

ESTIRPES DE BACTÉRIAS ALTAMENTE EFICIENTES QUE FORNECEM NITROGÊNIO PARA A CAUPI FORAM SELECIONADAS NA UFLA E JÁ SÃO RECOMENDADAS PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES COMERCIAIS.

Fátima M.S.Moreira¹

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um processo ecológica e economicamente vantajoso, que pode substituir os onerosos adubos químicos nitrogenados. No Brasil, o melhor exemplo de utilização desse processo é a cultura da soja, na qual a adubação química nitrogenada é totalmente substituída pela utilização de inoculantes contendo bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, o que representou uma economia para o país de cerca de US\$ 2 bilhões no ano de 2003.

Embora o Brasil tenha cerca de 2.000 espécies nativas de leguminosas (desde herbáceas até arbóreas), nenhuma delas se beneficia, em ampla escala, do emprego dessa biotecnologia. Estirpes eficientes já foram selecionadas para cerca de 100 espécies por várias instituições de pesquisa brasileira; no entanto, do total de cerca de 26 milhões de doses de inoculante comercializadas (produzidos no Brasil e importados) em 2003, 99% são

¹ Coordenadora do projeto - Prof. Microbiologia e Bioquímica do Solo -Departamento de Ciência do Solo-Universidade Federal de Lavras - C.P.37, Lavras, MG, CEP 37.200-000

para a cultura da soja e apenas 1% é para as outras espécies, especialmente para o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Portanto, é imprescindível a difusão dessa biotecnologia de baixíssimo custo para as outras culturas de leguminosas, especialmente para aquelas cultivadas por pequenos agricultores para sua subsistência, como o feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.)). A produção média brasileira dessa cultura é bastante baixa: cerca de 500 kg ha⁻¹, sendo cultivada principalmente nas Regiões Norte e Nordeste, embora possa ter sua área de cultivo ampliada em outras regiões, por ser bem mais rústica do que o feijão comum.

RECOMENDAÇÃO DE NOVAS ESTIRPES PARA CAUPI

Na última reunião da RELARE (Rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola), realizada em junho de 2004, a estirpe, até então recomendada para feijão caupi BR2001, foi substituída por três novas estirpes mais eficientes, sendo uma resultante de experimento da EMBRAPA (BR3267- Martins et. al. *Biology and Fertility of Soils*, 2003) e outras duas resultantes de experimentos realizados na UFLA (INPA3-11B e UFLA3-84).

ORIGEM DAS ESTIRPES INPA3-11B E UFLA3-84

Desde 1997, a diversidade e seleção de bactérias que fixam nitrogênio atmosférico eficientes em simbiose com caupi vêm sendo pesquisadas na UFLA. Alunos de iniciação científica, bolsa atividade, mestrado e doutorado do Departamento de Ciência do Solo foram envolvidos em projetos que tiveram financiamento do CNPq, CAPES, FAPEMIG e GEF/UNEP. O professor Messias José Bastos de Andrade, do Departamento de Agricultura da UFLA, tem colaborado nos experimentos de campo. As estirpes INPA3-11B e UFLA3-84 foram isoladas de solos da Amazônia, respectivamente, de Manaus e Rondônia, sendo, portanto, adaptadas a altas temperaturas e condições de acidez predominantes nos solos brasileiros. A INPA3-11B, isolada de nódulos de *Centrosema* sp., foi selecionada num primeiro estágio, em condições controladas (vasos com substrato estéril), em 1982, no INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), e em estágios posteriores em Minas Gerais, na UFLA. A seleção da UFLA3-84, isolada no projeto ASB (Alternatives for Slash and Burn) de solo de pastagem usando caupi como planta isca, resultou de vários experimentos em câmara de crescimento, casa-de-vegetação e campo, realizados em Minas Gerais (Figura 1). Foi demonstrado, em condições controladas, que a estirpe INPA3-11B também é capaz de fixar nitrogênio

eficientemente com soja (Miguel e Moreira, 2001). A UFLA 3-84 apresentou alta tolerância a sais “in vitro” (Nóbrega et al., Ciência e Agrotecnologia, no prelo) e, portanto, apresenta grande potencial para uso no semi-árido brasileiro, onde a cultura do caupi tem grande importância social e econômica.

EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DA INPA3-11B E UFLA 3-84

INPA3-11B e UFLA 3-84 foram testadas nas variedades BR14-Mulato, BR08-Caldeirão e Poços de Caldas. Os experimentos de eficiência agronômica no campo tiveram adubação de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O, usando como fonte o superfosfato simples e o cloreto de potássio. Nestas condições, com aplicação relativamente baixa de insumos, e em solos com pH variando de 4,9 a 5,9, foram obtidas produções de grãos de 950 a 1.340 kg ha⁻¹, equivalentes à adubação nitrogenada de 70 a 80 kg ha⁻¹ N-uréia (Figuras 2, 3 e 4). Os experimentos de campo foram realizados nos municípios de Perdões e Iguatama, no sul de Minas Gerais.

IDENTIFICAÇÃO DAS ESTIRPES INPA3-11B E UFLA3-84

O seqüenciamento de bases do 16S rDNA das duas estirpes já foi realizado e revelou que ambas pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*;

porém, quando comparadas às várias seqüências depositadas no banco mundial de dados Genbank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), que incluem todas as estirpes recomendadas para inoculação de soja, verificou-se que há novas seqüências. A similaridade maior da UFLA3-84 é com *Bradyrhizobium* sp. (AF384136, 97%) e da INPA3-11B é com *B. elkanii* (AF208510, 98%) (Moreira et al., em preparação). O fato de essas estirpes pertencerem ao gênero *Bradyrhizobium*, assim como as estirpes recomendadas para a soja, representa uma vantagem em relação a outras espécies de leguminosas, como no caso do feijão, *Phaseolus vulgaris*, que forma simbiose predominantemente com estirpes de crescimento rápido (gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Burkholderia*), cujos genes de nodulação e FBN (simbióticos) estão em plasmídeos. Os genes simbióticos de *Bradyrhizobium* estão no cromossomo e são, portanto, mais estáveis. As estirpes recomendadas para a soja BR 29 e SEMIA 587, por exemplo, já são usadas desde 1979, sem perda de suas características simbióticas, e a própria INPA3-11B manteve sua eficiência desde 1980, data em que foi isolada.

ALUNOS DA EQUIPE

Os alunos envolvidos no projeto mediante de trabalhos de Iniciação Científica (IC), dissertações de Mestrado (MSc) e teses de doutorado foram:

Adão Marcelino Lacerda (IC 1997-2000- e MsC-2002), André L.L.Soures (IC de 2000 a 2002, MSc 2004), Adriana Silva Lima (IC 1998-2002, MSc 2003), Eliane Guimarães Pereira (Doutorado, 2000), João Paulo A .R.Pereira (IC de 2002 até o momento), Ligiane Aparecida Florentino (Bolsista atividade 2000, IC 2002 até o momento), Paulo A. A. Ferreira (Bolsista atividade 2002, IC 2003 até o momento). O experimento de campo de Iguatama também teve a colaboração de Cláudia G. Nogueira e Helson M.M. do Vale (alunos de MSc do curso de Microbiologia Agrícola da UFPA).

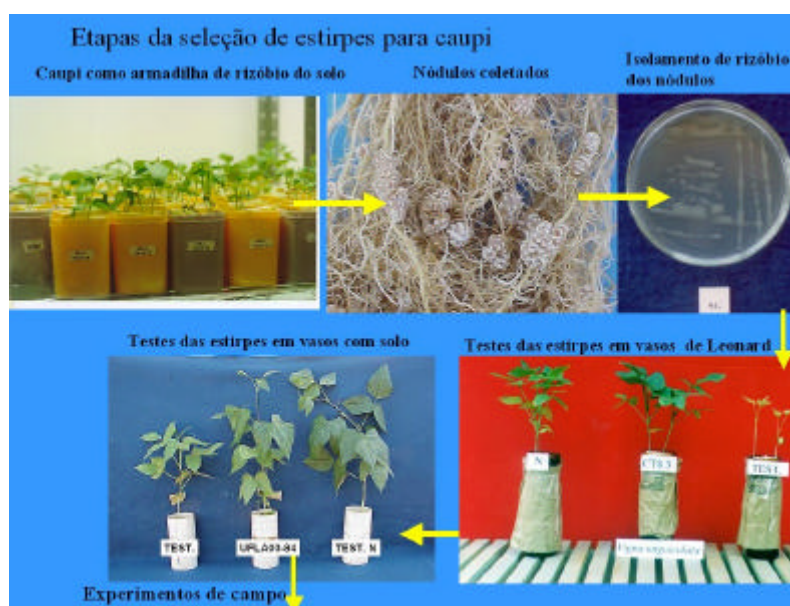


FIGURA 1: Simplificação das diferentes etapas de seleção de estirpes eficientes, no sentido das setas: bactérias nodulíferas fixadoras de nitrogênio são capturadas da comunidade microbiana do solo, por meio de plantas-isca, depois são isoladas dos nódulos formados e inoculadas, separadamente, nas espécies-alvo (no caso, caupi) para verificar seus efeitos no crescimento vegetal pela da comparação com controles (TEST) com e sem nitrogênio na forma mineral.

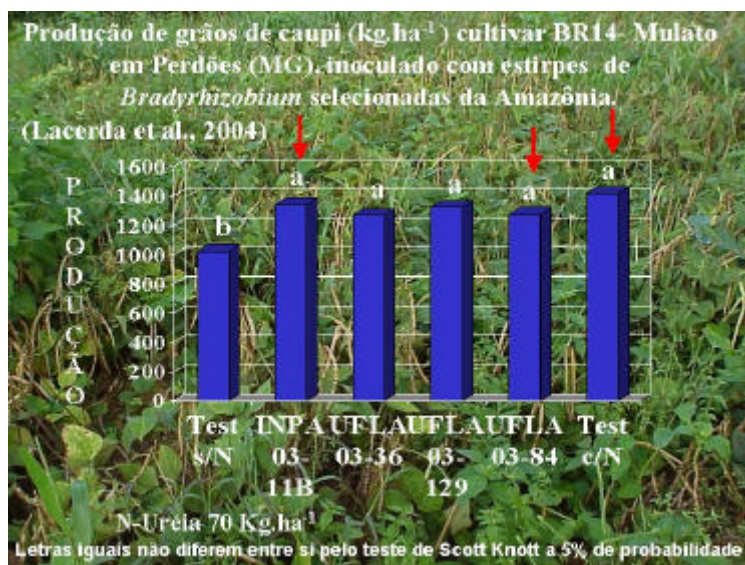


FIGURA 2. Produção Dezembro 2001/Fevereiro 2002-Argissolo vermelho distrófico

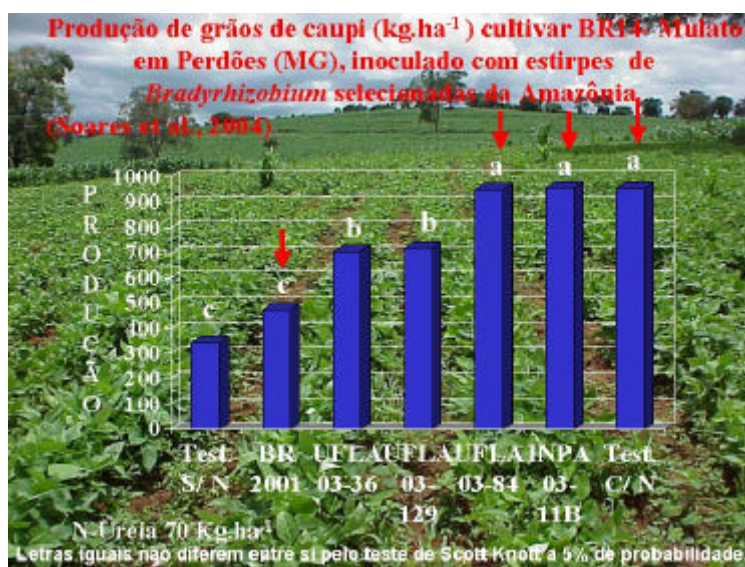


FIGURA 3: Produção novembro 2002/março 2003- Argissolo vermelho distrófico

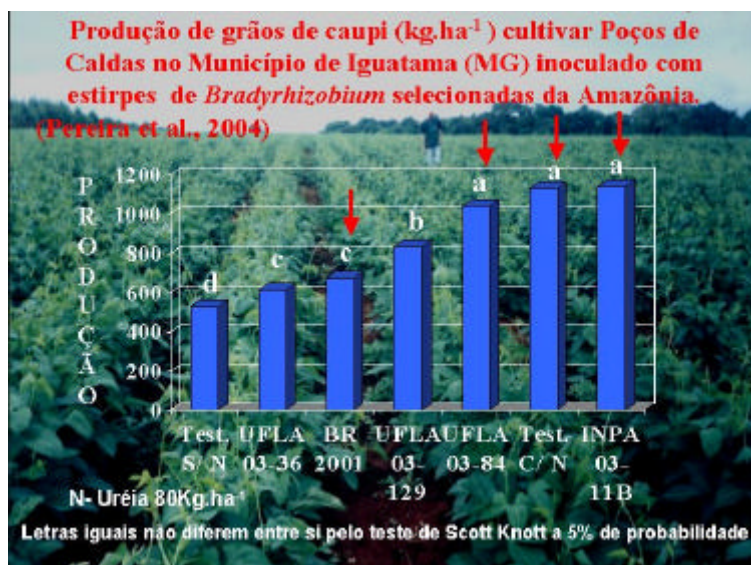


FIGURA 4. Dezembro de 2003 a março de 2004- Latossolo vermelho amarelo

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FLORENTINO, L. A.; PEREIRA, J. P. A. R.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência de Estirpes de Rizóbio de Diferentes Procedências na Simbiose com Caupi (*Vigna unguiculata* var. BR 14 Mulato). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA DA UFLA – CICESAL, 16.; SEMINARIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 11.; Seminário de Avaliação do PBICT/FAPEMIG, 6., 2003, Lavras. **Resumos...**

Lavras: PBICT/FAPEMIG, 2003. p. 132.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Especificidade e Eficiência de Estirpes e Isolados de Rizóbio em *Glycine max*, *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA DA UFLA- CICESAL, 12.; SEMINARIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 7.; SEMINARIO DE AVALIAÇÃO DO PBICT/FAPEMIG, 2., 1999, Lavras. **Livros de resumos...** Lavras: PBICT/FAPEMIG 1999. p. 133.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência e seleção de isolados de rizóbio em *Vigna unguiculata* L. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA – CICESAL, 13.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 8.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PBIICT/FAPEMIG, 3., 2000, Lavras. **Livros de resumos...** Lavras: PBIICT/FAPEMIG, 2000. p. 146.

LACERDA, A. M. **Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por estirpes selecionadas de rizóbio.** 2002. 44 p. Dissertação (Mestrado em de Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LACERDA; A. M.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

LIMA, A. S.; MOREIRA, F. M. S. Biodiversidade Fenotípica (Proteína Total por SDS-PAGE) de Isolados de Rizóbio Oriundos de Nódulos de Caupi (*Vigna unguiculata*) Inoculados com Solos da Amazônia. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA – CICESAL, 13.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 8.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PBIICT/FAPEMIG, 3., 2000, Lavras. **Livros de resumos...** Lavras: PBIICT/FAPEMIG, 2000. p. 162

LIMA, A. S. **Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de solos da Amazônia sob diferentes sistemas de uso da terra.** 2003. 56 p. Dissertação (Mestrado em de Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LIMA, A. S.; MOREIRA, F. M. S.; PEREIRA, J. P. A. R. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. isoladas de solos da Amazônia sob diferentes sistemas de uso da terra In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 10.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO - FERTBIO, 5., 2004, Lages, SC. **Resumo expandido...** Lages, SC, 2004. CD-ROOM.

MAGALHÃES, F. M. M. Estado atual de conhecimento sobre fixação biológica de nitrogênio na Amazônia. In: SIMPÓSIO SOBRE O TRÓPICO ÚMIDO, 1., 1986, Belém, Pará, Brasil. **Anais...** Belém, Pará: Ministério de Agricultura, 1986. v. 1, p. 499-512.

PEREIRA, E. G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia.** 2000. 93 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREIRA, E. G.; LIMA, A. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Densidade fenotípica e simbiótica entre isolados de rizóbio de *Vigna unguiculata* da região amazônica. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 10.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO - FERTBIO, 5., 2004, Lages, SC. **Resumo expandido...** Lages, SC, 2004. CD-ROOM.

PEREIRA, J. P. A. R.; SOARES, A. L. L.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nodulação e Produtividade de *Vigna unguiculata* var. BR 14 MULATO por Estirpes Seleccionadas de Rizóbio no Sudeste de MG. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA – CICESAL, 16.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 11.; Seminário de Avaliação do PBICT/FAPEMIG, 6., 2003, Lavras. **Resumos...** Lavras: PBICT/FAPEMIG, 2003. p. 132.

PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, PA A.; VALE, H. M. M.; NOGUEIRA, C. G.; SOARES, A L. L.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* cultivar Poços de Caldas por estirpes selecionadas de rizóbio no Município de Iguatama. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 10.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO - FERTBIO, 5., 2004, Lages, SC. **Resumo expandido...** Lages, SC, 2004. CD-ROOM.

SOARES, A. L. L.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; LACERDA, A. M. Resposta em campo da inoculação de estirpes de rizóbio no feijão caupi *Vigna unguiculata*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA-CICESAL, 15.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPQ, 10.; Seminário de Avaliação do PBICT/FAPEMIG, 5., 2002, Lavras. **Resumos...** Lavras: PBICT/FAPEMIG, 2002. p. 114.

SOARES, A. L. L. **Eficiência agrônômica e diversidade de populações nativas de estirpes de rizóbio para o feijão e o caupi no Município de Perdões, MG.** 2004. 60 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOARES, A. L.; PREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P A A.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* cultivar BR14 Mulato por estirpes selecionadas de rizóbio no Município de Perdões. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 10.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 8., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO - FERTBIO, 5., 2004, Lages, SC. **Resumo expandido...** Lages, SC, 2004. CD-ROOM.
Informações sobre simbiose da INPA3-11B com soja:

MIGUEL, D. L.; MOREIRA, F. M. S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 873-883, 2001.
Informações sobre tolerância a salinidade das duas estirpes:

NÓBREGA, R. S. A.; MOTTA, J. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas à salinidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, no prelo, 2004.