

14131 - Isolamento de bactérias fixadoras de nitrogênio para inoculação de espécies leguminosas

Isolation of nitrogen fixing bacteria for inoculation of legume species

LEITE, Joicy Rodrigues ¹; MEDINA, Juliana Martins²; CAMPOS André Narvaes da Rocha ³

1 IF Sudeste MG - Câmpus Rio Pomba, joicy-agroecologia@hotmail.com; 2 IF Sudeste MG - Câmpus Rio Pomba, jmmedina19@gmail.com; 3 IF Sudeste MG - Câmpus Rio Pomba, andre.campos@ifsudestemg.edu.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi isolar bactérias do gênero rizóbio com capacidade de promoção da rizogênese para inoculação de espécies leguminosas produtoras de grãos e utilizadas para a adubação verde. Atualmente, o suprimento deste nutriente tem sido realizado com adubos altamente solúveis produzidos por meio de processos caros energeticamente. Neste contexto a utilização de espécies vegetais com a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) torna-se estrategicamente relevante. O projeto foi realizado no Setor de Agricultura do IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba. Foram utilizadas plantas das espécies *Crotalaria spectabilis* e *Canavalia ensiformis*, as quais serviram de armadilha para capturar os rizóbios nativos da região da Zona da Mata de Minas Gerais. As bactérias isoladas que tiveram confirmada sua capacidade de associar-se simbioticamente com as respectivas leguminosas foram avaliadas quanto a suas características morfológicas e fisiológicas.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio; rizóbio; espécies leguminosas; nativo.

Abstract: The aim of this work was to isolate bacteria of the genus *Rhizobium* for inoculation of leguminous grain-producing and used for green manure. Currently, this nutrient supply has been performed with highly soluble fertilizers produced by energetically expensive processes. In this context the use of plant species with the ability to nitrogen fixation (BNF) becomes strategically important. The project was conducted by the Division of Agriculture IF Sudeste MG - Campus Rio Pomba. We used plants of the species *Crotalaria spectabilis* and *Canavalia ensiformis*, which served as a trap to capture the rhizobia from Zona da Mata of Minas Gerais. Bacterial isolates that had confirmed their ability to associate symbiotically with the respective legumes were evaluated for their morphological and physiological characteristics.

Keywords: Nitrogen fixation, rhizobia, legume species, native

Introdução

O uso de adubos verdes, capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) eficientemente, pode representar contribuição considerável na viabilidade econômica e sustentabilidade dos sistemas de produção (Boddey et al., 1997). Além disso, fontes inorgânicas de N são propensas à perdas por volatilização e desnitrificação, aumentando os custos e reduzindo sua eficiência de utilização. Neste contexto a utilização de espécies vegetais com a capacidade FBN torna-se estrategicamente relevante. Na Zona da Mata de Minas Gerais os principais cultivos que apresentam tais características são o feijoeiro e os adubos verdes. No entanto, o sucesso da utilização de plantas leguminosas com atividade de FBN depende do isolamento de estirpes de *Rhizobium* adaptadas a cada região. Na Zona da Mata de Minas Gerais

não poucos grupos de pesquisa estudam e desenvolvem inoculantes para estas associações simbióticas. Assim, torna-se necessário o isolamento de estirpes de *Rhizobium* adaptados às condições edafo-climáticas da Zona da Mata de Minas Gerais.

O sucesso deste tipo de estratégia pode ser estimado pelo fato de que as bactérias fixadoras de nitrogênio contribuem com mais de 97% do N-orgânico introduzido nas cadeias tróficas de nosso planeta (SYLVIA et al., 2005). Assim, o uso da fixação biológica de nitrogênio (FBN) é relevante para a agricultura descapitalizada da Zona da Mata de Minas Gerais, onde predominam os latossolos vermelho-amarelos distróficos (FEAM, 2011).

O objetivo deste trabalho é o de isolar bactérias do gênero rizóbio para inoculação de espécies leguminosas produtoras de grãos e utilizadas para a adubação verde adaptadas às condições edafo-climáticas da Zona da Mata de Minas Gerais.

Metodologia

O trabalho foi realizado utilizando as facilidades do Setor de Agricultura do IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba. Foram utilizadas plantas das espécies *Crotalaria spectabilis* (crotalária) e *Canavalia ensiformis* (feijão de porco), as quais serviram de armadilha para capturar os rizóbios nativos da região da Zona da Mata de Minas Gerais em dois tipos diferentes de solo, proveniente de mata secundária e de várzea cultivada com espécies anuais.

O isolamento dos rizóbios foi realizado em meio de cultura meio de cultura YM (extrato de levedura e manitol) contendo o corante Vermelho Congo, conforme descrito por Vincent (1970).

As bactérias isoladas, e que tiverem confirmadas sua capacidade de associar-se simbioticamente com as respectivas leguminosas, foram avaliadas quanto a suas características morfológicas e fisiológicas.

Resultados e discussões

Para as características morfológicas foi realizada a coloração de Gram. As bactérias isoladas da crotalária da várzea e da mata eram cocos Gram negativos. O isolado de feijão de porco, por sua vez, era um coco Gram positivo. O grupo rizóbio é encontrado nas α -Proteobactérias, tendo estes microrganismos reação de Gram negativa (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Como característica fisiológica, foi avaliada a taxa de crescimento das estirpes por meio da curva de crescimento por meio da avaliação da densidade ótica à 600 nm. Na Figura 1, observou-se que o isolado de crotalária proveniente de solo de mata apresentou a maior velocidade de crescimento, quando comparada às outras duas estirpes (Figuras 2 e 3).

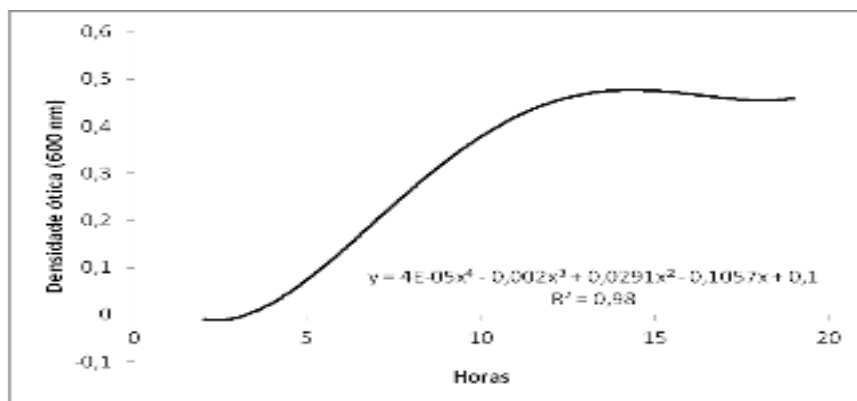


Figura 1. Crescimento da bactéria isolada utilizando como armadilha a crotalária em solo de mata.

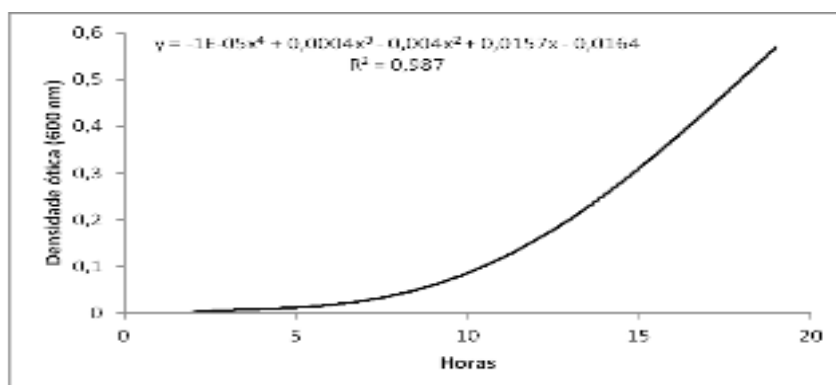


Figura 2. Crescimento da bactéria isolada utilizando como armadilha a crotalária e solo proveniente da várzea.

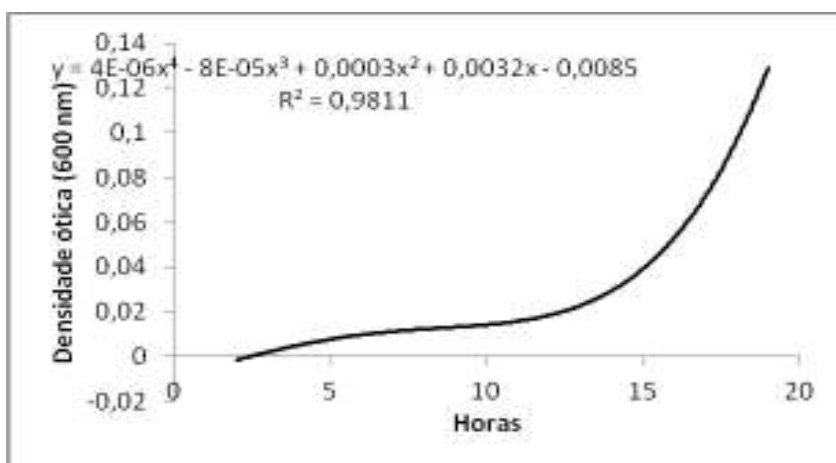


Figura 3. Crescimento da bactéria isolada utilizando como armadilha feijão de porco em solo proveniente da várzea.

Outra característica avaliada foi a modificação do pH no meio de cultura, foi adicionado o corante azul de bromotimol no meio YM. Após a inoculação das bactérias, observou-se que o meio adquiriu outra coloração amarelada em poucos dias, indicando acidificação do meio.

Conclusões

O isolamento de rizóbio é uma etapa importante nos estudos da simbiose rizóbio leguminosa. Através deste trabalho comprovamos a eficiência do isolamento das estirpes, das espécies *Crotalaria spectabilis* e *Canavalia ensiformis* que serão posteriormente testada para validação de sua utilização em programas de inoculação destas leguminosas.

Agradecimento

Os autores agradecem o apoio da FAPEMIG, do CNPq e do IF Sudeste MG para realização deste trabalho.

Referências bibliográficas:

BODDEY, R. M.; SÁ, J. C. D. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.787-799, 1997.

ESPÍNDOLA, J. A. A., GUERRA, J. G. M., ALMEIDA, D. L. DE. **Adubação verde: estratégia para uma agricultura sustentável**. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1997. 20p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 42).

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - FEAM. **MAPA DE SOLOS DO ESTADO DE MINAS GERAIS**. Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <http://www.feam.br/noticias/1/949-mapas-de-solo-do-estado-de-minas-gerais>. Acessado em: 05 de junho de 2012.

HUNGRIA, M. Estudos sobre a associação rizóbio-leguminosas. In: HUNGRIA, M., ARAÚJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA. 1994. p.45-62.

MOREIRA, F. M. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Editora da UFLA, 2006, 726 p.

[SYLVIA](#), D. M.; [FUHRMANN](#), J. J.; [HARTEL](#), P. G.; [ZUBERER](#), D. A. **Principles and Applications of Soil Microbiology**. 2 ed. Nova Jersey: Prentice Hall, 2005, 640 p.

VINCENT, J. M. **A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970, 164 p.