

12568 - Promoção do crescimento de plantas de *Crotalaria ochroleuca* por bactérias isoladas de solo de um sistema de produção agroecológica

Fernanda Santana de Paulo¹, Sumaya Mário Nosoline¹, Daniele Cabral Michel², Jakson Leite³, Norma Gouvêa Rumjanek⁴ & Gustavo Ribeiro Xavier⁴

1 Curso de Pós Graduação em Agronomia-Ciência do Solo (CPGA-CS), Dpto. de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, nandasibylla@yahoo.com.br, maya_joaca@yahoo.com.br; 2 UFRRJ, Embrapa Agrobiologia, danielecamichel@gmail.com; 3 CPGA-CS/UFRRJ, leitejk@yahoo.com.br; 4 Embrapa Agrobiologia, norma@cnpab.embrapa.br, gustavo@cnpab.embrapa.br.

Resumo. Plantas leguminosas que formam simbioses com bactérias diazotróficas nodulíferas são comumente utilizadas para adubação verde em alternativa a aplicação de fertilizantes nitrogenados. A elevada produção de biomassa por plantas do gênero *Crotalaria*, as torna uma das mais utilizadas na adubação verde. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de bactérias isoladas de nódulos de *Crotalaria ochroleuca* para promover acúmulo de biomassa seca em plantas desta espécie. Dez isolados com capacidade de nodular *Crotalaria ochroleuca*, anteriormente caracterizados foram avaliados. As massas de nódulos, raiz e parte aérea secas foram utilizadas para avaliar o desempenho dos isolados, que foram comparados com um tratamento nitrogenado. Um tratamento com a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 2003 e um tratamento sem inoculação nem adubação foram incluídos. Os isolados P4-4(6), P4-5(3), P4-5(7), P4-5(2) e P4-2(1) mostraram eficiência relativa maior que 100%, comparados ao tratamento nitrogenado para o parâmetro massa da parte aérea seca. O isolado P4-4(6) mostrou maior eficiência para os parâmetros massa de raiz seca, massa da parte aérea seca e massa seca total.

Palavras-Chave: diversidade, eficiência simbiótica, adubação verde, *Crotalaria*.

ABSTRACT. Leguminous plants, which form symbioses with diazotrophic nodule bacteria, can be used as green manure as an alternative to chemical nitrogen fertilization. Because of their high biomass production, plants from the genus *Crotalaria* are frequently used as green manure. The objective of this study was to evaluate the efficiency of bacteria isolated from nodules of *Crotalaria ochroleuca* to promote accumulation of biomass in plants of this species. Ten previously characterized isolates capable of nodulating *Crotalaria ochroleuca* were evaluated. The dry mass of nodules, roots and shoots was quantified and used to evaluate the performance of the isolates, which were compared with a nitrogen treatment. Treatment with the strain of *Bradyrhizobium* sp. BR 2003 and a treatment without inoculation or fertilizer were included. The isolated P4-4 (6), P4-5 (3), P4-5 (7), P4-5 (2) and P4-2 (1) showed relative efficiency greater than 100% compared to the nitrogen treatment for the shoot dry mass parameter. The isolate P4-4 (6) showed higher efficiency for the parameters root dry mass, shoot dry mass and total dry mass.

Keywords: diversity, symbiotic efficiency, green manure, *Crotalaria*.

INTRODUÇÃO

Nos trópicos o nitrogênio é o nutriente que geralmente limita a produção vegetal, tornando-a dependente da aplicação de adubos nitrogenados sintéticos que, além de apresentar alto gasto energético, pode contribuir para a contaminação ambiental (Franco

& Souto, 1984). Neste cenário, a Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN) é um processo chave e crítico para o manejo sustentável desses solos, através do suprimento total ou parcial de nitrogênio (N), representando um mecanismo promotor do crescimento vegetal.

A FBN é desempenhada por procariotos diazotróficos através da atividade da nitrogenase que é capaz de reduzir o nitrogênio atmosférico a uma forma assimilável pelos vegetais (Hungria e Vargas, 2000). Em leguminosas, a fixação de nitrogênio por este grupo de bactérias ocorre em estruturas especializadas, os nódulos (Moreira e Siqueira, 2006) e por este motivo, as leguminosas são muito utilizadas para adubação verde em sistemas agrícolas.

Dentre as espécies de leguminosas utilizadas para adubação verde, o gênero *Crotalaria* vem apresentando destaque no cenário agroecológico, sendo muito utilizado em rotação com diversas culturas e no enriquecimento do solo por apresentar nodulação abundante com espécies de rizóbios nativos (Espindola et al., 2006). Porém, a seleção de bactérias capazes de estabelecer uma eficiente simbiose com plantas desta espécie é fundamental para uma maior difusão da tecnologia da inoculação .

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de bactérias isoladas de nódulos de *Crotalaria ochroleuca* para promover acúmulo de biomassa seca em plantas desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento foi montado em casa-de-vegetação para avaliar a eficiência de bactérias isoladas de nódulos de *Crotalaria ochroleuca* em vasos de Leonard modificados, contendo areia e vermiculita em proporção 2:1 (v:v) (Vincent, 1970). O delineamento experimental foi feito em blocos ao acaso com 13 tratamentos: dez bactérias isoladas de *Crotalaria ochroleuca*, uma estirpe recomendada para crotalária (*Bradyrhizobium* sp. BR 2003), um controle nitrogenado (100 mg de N.vaso.semana⁻¹) e um controle sem inoculação e sem nitrogênio (controle absoluto), com cinco repetições. As sementes de *Crotalaria ochroleuca* foram imersas em álcool etílico 95% por 30 segundos, em seguida imersas em peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 30% p.a.) por 3 minutos e lavadas 10 vezes consecutivas em água estéril (Vincent, 1970). Foram semeadas três sementes por vaso, realizando-se desbaste aos sete dias após a emergência (DAE), deixando-se apenas uma planta em cada vaso. As bactérias deste trabalho foram isoladas de nódulos de *Crotalaria ochroleuca*, oriundos do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA, Seropédica, RJ). Estas foram crescidas em meio de cultura YM (Fred & Waksman, 1928), sob agitação de 150 rpm, por 2 a 5 dias, de acordo com o tempo de crescimento de cada um dos isolados. Após o desbaste das plantas, foi inoculado 1 mL da suspensão bacteriana contendo 10⁹ ufc.ml⁻¹. Foram adicionados semanalmente 250 ml de solução nutritiva (Norris & T'mannetje, 1964). A coleta foi realizada aos 60 dias após o plantio (DAP) e os variáveis avaliados foram: massa de nódulos secos (MNS), massa da parte aérea seca (MPAS), massa de raiz seca (MRS) e massa total seca (MTS=MPAS+MNS+MRS). A eficiência relativa dos isolados para as diferentes variáveis foi determinada utilizando a fórmula $ER = (X_i / X_n) \times 100$, onde X_i é a média do tratamento inoculado e X_n a média do tratamento nitrogenado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de eficiência relativa para massa da parte aérea seca, massa de raiz seca e

massa seca total (parte aérea + raiz + nódulos) podem ser vistos na figura 1. A estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 2003 recomendada para inoculação de crotalária, mostrou baixa eficiência relativa para as variáveis avaliadas quando comparada ao tratamento que recebeu nitrogênio. Embora os dados sejam de experimento realizado em vasos de Leonard, estes resultados apontam para necessidade de seleção de estirpes mais eficientes para esta espécie.

Dos dez isolados avaliados, os que apresentaram potencial para testes futuros foram P4-4(6), P4-5(3), P4-5(7) e P4-5(2) que mostraram maior eficiência relativa para acúmulo de massa seca na parte aérea (Figura 1). Destes, os isolados P4-4(6), P4-5(3) e P4-5(7) também mostraram ser potenciais para promoção do crescimento radicular, proporcionando maior massa seca de raiz quando comparados ao tratamento nitrogenado.

O isolado P4-4(6) mostrou maior potencial para promoção do crescimento das plantas. Análises do teor do nitrogênio na parte aérea pode revelar o potencial deste isolado quando a atividade de fixação biológica de nitrogênio. De todo modo, mostra potencial para testes futuros.

A baixa eficiência apresentada pelos demais isolados indica que *Crotalaria ochroleuca* apresenta diferentes respostas para os diferentes isolados avaliados, o que reforça a necessidade de seleção de bactérias com alto potencial para promoção do crescimento desta espécie. O efeito no crescimento radicular pode ser estimulado por outra via simbiótica que não a fixação biológica de nitrogênio, como a produção de compostos indólicos, uma vez que é conhecido que bactérias isoladas de nódulos de leguminosas podem produzir AIA (Chandra et al., 2007).

Os parâmetros massa de nódulos secos e massa da parte aérea seca são usuais para avaliação do desempenho simbiótico na seleção de estirpes bacterianas para produção de inoculantes para leguminosas. No caso de leguminosas utilizadas para adubação verde, acrescenta-se a avaliação da massa seca de raiz, uma vez que toda biomassa da planta é incorporada no solo. Portanto, analisar o estímulo à produção de biomassa total (parte aérea, de raiz e de nódulos), além do teor de nitrogênio fixado, possibilita maior sucesso na seleção de pares simbióticos eficientes.

CONCLUSÕES

Os isolados P4-4(6), P4-5(3), P4-5(7), P4-5(2) e P4-2(1) são promissores para testes posteriores.

O isolado P4-4(6) mostrou maior eficiência para os parâmetros massa de raiz seca, massa da parte aérea seca e massa seca total.

AGRADECIMENTOS

Ao CPGA-CS/UFRRJ, Embrapa Agrobiologia, CNPq e a CAPES.

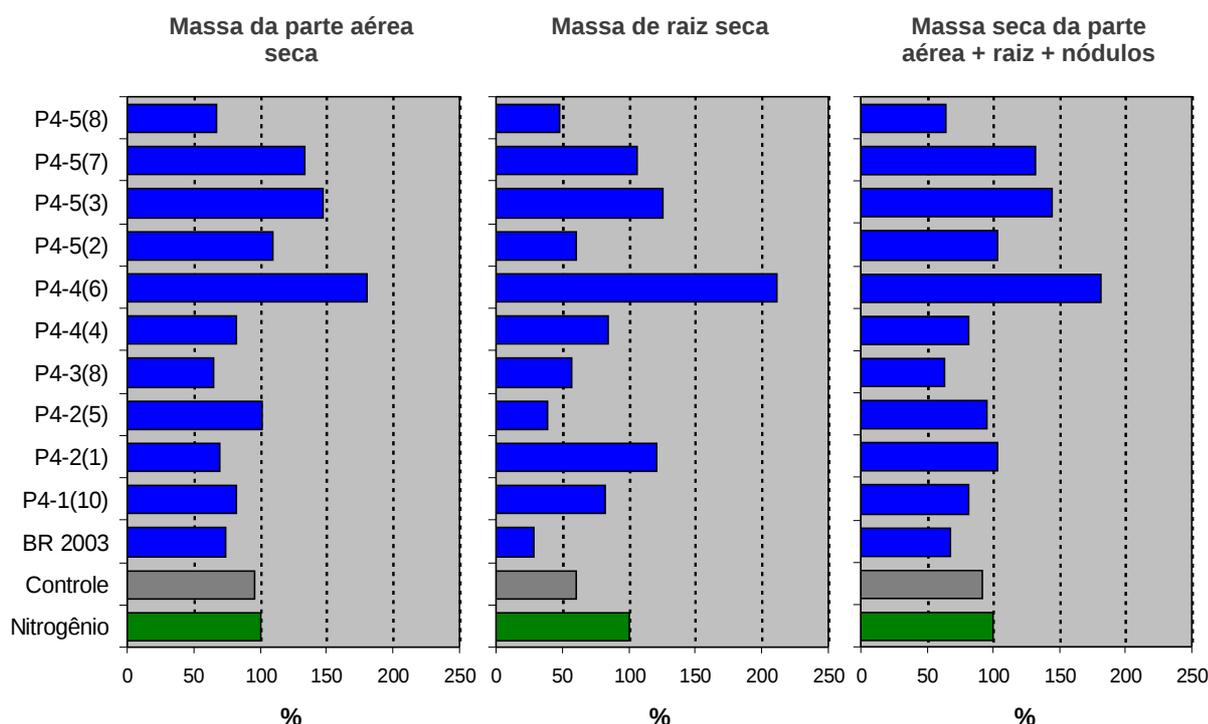


Figura 1. Eficiência relativa de bactérias isoladas de nódulos de *Crotalaria ochroleuca* quanto aos parâmetros de produção de biomassa vegetal em comparação com adubação nitrogenada (500 mg de N na forma de uréia).

REFERÊNCIAS

CHANDRA, S.; CHOURE, K.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K. Rhizosphere competent *Mesorhizobium loti* MP6 induces root hair curling, inhibits *Sclerotinia sclerotiorum* and enhances growth of Indian mustard (*Brassica campestris*). **Brazilian Journal of Microbiology**, 38(1), 124-130, 2007.

ESPINDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; PERIN, A.; TEIXEIRA, M.G.; ALMEIDA, D.L. de; URQUIAGA, S.; BUSQUET, R.N.B. Bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes utilizadas como coberturas vivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.415-420, 2006.

FRANCO, A.A.; SOUTO, S.M. **Contribuição da fixação biológica de N₂ na adubação verde**. In: Fundação Cargill. Adubação verde no Brasil. Campinas, 1984. p.199-215.

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

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p.151-164, 2000.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed.atual. e

ampl., Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NORRIS, D.O.; T'MANNETJE, L. 1964. The symbiotic specialization of African *Trifolium* spp. in relation to their taxonomy and their agronomic use. **East Afr. Agric. For. J.** 29: 214-235.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria.** Oxford, Blackwell Scientific, 1970, 164p.