

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE RIZÓBIOS ISOLADOS DE TRÊS ESPÉCIES DE ADUBO VERDE POR MEIO DE BOX-PCR

Gleyson J. M. Miranda¹, Karine M. de Freitas², Jerri E. Zilli², Luc F. M. Rouws², Marcia Reed R. Coelho².

¹ Aluno de graduação do curso de Agronomia da UFRRJ (gleysonmesquita@hotmail.com); ² Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro.

A adubação verde é uma antiga prática de cultivo e incorporação de plantas, sobretudo de leguminosas (Fabaceae), produzidas no local ou não, com a finalidade de preservação e ou restauração dos teores de matéria orgânica e de nutrientes dos solos, como nitrogênio. Esta atividade pode ser potencializada com a aplicação de inoculantes de bactérias diazotróficas. O presente trabalho objetivou, portanto, isolar e caracterizar bactérias diazotróficas de nódulos de três adubos verdes: *Flemingia macrophylla* (flemingia), *Canavalia brasiliensis* (feijão-bravo do Ceará) e *Cratylia argentea* (cratília) por meio da técnica de BOX-PCR. Os nódulos de plantas de diferentes origens geográficas foram coletados, desinfestados e macerados em uma placa de Petri contendo meio YMA. Para obtenção de perfis BOX-PCR foram feitas reações de PCR diretamente das colônias crescidas. Os perfis gerados foram analisados com o auxílio do programa BioNumerics 7.0. Foi realizado o cálculo do coeficiente de Dice e o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) foi utilizado para construção do dendrograma. No total foram obtidos 55, 53 e 30 isolados de feijão-bravo do Ceará e cratília, respectivamente. Em flemingia foram observados 28 perfis distintos com uma grande diversidade entre isolados de três origens distintas. Para o feijão-bravo, o dendrograma indicou uma grande diversidade entre isolados oriundos de 12 regiões distintas, com ocorrência de vinte e oito perfis, distribuídos nos nove grupos formados a 60 % de similaridade. Em um subgrupo, observou-se que sete perfis iguais de três locais diferentes se agruparam, demonstrando que esta pode ser uma estirpe de ampla distribuição para a cultura do feijão-bravo do Ceará. Finalmente, na cratília os 20 isolados submetidos à análise foram agrupados em sete perfis de BOX, distribuídos em três grupos. A partir desses resultados, foi possível a seleção de um isolado representante de cada perfil a ser submetido ao sequenciamento de gene *rrs*, para identificação das estirpes isoladas, etapa importante no processo de desenvolvimento de inoculantes para os três adubos verdes, que ainda não possuem estirpes recomendadas no MAPA para inoculação.

Palavras chave: bactérias nodulíferas, flemingia, feijão-bravo do Ceará, cratília, diversidade molecular.

Apoio financeiro: CNPQ, EMBRAPA & FAPERJ