



Determinação da densidade de população de rizóbio presente em solos do Estado do Rio de Janeiro⁽¹⁾.

Gabriel Martins Pantoja⁽²⁾; Vinício Oliosí Favero⁽³⁾; Sumaya Mário Nosoline⁽⁴⁾; Fernanda Santana de Paulo⁽⁵⁾; Janaina Ribeiro Costa Rouws⁽⁶⁾; & Gustavo Ribeiro Xavier⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Embrapa Agrobiologia.

⁽²⁾ Bolsista Embrapa Agrobiologia; Embrapa Agrobiologia/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽³⁾ Bolsista de Iniciação Científica FAPERJ; Embrapa Agrobiologia/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Seropédica, RJ; ⁽⁴⁾ Bolsista de Doutorado CAPES/UENF; Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias/Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; ⁽⁵⁾ Bolsista de Doutorado CAPES/UFRRJ; Instituto de Agronomia/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ⁽⁶⁾ Pesquisador (a); Embrapa Agrobiologia.

RESUMO: Algumas bactérias possuem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, disponibilizando-o para as plantas, podendo estas estarem naturalmente no solo, ou serem introduzidas através de inoculação, sendo assim, importante o conhecimento de sua diversidade em áreas de cultivo. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a densidade da população de rizóbios capazes de nodular plantas de feijão-caupi, presentes em solos do estado do Rio de Janeiro. O experimento foi instalado utilizando vasos de Leonard modificados, em casa de vegetação asséptica da Embrapa Agrobiologia. O experimento foi realizado a partir de amostras de solo de 4 áreas diferentes, sendo estas pequenas propriedades, as quais realizam cultivos diversificados, entre estes, a cultura do feijão-caupi. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento de blocos ao acaso e consistiram da inoculação da cultivar Mauá com diluições de suspensões bacterianas de quatro solos e testemunhas nitrogenadas, testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio) e inoculação com a estirpe BR 3262. A estimativa do número de células bacterianas nodulantes e a massa seca da parte aérea de feijão-caupi foram avaliadas aos 40 dias após o plantio. Os resultados mostraram uma baixa densidade de rizóbio nos solos analisados, não havendo incremento na massa seca da parte aérea entre as diluições.

Termos de indexação: Fixação Biológica de Nitrogênio, *Vigna unguiculata*, inoculação.

INTRODUÇÃO

Além da importância alimentar, o feijão-caupi tem alto potencial para adubação verde. Isso se dá devido à capacidade de simbiose com bactérias diazotróficas eficientes, o que além de possibilitar a adaptação a solos de baixa fertilidade, representa um incremento significativo na taxa de Fixação

Biológica de Nitrogênio (FBN) e na produtividade da cultura, reduzindo também o uso de fertilizantes nitrogenados (Ehlers e Hall, 1997; Franco et al., 2002; Castro, 2004).

Porém, a eficiência da FBN pode influenciar em variações nos ganhos de produtividade da cultura, em função da estirpe utilizada na inoculação e da adaptação da cultura à região de cultivo, tornando-se importantes os estudos e a seleção de estirpes eficientes no processo de FBN (Rumjanek et al., 2005). A quantificação dos microrganismos presentes no solo, bem como a avaliação de sua sobrevivência e seus benefícios às plantas, podem ser feitas em cultivos, cujo ambiente seja controlado, avaliando-se a formação de nódulos em plantas já conhecidas como nodulantes e determinando a existência de células viáveis no solo analisado (Relare, 2008). De acordo com Zilli et al. (2013), a quantificação da população de rizóbio no solo é de grande importância para determinar a necessidade de inoculação, a exemplo de áreas onde foram realizados cultivos com uso da técnica de inoculação. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a densidade da população de rizóbios, capazes de nodular plantas de feijão-caupi, presentes em diferentes solos do estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

A determinação da densidade das populações de rizóbio nas amostras representativas foi realizada através do método do número mais provável (NMP) com infecção em plantas de feijão-caupi (cultivar Mauá), utilizando vasos de Leonard modificados, contendo areia e vermiculita em proporção 2:1 (v:v) (Vincent, 1970), esterilizados em autoclave e mantido em casa de vegetação asséptica da Embrapa Agrobiologia. Foi utilizada solução nutritiva (Norris e T'mannetje, 1964), com reposição de 250 mL/vaso semanalmente. O experimento foi realizado



a partir de amostras de solo de 4 áreas de cultivo de feijão-caupi dos Municípios de Cachoeiras de Macacu e Magé, sendo estas pequenas propriedades, as quais realizam cultivos diversificados e rotação de cultura com feijão-caupi. O delineamento experimental foi realizado em blocos ao acaso com 30 tratamentos e 3 repetições, com diluições de 10^{-1} a 10^{-7} a partir das amostras de solo, além das testemunhas nitrogenadas (50 kg N ha^{-1}), inoculação com a estirpe BR 3262 e testemunha absoluta (sem inoculação e sem nitrogênio), totalizando 93 vasos. As diluições seriadas foram realizadas de acordo com as recomendações do MAPA (Brasil, 2010), a partir de 10 gramas de solo diluídas em 90 mL de solução fisiológica (0,85% de NaCl), prosseguindo com a diluição decimal. Após a semeadura, num prazo de 5 dias, as plântulas foram inoculadas com uma alíquota de 1,0 mL da diluição correspondente. Para inoculação com a estirpe BR3262, foram utilizadas alíquotas de 1,0 mL de suspensão bacteriana crescida em meio YMA líquido (Fred & Waksman, 1928), contendo 10^9 ufc.mL^{-1} . As plantas foram coletadas aos 40 dias após a semeadura, observando-se a formação de nódulos e do número de unidades com resultado positivo dentro de cada diluição e a massa da parte aérea. Para a estimativa do número de células bacterianas nodulantes, utilizou-se a tabela de número mais provável (Andrade e Hamakawa, 1994). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância conforme o delineamento descrito e as médias comparadas por meio do teste de Scott-Knott, ao nível de significância de 0,05, através do programa Sisvar v. 4.5 (Ferreira, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados indicam uma população de bactérias que nodulam feijão-caupi variando em torno de 10^2 a 10^4 células g^{-1} de solo (Tabela 1). Esses valores de população são inferiores aos observados por Favero et al. (2013) num estudo sobre a densidade de rizóbios capazes de nodular feijão-caupi em solo do centro-oeste, com população em torno de 10^7 células g^{-1} de solo nas amostras de Sinop-MT, indicando uma alta população na área com cultivo de soja a um longo período.

O solo 1 foi o que apresentou maior densidade de rizóbio, o que pode ser devido ao cultivo sucessivo de feijão-caupi na área, nas entre linhas da produção de laranjas. De acordo com Ferreira et al. (2000), o cultivo sucessivo de uma leguminosa em uma mesma área tende a elevar a densidade de bactérias nodulantes no solo, devido a multiplicação dos rizóbios ser favorecida com a nodulação das plantas.

De um modo geral, não houve efeito significativo ($p>0,05$) da inoculação das suspensões de solo das diferentes áreas na massa seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 2). Observou-se que os tratamentos nitrogenados e a inoculação com a estirpe BR 3262 favoreceram um incremento na produção de MSPA nas plantas em comparação às inoculações com a suspensão dos solos e a testemunha absoluta (Tabela 3). No entanto, a diluição 10^{-2} apresentou incremento similar à inoculação com a estirpe padrão (BR 3262).

Quanto à avaliação da eficiência na nodulação, as plantas que receberam os tratamentos controles (nitrogenado e absoluto) e as diluições a partir de 10^{-4} dos quatro solos, não apresentaram nódulos.

CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que as densidades de rizóbios encontradas nos respectivos solos são baixas, quando comparadas a de outros estudos. De um modo geral, as bactérias do solo não proporcionaram incremento na massa seca da parte aérea.

AGRADECIMENTOS

A Deus, a minha família pelo suporte, à Embrapa Agrobiologia pela concessão da bolsa e a todos da unidade.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, D.S.; HAMAKAWA, P.J. 1994. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio no solo e em inoculantes por infecção em plantas, p.63-94. In: Hungria, M.; Araújo, R.S. (Eds). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Embrapa-SPI, Brasília, Distrito Federal.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelecer os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 17 de nov. 2010. Seção 1. p.4-10.

CASTRO, C.M.; ALVES, B.J.R.; ALMEIDA, D.L.; RIBEIRO, R.L.D. Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da berinjela em sistema orgânico. Pesq. agropec. bras., 39:779-785, 2004.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Field Crops Research, Amsterdam, Holanda, 53: 187-204, 1997.

FAVERO, V.O.; SILVA JUNIOR, E.B.; XAVIER, G.R. Densidade de rizóbios capazes de nodular feijão-caupi em solo do centro-oeste. In: XXIII Jornada de Iniciação Científica na Universidade Federal Rural do Rio de



Janeiro, 2013. Anais. Seropédica: UFRRJ, 2013. CD-ROM

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. Revista Symposium, v.6, p.36- 41, 2008.

FERREIRA, M.C.S.; ANDRADE, D.O.; CHUEIRE, L.M.; TAKEMURA, S.M.; HUNGRIA, M. 2000. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. Soil Biology and Biochemistry, 32: 627-637.

FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C.; TSAI, S.M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. Pesq. agropec. bras., 37:1145-1150, 2002.

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

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.

RELARE – Reunião da rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbianos de interesse agrícola, 14. Anais. Bonito: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 84p.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R. & NEVES, M. C. P. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A. & RIBEIRO, V. Q., eds. Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, Embrapa/ Informação Tecnológica, 2005. p.281-335.

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

ZILLI, J.E.; PEREIRA, G. M. D.; FRANÇA JÚNIOR, I.; SILVA, K.; HUNGRIA, M.; COSTA ROUWS, J. R. Dinâmica de rizóbios em solo do cerrado de Roraima durante o período de estiagem, ACTA AMAZÔNICA, VOL. 43(2), p.153-160, 2013.

Tabela 1: Número de células de rizóbio obtidos de diferentes solos coletados em áreas produtoras de feijão-caupi no estado do Rio de Janeiro.

Solo	Número de rizóbio g ⁻¹ de solo
1	4,62x 10 ⁴
2	1,11x10 ³
3	9,32x 10 ²
4	4,27x 10 ²

Tabela 2: Massa seca da parte aérea de feijão-caupi (cv. Mauá) inoculado com diferentes diluições de solos do estado do Rio de Janeiro.

Diluição	Tipo de solo								Média Geral	
	1		2		3		4			
1	0,41	a A	0,67	a A	0,55	a A	0,30	a A	0,48	A
2	0,87	a A	0,47	a A	0,49	a A	0,42	a A	0,56	A
3	0,50	a A	0,38	a A	0,36	a A	0,40	a A	0,41	A
4	0,40	a A	0,43	a A	0,42	a A	0,33	a A	0,39	A
5	0,45	a A	0,44	a A	0,70	a A	0,38	a A	0,49	A
6	0,32	a A	0,73	a A	0,38	a A	0,41	a A	0,46	A
7	0,22	b A	0,80	a A	0,90	a A	0,45	b A	0,65	A
Média Geral	0,45	a	0,56	a	0,57	a	0,39	a		
CV(%)	57,27									

Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3: Média geral da massa seca da parte aérea de feijão-caupi (cv. Mauá) sob diferentes fontes de Nitrogênio.

Diluição	Média Geral	
1	0,48	C
2	0,56	B
3	0,41	C
4	0,39	C
5	0,49	C
6	0,46	C
7	0,65	B
Nitrogênio	4,36	A
BR 3262	0,75	B
T. absoluta	0,31	C
Média Geral	0,89	
CV(%)	32,27	

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.