

Inoculações cruzadas com rizóbios, entre leguminosas das três subfamílias Amazônia central

Edilingles Pinto VIEIRA¹; Luiz Augusto Gomes de SOUZA²

¹Bolsista PIBIC INPA; ²Orientador INPA/CPCA

Quando se consideram a eficiência das interações simbióticas entre os rizóbios e seus hospedeiros, as leguminosas tropicais não apresentam um padrão homogêneo em relação à compatibilidade com as bactérias fixadoras de N₂. Sob o prisma da planta, Zahran (2001), considera a existência de duas categorias: o grupo promíscuo (cuja nodulação é induzida por várias espécies de rizóbios tropicais) e o grupo específico (que requer seus próprios rizóbios para nodular). Nos dias de hoje, a ciência ainda não completou o levantamento da habilidade nodulífera da maioria das Leguminosas, existindo muitas lacunas de pesquisas, dentre elas uma ausência de informações sobre a eficiência da inoculação cruzada de estirpes de rizóbios entre diferentes hospedeiros. Estes conhecimentos podem servir de alternativa para a inoculação de espécies pouco conhecidas, selecionadas para plantios na região Amazônica, promovendo a eficiência simbiótica. Quanto aos rizóbios, segundo Menna *et al.* (2006), nas coleções de estirpes empregadas como inoculante no Brasil são reconhecidas espécies pertencentes a sete gêneros: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Burkholderia*, *Azorhizobium* e *Methylobacterium*. O objetivo deste estudo foi avaliar a compatibilidade e eficiência da inoculação cruzada de estirpes de rizóbios isoladas de espécies de Leg. Papilionoideae, quando inoculadas na leguminosa herbácea de hábito escandente conhecida popularmente por "patinho" (*Centrosema brasilianum* Benth.), pertencente à mesma subfamília. Um experimento de inoculação cruzada foi conduzido em casa de vegetação do INPA/CPCA em Manaus, durante os meses de outubro de 2006 a janeiro de 2007, utilizando vasos plásticos de 500 mL, preenchidos com areia lavada como substrato. A areia foi previamente esterilizada em autoclave, por 1h, a 1,5 atm. Como fonte de nutrientes, empregou-se a solução de Norris para Vasos de Leonard (Norris, 1964). As sementes de patinho foram coletadas em áreas abertas do município do Careiro da Várzea, AM, semeadas em areia e transplantadas nos vasos, duas plantas por vaso. A solução nutriente foi adicionada ao substrato, a 80% da capacidade de campo, com drenagem (quatro furos ao redor do vaso), mantendo-se o nível de solução durante a condução do ensaio. Quatorze estirpes da coleção de rizóbios do Laboratório de Microbiologia do Solo do INPA foram testadas como inoculante, reconhecidas aqui pelo seu número de registro na coleção e pelo gênero da leguminosa hospedeira, de cujos nódulos foram isoladas: INPA 522 (*Clitoria*-1), INPA 568 (*Dalbergia*), INPA 575 (*Centrosema*), INPA 579 (*Ormosia*-1), INPA 605 (*Clitoria*-2), INPA 673 (*Abrus*), INPA 675 (*Dioclea*), INPA 676 (*Lonchocarpus*), INPA 682 (*Acosmium*), INPA 696 (*Calopogonium*), INPA 716 (*Alysicarpus*), INPA 744 (*Ormosia*-2), INPA 808 (*Vigna*) e INPA 815 (*Stylosanthes*). No desenho experimental, foram considerados 16 tratamentos: os dois primeiros tratamentos foram controles: T1 - Testemunha absoluta (T) (plantas sem inoculação e sem nitrogênio mineral); T2 - Testemunha nitrogenada (TN) (plantas adubadas com N-mineral na forma de KNO₃); T3... T16 - Tratamentos de inoculação correspondendo à inoculação individual das estirpes. No preparo do inoculante foi empregado o meio YMA líquido, mantido em agitador mecânico vertical por dez dias, antecedendo a inoculação de 2 mL de inoculante líquido por vaso. As plantas foram medidas em comprimento do caule ao início e final do estudo e colhidas aos 50 dias após o transplante, determinando-se a sua biomassa seca da parte aérea raízes e nódulos, contagem dos nódulos e determinações da concentração do N-foliar pelo método de Kjeldahl. A secagem foi feita em estufa a 65°C por 72 horas, antecedendo as pesagens. Os dados foram analisados estatisticamente, adotando-se um delineamento inteiramente casualizado 16 tratamentos e 2 repetições. Na análise estatística, foi usado o programa Estat da FCAV/UNESP e as comparações entre médias foram pelo teste de Tukey. Para efeito de análise dados da nodulação foram transformados para $\sqrt{x+0,01}$. No período experimental as plantas de patinho não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos para as medidas de comprimento do caule ao início e ao final do experimento, e na biomassa seca das raízes e nódulos. Por outro lado, as diferenças entre tratamentos se manifestaram no desenvolvimento em biomassa da parte aérea e total, no número de nódulos formados e na absorção de nitrogênio total, conforme pode ser verificado na Figura 1. Para as variáveis da biomassa seca e nitrogênio total registrou-se o menor rendimento das plantas do tratamento de inoculação com a estirpe INPA 682, isolada do gênero *Acosmium*. Foram encontradas diferenças entre estirpes de rizóbio quanto à capacidade infectiva em plantas de *Centrosema brasilianum* e os nódulos só foram formados quando estas foram inoculadas com rizóbios de origem dos hospedeiros *Ormosia*-1, *Alysicarpus*, *Ormosia*-2, *Dalbergia*, *Stylosanthes*, *Clitoria*-2, *Vigna* e pela estirpe homóloga de *Centrosema*. Seis das estirpes avaliadas, não foram infectivas, e a nodulação foi ausente: *Lonchocarpus*, *Acosmium*, *Calopogonium*, *Abrus*, *Clitoria*-1 e *Dioclea*. Observou-se que das estirpes de *Clitoria* testadas uma foi infectiva e outra não, sugerindo diferenças de eficiência intraespecíficas entre estirpes em adicionais às intragenéricas. Foi observado

que a maior média de nódulos formados em *Centrosema brasilianum* ocorreu com a estirpe INPA 716 de *Alysicarpus* e INPA 579 de *Ormosia*, sugerindo a compatibilidade de inoculação cruzada entre estes gêneros da subfamília Papilionoideae, pertencentes a três tribos diferentes das leguminosas: Phaseoleae, Hedysareae e Sophoreae, respectivamente.

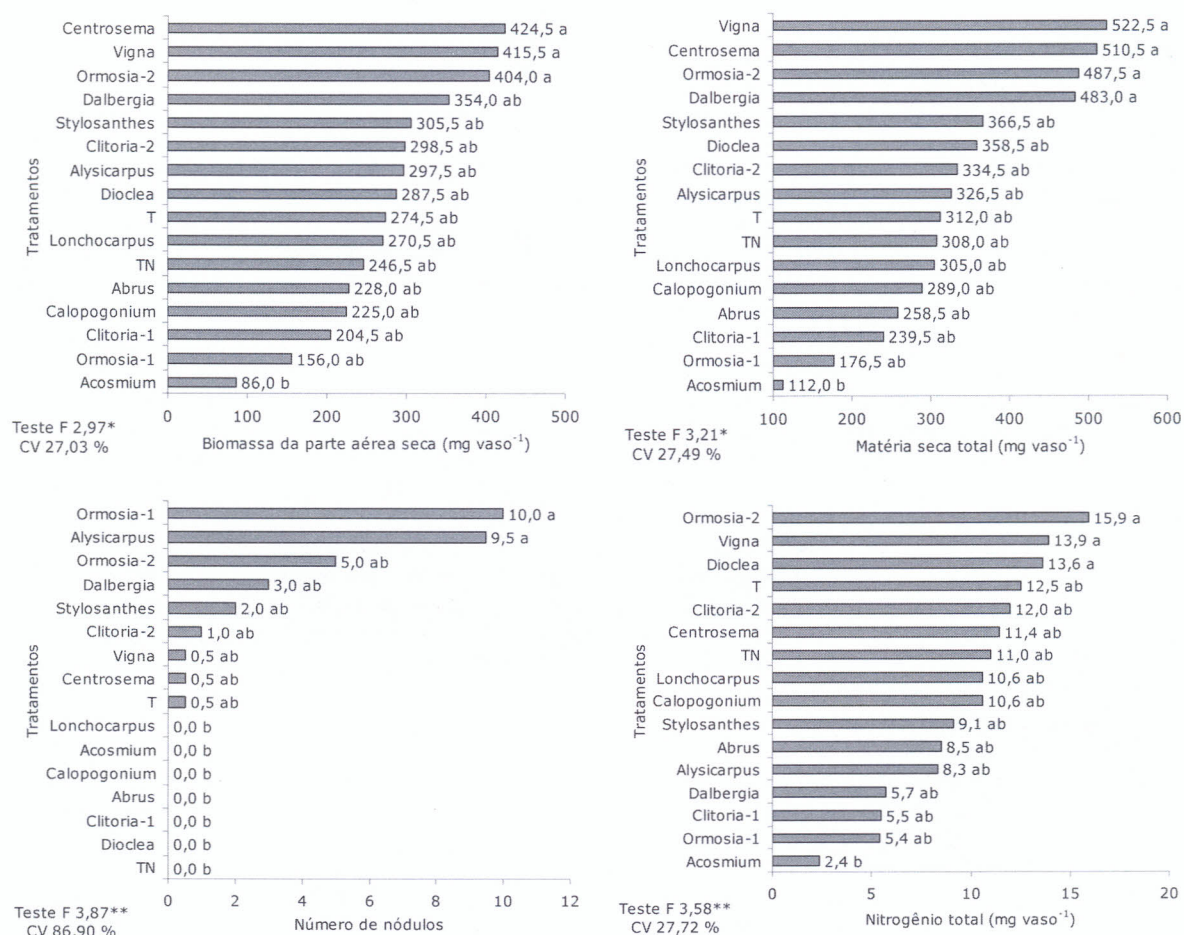


Figura 1. Efeito do tratamento de inoculação com estirpes de rizóbios da subfamília Papilionoideae, em patinho (*Centrosema brasilianum*) sobre variáveis do desenvolvimento, número de nódulos e nitrogênio total, aos 50 dias de crescimento em solução nutritiva.

Palavras-chave: *Centrosema brasilianum*, Microbiologia, nodulação, fixação de nitrogênio.

Bibliografias citadas

Menna, P.; Hungria, M.; Barcelos, F.G.; Bangel, E.V.; Hess, P.N.; Martínez-Romero, E. 2006. Molecular phylogeny base don the 16S rRNA gene of elite rhizobial strains used in Brazilian commercial inoculants. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(4): 315-332.

Norris, D.O. 1964. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: Norris, D.O. (Ed.) Some concepts and methods in sub-tropical Pasture Research. London: Farham Royal. Comm. Agr. Bur. p. 186-198. Field Crops Bulletin No. 47.

Zahran, H.H. 2001. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 91:143-153.