



AGRONOMIA E BIODIVERSIDADE

Bactérias fixadoras de nitrogênio na agronomia e na biodiversidade

Crodowaldo Pavan^{2,3} e *Carlos A. Moreira-Filho*^{2,4}

*Centro de Pesquisas em Biotecnologia² e
Departamento de Microbiologia³ e*

*Imunologia⁴ do
Instituto de Ciências Biomédicas da USP*

Dentre os numerosos problemas que a sociedade brasileira necessita resolver com certa urgência, dois são de inegável importância numa perspectiva de desenvolvimento sustentável: a) como garantir a produção de alimentos em escala e custo que atendam à demanda interna e ao mercado internacional;

b) como preservar a biodiversidade nas diversas regiões do país.

Com relação ao primeiro problema, cabe destacar que o Brasil possui técnicos altamente qualificados na área de agronomia tropical, estando na linha de frente nessa área. Aqui merece destaque o trabalho científico e tecnológico de sucessivas gerações de ex-alunos das históricas Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz (ESALQ-USP) e da Universidade Federal de Viçosa, aliado ao pioneirismo dos institutos Agrônomo, em Campinas, e Biológico, em São Paulo. Essa base sólida serviu ao florescimento da Embrapa, a partir dos anos 70. Essa instituição, através de seus diversos centros especializados, tem ampliado continuamente a competência do país em agricultura tropical.

É importante que se evidencie que a sustentação da atividade agrícola em áreas tropicais e subtropicais é mais complicada que em áreas temperadas. Nestas, o inverno rigoroso determina o descanso do solo alguns meses por ano, preservando sua fertilidade. Nas outras, o solo é usado durante todo o ano, seja por atividade agrícola, seja pela vegetação natural ou ervas daninhas. Não havendo descanso anual, nossos solos são, de modo geral, pobres. A "vantagem relativa" de se poder usar o solo o ano todo para agricultura exige, por outro lado, a adoção de uma série de técnicas para sua preservação, incluindo o uso de fertilizantes, principalmente nitrogê-

nio. Há, assim, um custo associado ao uso permanente do solo. O esforço da tecnologia agrícola tropical centra-se em diminuir esse custo para maximizar os benefícios da utilização dos solos por maior extensão de tempo.

Nesta linha de ação, são notáveis os resultados obtidos pelo grupo liderado por Johanna Döbereiner na Embrapa, com bactérias fixadoras de nitrogênio (Biotecnologia C&D, Maio 97). Trata-se de uma das mais importantes realizações brasileiras do ponto de vista da ciência e tecnologia, com benefícios tanto econômicos como ecológicos. Bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) são conhecidas há cerca de um século. Döbereiner e seu grupo trabalham com elas há mais de quarenta anos. A aplicação dessas pesquisas na produção de soja - eliminando o consumo de fertilizantes nitrogenados nesta cultura - tornou as culturas brasileiras as mais racionais do mundo, quando se consideram os aspectos de redução de custos e preservação ambiental. As vantagens econômica e ecológica advêm da substituição do componente nitrogenado, que representa 70% da composição dos fertilizantes químicos e cuja produção, a partir do petróleo, é cara e poluente. Também poluente é a contaminação do lençol freático e dos rios com fertilizantes nitrogenados usados na agricultura comercial.

Os achados mais recentes do grupo de Döbereiner incluem não só as BFN de leguminosas, mas também novos tipos de BFN capazes de viver no interior de diversas plantas, em perfeita simbiose com elas. São as chamadas bactérias fixadoras de nitrogênio endofíticas (BFNE), que o grupo de Döbereiner já verificou existirem em cana-de-açúcar, cereais e gramíneas forrageiras (Biotecnologia C&D, Maio 97).

Seguindo os passos desse grupo, ini-

ciamos no Instituto de Ciências Biomédicas da USP, há cerca de dois anos, o estudo da existência de BFNE também em plantas ornamentais, além de outras espécies de campo e florestas. Nossos dados preliminares mostram que a maioria das plantas testadas pertence a diversas famílias relacionadas com BFN, muitas delas com fortes indícios de serem endofíticas.

Em nossas experiências retiramos amostras da planta - algumas folhas de aspecto normal - que são esterilizadas externamente com etanol e hipoclorito de sódio e, após trituração em salina estéril, semeadas em meio de cultura semi-sólido desprovido de compostos nitrogenados. Dos frascos onde se verifica crescimento de microrganismos, são feitas novas repicagens em meio seletivo sem nitrogênio; as colônias resultantes são testadas por cromatografia gasosa para avaliação da capacidade de fixar nitrogênio. Como já mencionado, a frequência de plantas que mostram associação com BFN é muito grande.

O nitrogênio é um dos quatro elementos mais abundantes na composição dos seres vivos: é essencial para a constituição química das proteínas, moléculas indispensáveis à vida. Os animais superiores recebem seu suprimento de nitrogênio para a manutenção orgânica através dos alimentos, produzidos direta ou indiretamente pelas plantas. Estas retiram-no do solo, onde existe sob a forma de compostos nitrogenados. Esses compostos têm três origens: a) são parte da composição do solo como fruto de sua evolução natural;

b) são gerados pela atividade de alguns microrganismos (dos quais as BFN são um exemplo);

c) são produto do uso de fertilizantes artificiais. No entanto, as plantas podem também obter nitrogênio diretamente do ar, através de seus simbiontes endofíticos



(as BFNE). Essa fonte, aparentemente alternativa, é aquela onde o nitrogênio é mais abundante na biosfera: 79% no ar contra vinte partes por milhão, em média, no solo e sete por milhão nos oceanos.

Segundo cálculos aproximados de J. Ishizuka (*Plant & Soil*, 141:197, 1992), a fixação biológica de nitrogênio é atualmente da ordem de 172 milhões de toneladas/ano, o que equivale a três vezes a quantidade desse elemento proveniente de fertilizantes artificiais. A estimativa de Ishizuka não discrimina a quantidade fixada pelas BFNE, as quais foram recentemente descobertas e sobre as quais ainda não existem informações a respeito. É importante lembrar que das quatro fontes de obtenção de nitrogênio por eucariotos, as duas relacionadas com as BFN (endofíticas e simbióticas em leguminosas) são, sem dúvida, as mais eficientes sob os pontos de vista econômico e ambiental.

A despeito dos numerosos trabalhos de alta qualidade científico-tecnológica sobre as BFN, parece-nos que, para as condições brasileiras, muito ainda resta a fazer. Não somente com relação às bactérias endofíticas, que são novidades de alto valor socioeconômico, mas também com relação às de vida livre no solo, ou às ligadas à vegetação em decomposição. O estudo desse conjunto de bactérias, associado a estudos de outros microrganismos a ele relacionados, é um poderoso recurso para a compreensão da origem e manutenção da biodiversidade tropical. Com efeito, um dos problemas intrigantes sobre a Amazônia é a existência de uma das maiores biodiversidades conhecidas em solos

reconhecidamente muito pobres. Acreditamos que na Amazônia temos uma evidência em favor da frase muito citada pelos microbiologistas: "without microorganisms all life on earth would cease". Em nossos experimentos pudemos mostrar, pela análise de folhas em decomposição, que dentre nove espécies de diferentes plantas de uma região da várzea amazônica - reserva de Mamirauá, Tefé, AM - todas continham bactérias fixadoras de nitrogênio em abundância. É claro que apenas a existência de BFN não explica a origem e manutenção da exuberância da flora amazônica. Mas, sem dúvida também, cremos poder afirmar que elas representam um importante elemento para a explicação desse fenômeno natural tão peculiar.

Em nossos experimentos para detecção de BFNE nos deparamos com outro interessante problema: as folhas vivas de diferentes plantas, quando trituradas e semeadas em meio de cultura semi-sólido sem nitrogênio, produzem películas compostas de bactérias. Ao se tentar purificar e isolar dessas películas as bactérias que realmente são BFNE, verificamos que convivendo com as fixadoras existem outras bactérias que não fixam nitrogênio. Essas bactérias devem conviver com as fixadoras no interior da planta, o que nos permite perguntar: são apenas comensais, ou parasitas, ou têm outro tipo de relação de interesse para a planta? Não temos ainda uma resposta, mas esse problema é de grande interesse e merece ser pesquisado em profundidade.

Projeções da ONU indicam que o Brasil terá, em meados do próximo século, cerca de 33 habitantes por km²,

contra 550 na Coréia, 300 no Japão e 37 nos EUA. Com essa densidade populacional e a extensão de terras agricultáveis que possui, o Brasil reúne as condições para ser um importante supridor de alimentos para o mundo, além de atender a sua demanda interna. Para transformar esse potencial em realidade, é importante avançar nas pesquisas sobre agricultura tropical. Já dispomos de recursos humanos qualificados, mas nos falta melhor infra-estrutura e apoio continuado ao desenvolvimento em C&T. Especificamente sobre a preservação e aproveitamento sustentável da biodiversidade, é estratégico iniciar-se urgentemente um programa vigoroso de pesquisa interdisciplinar na área de microrganismos, como demonstrado pelo caso das BFN. Tanto para o melhor aproveitamento agrícola das áreas tropicais, como para a preservação e uso sustentável da biodiversidade, o investimento em pesquisa, considerando-se a infra-estrutura e a capacitação já existentes, é sem dúvida muito pequeno em relação à importância do problema e ao retorno evidente que a sociedade brasileira terá, como comprovado pelo sucesso na produção de soja decorrente das pesquisas do grupo liderado por Johanna Döbereiner.

Fazem parte da equipe interdisciplinar que realiza os estudos aqui relatados: Heloisa R. Barbosa, Andrea B. Migliano, Erica Lui Reinhardt, Silvia Y. Bando, Cláudia M. Liba, Flavio Krzyzanowski Jr., do ICB-USP; Gilson Manfio, da Fundação Tropical de Pesquisa André Tosello; Marie Anne van Sluys, do Depto. de Botânica do IB-USP.