

Caracterização e diversidade fenotípica de isolados de bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio oriundos de solos sob cultivo de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Pólo de Produção Bom Jesus, PI

Linnajara de Vasconcelos Martins (bolsista do PIBIC/CNPq), Elaine Martins da Costa (bolsista do PIBIC/UFPI), Jéssika Martins Aquino (colaboradora e graduanda em Engenharia Agrônômica CPCE/UFPI); Júlio César Azevedo Nóbrega (Co-orientador, CPCE/UFPI), Rafaela Simão Abrahão Nóbrega (Orientadora, CPCE/UFPI)

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma das leguminosas graníferas mais extensamente adaptada, versátil e nutritiva. No Brasil, é cultivado, predominantemente, na região Nordeste, representando uma fonte alternativa de proteína. Uma das vantagens dessa cultura é a capacidade de realizar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN).

A FBN é mediada por ampla gama de microrganismos procariotos, incluindo cianobactérias, bactérias gram-positivas e gram-negativas que apresentam grande diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. Tal diversidade garante a ocorrência desse processo nos mais diferentes habitats terrestres. Contudo, apesar de sua grande importância na manutenção da biosfera, estima-se que menos de 1% dos microrganismos existentes no planeta tenham sido caracterizados e descritos (Moreira & Siqueira 2006).

A utilização de características culturais para identificação dos isolados apesar das sofisticadas técnicas moleculares, ainda é extremamente útil, principalmente em países que não possuem condições de utilizar tecnologias de alto custo (Nóbrega et al., 2004). Além disso, estudos bioquímicos e fisiológicos são básicos para detalhar a taxonomia polifásica dos isolados (Maatallah et al., 2002).

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar e avaliar a diversidade fenotípica de isolados de bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio oriundos de solos sob cultivo de feijão-caupi no Pólo de Produção Bom Jesus, PI.

METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado em áreas pertencentes ao Pólo de Produção da cultura do feijão-caupi Bom Jesus do Gurguéia localizado na região sul do Estado do Piauí. Nessa região, a produção de feijão-caupi ocorre em três ambientes distintos que foram selecionados para amostragem de solo: área sob irrigação (Perímetro Irrigado Alvorada do Gurguéia); área de baixões próximo ao Rio Gurguéia (vazantes) e área de chapada. Para cada um desses ambientes foram identificadas áreas tradicionais de cultivo de feijão-caupi, ou seja, com tempo de cultivo superior a três anos para avaliações microbiológicas dos solos.

Com o objetivo de avaliar a diversidade fenotípica de parte da população de BFN capaz de nodular o caupi presente nas amostras de solo das áreas consideradas, três nódulos foram escolhidos aleatoriamente no sistema radicular da planta-isca feijão-caupi.

Para a desinfestação superficial, os nódulos foram primeiramente imersos em álcool etílico 95%, em seguida em H₂O₂, por 1 minuto e, depois, lavados dez vezes com água destilada estéril. Posteriormente, foram macerados em placas contendo meio de cultura 79 (Fred & Waksman, 1928), sendo o material espalhado em forma de estrias compostas para a obtenção de colônias isoladas. Após a purificação os isolados foram transferidos para tubos com meio sólido 79 à 4 °C armazenados em tubos de cultura.

As características culturais avaliadas para cada isolado foram: taxa de crescimento medida pelo tempo de aparecimento de colônias isoladas (rápido - 2 a 3 dias; intermediário - 4 a 5 dias; lento - 6 a 10 dias; muito lento > 10 dias); diâmetro médio das colônias isoladas; modificação do pH do meio (acidificação, alcalinização e neutralização), conforme Moreira (1991) e ainda forma do bordo (circular, irregular; inteiro, ondulado), produção de muco (escasso, pouco, moderado, abundante), consistência (elástico, gomoso, butírico, aquoso) absorção de indicador, transmissão de luz (opaco, brilhante, translúcido) e coloração das colônias. Com exceção da característica tempo, em dias, para visualização das colônias, as demais foram avaliadas após 5, 8, 12 e 15 dias de aparecimento das colônias isoladas para, respectivamente, os isolados de crescimento rápido, intermediário, lento e muito lento.

Para a análise preliminar da diversidade das populações de BFN foi realizada uma comparação entre as diferentes áreas de cultivo baseando-se na seleção de duas características fenotípicas culturais principais para a separação dos isolados de BFN, que são a modificação do pH e o tempo de aparecimento de colônias isoladas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 251 isolados em cultura pura, sendo 105 nas áreas de chapada, 90 nas áreas de vazante e 56 nas áreas do perímetro irrigado. A análise preliminar das características culturais referentes ao tempo de aparecimento das colônias isoladas e modificação do pH foi realizada, pois é indicativa da presença de diferentes gêneros entre os grupos de isolados (Moreira, 1991). Dos 251 isolados de BFN obtidos, 141 apresentaram crescimento rápido, 68 intermediário, 42 lento e quanto à modificação do pH do meio de cultura 80 acidificaram, 78 alcalinizaram e 93 neutralizaram. Combinando as características de pH e tempo de aparecimento das colônias foram encontrados 9 tipos culturais principais nos diferentes sistemas de cultivo de feijão-caupi no Pólo de produção Bom Jesus (Figuras 1 a, b e c).

Estes grupos foram divididos em crescimento rápido e com capacidade de acidificar o meio (65 isolados); crescimento rápido e que não alterando o pH do meio (21 isolados); crescimento rápido com capacidade de alcalinizar o meio (55 isolados); crescimento intermediário com capacidade acidificar o meio (11 isolados); crescimento intermediário que não alteram o pH do meio (46 isolados);

crescimento intermediário que alcalinizam o meio (11 isolados); crescimento lento que acidificam o meio (4 isolados); crescimento lento que não alteram o pH do meio (26 isolados); crescimento lento que alcalinizam o meio (12 isolados).

CONCLUSÕES

Pôde-se observar uma grande diversidade baseada nas análises características culturais. Essa diversidade indica a resiliência das bactérias as modificações implementadas pelos diferentes sistemas de plantio do feijão-caupi.

REFERÊNCIAS

FRED, E.B. & WAKSMAN, S.A. Laboratory manual of general microbiology. New York, McGraw-Hill Book Company, 1928. 143p.

MAÂTALLAH, J.; BERRAHO, E.B.; SANJUAN, J.; LLUCH, C. Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum*) growing in Moroccan soils. *Agronomie*, 22:321-329, 2002.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2ª ed. 2006. 625p.

MOREIRA, F. M. S. Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica. 1991. 152 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.

NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; LIMA, A.S. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. *R. Bras. Ci. Solo*, 28:269-279, 2004.

Palavras-chave: fixação biológica do nitrogênio; *Vigna unguiculata*, caracterização cultural.

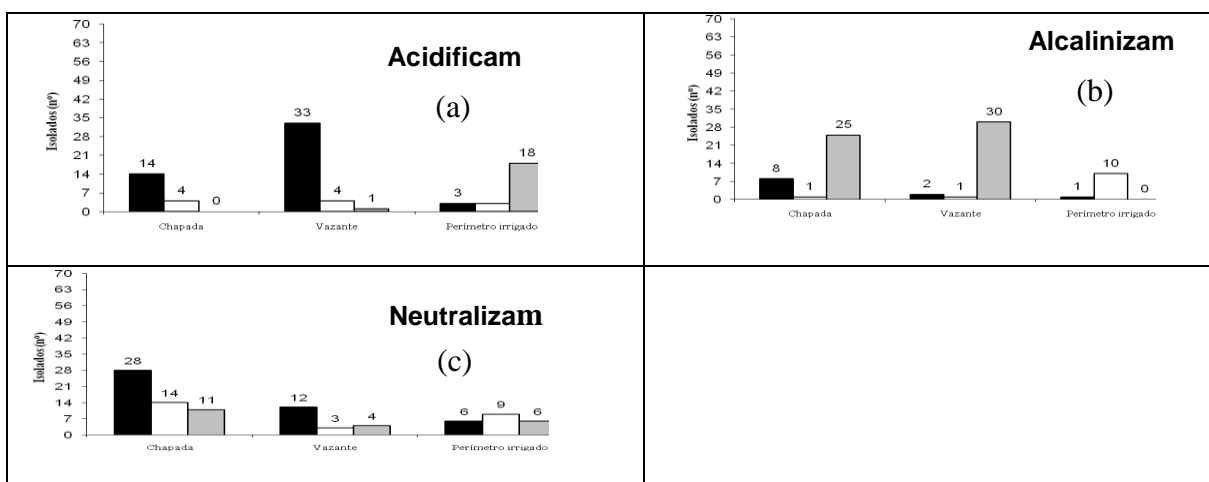


Figura 1. Distribuição dos isolados de bactérias que nodulam feijão-caupi, oriundas de diferentes sistemas de cultivo de feijão-caupi no Pólo de produção Bom Jesus, PI, em doze tipos culturais baseados na alteração dos pH do meio de cultura e no tempo de aparecimento de colônias isoladas (■) crescimento intermediário; (■) crescimento lento; (□) crescimento rápido.