em estufa. A parte aérea das plantas foi moída para a determinação teor de N. Também foram determinadas a massa de nódulos secos e a massa da matéria seca da parte aérea. Houve aumento significativo da massa seca da parte aérea quando inoculada com a estirpe BR1405, 31E, 27A e 19A, em relação ao controle absoluto. Para o teor de nitrogênio da parte aérea, houve efeito significativo da inoculação dos isolados 80-C, 31-E, 53-C, 31-C e 61-A, concluindo-se que as plantas de feijão Caupi, cultivar Guariba

respondem à inoculação com isolados de rizobio de *Arachis pintoi*.

**Palavras chave:** Fixação biológica de nitrogênio, leguminosas, inoculante.

**INTRODUÇÃO.** As bactérias diazotróficas têm um importante papel na manutenção da fertilidade do solo, pois através da associação simbiótica com as plantas, promovem a fixação do nitrogênio (N) atmosférico. O uso de fertilizantes químicos para suprir a baixa fertilidade da maioria dos solos amazônicos esbarra no alto custo destes insumos, além das questões ambientais que sugerem o uso moderado e até mesmo a inadequação dos insumos químicos em algumas áreas desta região, devido à fragilidade da maioria de seus ecossistemas.

Quando se considera os preços de fertilizantes químicos, estes são fatores limitantes também nas outras regiões brasileiras, por estarem diretamente relacionados ao preço do petróleo tornando, portanto, os custos de produção da atividade agrícola vulnerável à instabilidade do mercado desta commodity, que pode comprometer a segurança alimentar e competitividade do agronegócio brasileiro. Salienta-se ainda a dependência crescente do país de fertilizantes importados para atender o aumento de demanda, sem desconsiderar que o uso intensivo e distribuição destes insumos podem, não raramente, interferir negativamente na qualidade de vida do agricultor, na qualidade dos alimentos e do ambiente.

Desta forma, a prospecção de comunidades microbianas associadas à identificação e o desenvolvimento de genótipos de plantas, que favoreçam processos biológicos como fontes de nutrientes, tornam-se estratégico para sustentabilidade agrícola, possibilitando a redução dos custos de produção dos alimentos e a redução do consumo de energia de fontes não renováveis. Assim, o processo de fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) destaca-se como uma tecnologia importante, para o suprimento de nitrogênio.

Com os problemas do uso dos fertilizantes químicos, aliado à crescente valorização de práticas agrícolas alternativas, refletidas notadamente no aumento de mercado para produtos agroecológicos, tornam o manejo ecológico dos microrganismos do solo uma prática potencialmente viável, podendo contribuir para aumentar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas na

**MATERIAL E MÉTODOS.** Os isolados utilizados foram obtidos de nódulos de acessos de amendoim forrageiro do banco de germoplasma da Embrapa Acre, no município de Rio Branco – AC, plantados em um Argissolo Vermelho Amarelo.

Para testar a resposta do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) à inoculação de isolados de rizóbio de *Arachis pintoi*, foi conduzido um experimento usando como substrato areia e vermiculita (1:1) em um telado da Embrapa no município de Rio Branco - AC. O delineamento experimental foi blocos ao acaso com quatro repetições e quatorze tratamentos, sendo 11 isolados de Amendoim forrageiro (80 C, 31 E, 27 A, 53 C, 56 A, 31 C, 75 A, 67 A, 19 A, 61 A e 2 A), a estirpe BR 1405, mais o controle absoluto e adubado com 100 mg de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . As sementes de caupi foram desinfestadas superficialmente de acordo com (Hungria et al. 1994). Em seguida foram lavadas por dez vezes em água destilada e autoclavada. Foram semeadas quatro sementes por vaso. Após sete dias da germinação foi feito um desbaste ficando duas plantas em vasos de Leonard modificados feitos com garrafas descartáveis tipo PET

(Santos et al, 2009). Os isolados de amendoim forrageiro e a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 1405 (testemunha), recomendado para inoculação de *Arachis hipógea*, foram crescidos em frascos erlenmeyer contendo meio de cultivo, YM (Fred & Walksman, 1928) pH 6,8 sob agitação de 175 rpm a 28°C por 24 h. Posteriormente ao crescimento dos microrganismos, foi feita a contagem do número de células viáveis utilizando a técnica da microgota de acordo com (Miles & Misra, 1938). Em seguida foram inoculados 2 mL da suspensão bacteriana contendo ao redor de  $10^7$  células  $\text{mL}^{-1}$  por isolado por vaso. Aos 35 dias após a emergência, as plantas foram coletadas e as raízes separadas da parte aérea na altura do coleto. Os nódulos do caupi foram destacados das raízes, e lavados. Posteriormente, nódulos e parte aérea foram secos em estufa (65°C por 72 horas) para determinação da massa de matéria seca. Após a pesagem, a parte aérea das plantas foi moída para a determinação do N pelo método de Kjeldahl (Liao, 1981). As variáveis analisadas foram: massa de nódulos secos, massa da matéria seca e o teor de Nitrogênio da parte aérea. As medias das variáveis foram

Amazônia. Ressalte-se que a pesquisa nesta área do conhecimento na Amazônia está apenas começando, sendo necessário intensificar os estudos de prospecção, isolamento e seleção de microssimbiontes para uso agrícola, explorando a grande diversidade de microorganismos desta imensa região.

O feijão caupi, é uma cultura de importância econômica que pode ser beneficiada com a prospecção, isolamento e seleção de bactérias diazotróficas que potencializem a FBN em seus cultivos, reduzindo seus custos de produção e os impactos ambientais, com benefícios para toda a sociedade.

O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de estirpes de rizóbio isoladas de acessos de amendoim forrageiro, em promover o crescimento e nutrição de plantas de Caupi.

submetidas à análise de variância, recorrendo-se ao teste de Scott-Knott, com p 0,1 para comparação entre médias das demais variáveis. As análises foram realizadas no programa estatístico SISVAR<sup>®</sup>, da Universidade Federal de Lavras.

**RESULTADOS e DISCUSSÃO.** Os tratamentos de inoculação promoveram resposta significativa sobre a produção de massa seca da parte aérea (Tabela 1). As plantas inoculadas com as estirpes/isolados BR1405 e 19-A apresentaram maior produção de biomassa em relação ao controle absoluto e não diferiram significativamente do tratamento nitrogenado, indicando que o feijão caupi, cultivar Guariba, se beneficiou da inoculação das bactérias, sinalizando interação da cultura com alguns dos isolados inoculados, nas condições do ensaio. Sousa e Moreira (2011) realizando um estudo de inoculação da estirpe INPA 11-03B em feijão caupi, verificaram uma produtividade de grãos de 843  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  com um incremento de 40%, devido à inoculação, em relação à testemunha sem inoculação e sem N mineral.

Quanto à massa seca dos nódulos não houve diferença entre os tratamentos testados. Melo et al. (2009) avaliando a fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima obtiveram resultados similares, não tendo observado diferença significativa na inoculação das estirpes BR 3262 e BR 3267 em casa de vegetação. Nos tratamentos que não receberam inoculação (Controle sem inoculação e nitrogenado) foi observada a presença de nódulos, o que mostra ter havido contaminação com bactérias entre tratamentos trabalho realizado por Melo et al., (2009). Quanto ao teor de nitrogênio na parte aérea foi observado efeito significativo da inoculação dos isolados 80-C, 31-E, 27-A, 53-C, 56-A, 31-C, 75-A, 67-A, 19-A, 61-A e 2-A, em relação aos demais tratamentos. Com relação ao acúmulo de N na parte aérea foi observado efeito significativo para os isolados inoculados 80-C, 31-E, 27-A, 53-C, 56-A, 31-C, 67-A, 19-A e 61-A quando comparado aos demais tratamentos.

**CONCLUSÃO.** O feijão Caupi, cultivar Guariba responde à inoculação com isolados de rizobio de *Arachis* e proporciona maior produção de matéria seca, teor e acúmulo de nitrogênio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRED, E. B.; WAKSMAN, S.A. Yeast extract-mannitol Agar for laboratory manual of general microbiology. New York: **McGraw Hill**, 1928. 145p.

LIAO, C.F.H. Devard's alloy method for total nitrogen determination. **Soil Science Society of American Journal**, v.45, p.852-855, 1981.

MILES, A. A.; MISRA, A. A. The stimation of the bacteria Power of blood. **Journal of Hygiene**, Jena, v. 38, p. 732-749, 1938.

MELO, S. R. de, ZILLI, J.E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.44, n.9, p. 1177-1183, set. 2009.

SANTOS, C. E. de R. e S.; Bezerra, R. de V.; Freitas, A. D. S.; Seido, S. L.; Martins, L. M. V.; Rumjanek, N. G. Xavier, G. R. Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis tipo Pet. **Comunicado Técnico**. Seropédica, RJ, 2009.

SOUSA, P. M.; MOREIRA, F. M. de S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar:Um estudo de caso. Em Extensão, Uberlândia, v.10, n.2, p. 37-54, jul. / dez. 2011.

**Tabela 1:** Avaliação dos isolados de rizóbio inoculados em feijão caupi cv. Guariba aos 35 dias após a inoculação.

Isolados	Mpas (g.planta <sup>-1</sup> )	Teor de N (g.kg <sup>-1</sup> )	Acúmulo de N (mg)
BR1405	2,65 a	14,81 b	39,22 b
80-C	2,08 b	27,42 a	56,92 a
31-E	2,35 b	26,32 a	62,22 a
27-A	2,35 b	25,29 a	59,49 a
53-C	2,23 b	33,29 a	73,85 a
56-A	2,28 b	26,43 a	61,14 a
31-C	2,15 b	28,93 a	61,04 a
75-A	2,07 b	24,98 a	50,19 b
67-A	2,10 b	29,06 a	63,09 a
19-A	2,62 a	25,00 a	64,45 a
61-A	2,34 b	34,48 a	80,49 a
2-A	2,23 b	22,28 a	49,56 b
TN (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	2,77 a	20,34 a	56,34 a
T. absoluta	1,40 c	14,50 b	20,30 b
CV(%)	19,46	21,57	24,80

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna de Mpas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott com  $p > 0,1$ . Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas de Teor de N e Acúmulo de N, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott com  $p > 0,05$ . Legenda: (MPAS) = Massa da parte aérea seca, TN = testemunha nitrogenada (100 mg de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> por kg de substrato) e sem inoculação; Testemunha absoluta sem inoculação e sem N.