

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS PRESENTES EM NÓDULOS DE RAÍZES DE FEIJÃO CAUPI SUBMETIDO A DIFERENTES LÂMINAS DE IRRIGAÇÃO⁽¹⁾

Tainá Santos Dourado Ferreira⁽²⁾, Layane Silva Barbosa de Souza⁽²⁾; Carlos Antonio da Costa de Aguiar⁽³⁾; Xênia Bastos de Oliveira⁽³⁾; Adriana Bezerra dos Santos⁽³⁾; Lindete Míria Vieira Martins⁽⁴⁾.

(1) Trabalho executado com recursos da CAPES e DTCS-UNEB – Campus III Juazeiro-BA.

(2) Bióloga, aluna do curso de pós-graduação em Agronomia, área de concentração Horticultura Irrigada, DTCS/UNEB, Juazeiro, BA; (3) Graduando em Engenharia Agrônômica, DTCS/UNEB, Juazeiro, BA; (4) Professora Titular DTCS/UNEB, Juazeiro, BA.

RESUMO:

O objetivo deste trabalho foi verificar se a condição de diferenciação de oferta de água da irrigação promove a diversidade de características culturais de bactérias isoladas de nódulos de raízes de feijão-caupi. Para isso foi instalado um experimento em casa de vegetação do DTCS/UNEB, em Juazeiro-BA. As plantas foram submetidas a cinco lâminas de água aplicadas através da irrigação e, calculadas, com base em frações da evapotranspiração da cultura (ET_c) (25%, 50%, 75%, 100% e 125%). Aos 55 dias após o plantio, os nódulos foram coletados e as bactérias isoladas e analisadas quanto às características culturais em meio YMA. Do total de 250 isolados obtidos, 50 de cada lâmina de irrigação, as características predominantes foram rápido crescimento, manutenção do pH do meio neutro, cor da colônia branca e o tipo de muco viscoso, não se observando influência das lâminas para a diversidade de características observadas.

Palavras-chave: Diversidade, Diazotróficas, Semiárido.

INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura tradicionalmente cultivada na região Norte e Nordeste, principalmente na agricultura de subsistência. A restrição hídrica e a

disponibilidade de nitrogênio na região semiárida se destacam como os fatores que mais limitam a produtividade agrícola dessa região. O feijão-caupi é uma leguminosa capaz obter quantidades significativas de nitrogênio suprida através da fixação biológica realizada por bactérias simbióticas, conhecidas como rizóbios.

A população microbiana que habita os solos dessa região desempenham funções para a manutenção dos sistemas ecológicos e são capazes de desenvolver estratégias de sobrevivência diante de condições de estresses, sendo as bactérias as principais representantes (Silva et al., 2010). Fatores ambientais como a seca ou o excesso de água no solo podem influenciar o processo de Fixação biológica de nitrogênio. A seca por exemplo pode acelerar a senescência do nódulo e o excesso de água no solo pode interromper as trocas de oxigênio da bactéria, que resulta na interrupção do processo (Moreira e Siqueira 2006; Esfahani e Mostajeran 2011).

A caracterização fenotípica tem sido o primeiro método utilizado para uma classificação preliminar de estirpes desconhecidas (Wolde-Meskel et al., 2004). Esse estudo envolve diversas avaliações culturais e morfológicas, contribuindo para sua identificação e indicando o potencial desses isolados. O estudo da diversidade desses micro-organismos que nodulam o feijão-caupi, submetidos a diferentes lâminas de irrigação, podem revelar

informações importantes que possa possibilitar associações de adaptações às condições hídricas da região. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi verificar se a condição de diferenciação de oferta de água da irrigação promove a diversidade de características culturais de bactérias isoladas de nódulos de raízes de feijão-caupi.

MATERIAIS E MÉTODOS:

Utilizou-se o feijão-caupi, cultivar BRS-Pujante submetido a diferentes lâminas de irrigação, a saber: 25%, 50%, 75%, 100%, e 125% da evapotranspiração da cultura. Para o isolamento, 10 nódulos foram coletados das raízes de cada planta. Inicialmente, os nódulos foram reidratados por 40 minutos em ADE, e desinfestados superficialmente em álcool etílico 70% por 30 segundos e posteriormente em hipoclorito de sódio P.A. a 5% por 7 minutos, seguido de oito lavagens em ADE (Vincent, 1970). Após a desinfestação, com o auxílio de uma pinça, os nódulos foram macerados sobre placas de Petri contendo meio de cultura YMA com adição de vermelho Congo (Vincent, 1970) como indicador, sendo posteriormente incubadas em estufa tipo BOD a 28°C. Após o crescimento, as bactérias foram repicadas para placas de Petri contendo meio YMA com azul de bromotimol como indicador, sucessivas vezes até a purificação. Com as culturas puras foi realizada a caracterização cultural dos isolados avaliando a alteração do pH (ácido, neutro ou alcalino), tempo de crescimento das colônias (rápida: até 3 dias; intermediária: 4 a 5 dias e lenta: acima de 6 dias), cor da colônia (amarela, branca ou creme) e tipo de muco produzido ou não pelo isolado (colônias secas, viscosas ou floculosas).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diversidade de características culturais dos isolados de nódulos de raízes de feijão-caupi em relação às diferentes ofertas de água pelas lâminas de irrigação. Características como crescimento rápido, manutenção do pH

neutro do meio de cultura, cor das colônias brancas e muco do tipo viscoso predominaram, conforme Tabela 1.

Diversos fatores contribuem para alterações das comunidades bacterianas do solo, entre eles o regime hídrico, por outro lado bactérias do grupo dos rizóbios são bem adaptadas às condições de estresse hídrico do semiárido brasileiro. A característica de hábito de crescimento rápido é comumente relatado, a exemplo de Leite et al. (2009), quando verificaram essa característica em cerca de 60% dos isolados oriundos de nódulos de feijão-caupi. Gehlot et al. (2012) estudando nódulos de leguminosas em regiões semiáridas do deserto da Índia verificaram, também, predominância de isolados de crescimento rápido. Sprent (1994), diz que rizóbios de crescimento rápido são comuns nas regiões áridas e semi-áridas, constituindo esta característica uma estratégia de sobrevivência a estas condições, já que são mais tolerantes à seca que os de crescimento lento e se multiplicam rapidamente em curto espaço de tempo. Por outro lado, Kavamura et al., (2013) encontrou grande concentração de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, com hábito de crescimento lento associadas à rizosfera de cactáceas na Caatinga, vegetação típica do semiárido brasileiro. Neste estudo, a população de *Bradyrhizobium* aumentou durante o período de seca, tanto no solo como na rizosfera,

A produção de muco é uma característica da maioria das bactérias de crescimento rápido e geralmente do tipo viscoso, Coutinho et al. (1999) relaciona essa característica ao mecanismo importante de resistência e adaptação dos isolados às condições adversas do solo e do clima.

As características de rápido crescimento, reação ácida do meio de cultura e produção de muco, vêm sendo descritas como mecanismos envolvidos no processo de adaptação e sobrevivência dos rizóbios de regiões tropicais, submetidos a características de elevadas temperaturas, seca e, também, teores altos de sais (SILVA et al., 2007; SANTOS et al., 2007).

Tabela 1: Características culturais de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) cultivado em diferentes lâminas de irrigação. Unidade de isolados em números.

Lâminas	Características fenotípicas											
	Tempo de crescimento			PH			Cor			Tipo de muco		
	Rápido	Lento	Intermediário	Neutro	Ácido	Alcalino	Branca	Amarela	Creme	Viscoso	Floculoso	Seco
25%	34	9	7	26	9	15	23	12	15	38	7	5
50%	36	8	6	29	12	9	27	10	13	36	5	9
75%	27	8	15	24	13	13	29	10	11	35	7	8
100%	33	3	11	21	19	7	25	6	18	45	4	1
125%	37	7	6	32	12	6	29	14	7	41	2	7

CONCLUSÃO:

A diferença de oferta de água ao feijão-caupi pelas lâminas de irrigação mostrou predominância de bactérias de rápido crescimento, manutenção do pH neutro do meio de cultura e produção de muco viscoso.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão de bolsas para as duas primeiras autoras e o DTCS/UNEB pela infraestrutura.

REFERENCIAS

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M.; LOVATO, A.; MAIA, A. H. N.; MANFIO, G. P. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, v. 13, n. 2, p. 159-167, 1999.

GEHLOT, H. S.; PANWAR, D.; TAK, N.; TAK, A.; SANKHLA, I. S.; POONAR, N.; PARIHAR, R.; SHEKHAWAT, N. S.; KUMAR, M.; TIWARI, R.; ARDLEY, J.; JAMES, E. K.; SPRENT, J. I. 2012.

Nodulation of legumes from the Thar desert of India and molecular characterization of their rhizobia. **Plant and Soil**, 357: 227 – 243

LEITE, J.; SEIDO, S. L.; PASSOS, S. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V. 2009. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soil of the lower half of the São Francisco River Valley. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33: 1215-1226

MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. 1997. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the

north-east region on Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 1005-1010.

MEDEIROS, E. V.; MARTINS, C. M.; LIMA, J. A. M. L.; FERNANDES, Y. T. D.; OLIVEIRA, V. R.; BORGES, W. L. B. 2009. Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, 2009 v. 31, n. 3, p. 529-535.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. 2006. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. (2.ed). Lavras: UFLA, 729p.

KAVAMURA, VANESSA, N.; Taketani, R. G.; LANÇONI, M. D.; Andreote, F. D.; MENDES, R.; DE MELO, ITAMAR, S. Water Regime Influences Bulk Soil and Rhizosphere of *Cereus jamacaru* Bacterial Communities in the **Brazilian Caatinga Biome**. **Plos One**, v. 8, p. 73606-73616, 2013.

SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G.; BORGES, W.L.; BEZERRA, R.V.; FREITAS, A.D.S. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 2: 249-256. 2007.

SILVA, V. N.; SILVA, L. E. de S. F.; FIGUEIREDO, M. do V. B.; CARVALHO, F. G.; SILVA, M. L. R. B.; SILVA, A. J. N.. 2007. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semi-

árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 37: 16-21.

SILVA, P. C. G.; MOURA, M. S. B.; KILL, L. H. P.; BRITO, L. T. L.; PEREIRA, L. A.; SA, I. B.; CORREIA, R. C.; TEIXEIRA, A. H. de C.; CUNHA, T. J. F.; GUIMARÃES FILHO, C. 2010. Caracterização do Semiárido brasileiro: fatores naturais e humanos. In: SÁ, I. B.; SILVA, P. C. G. (Ed.). **Semiárido brasileiro: pesquisa, desenvolvimento e inovação**. Petrolina: Embrapa Semiárido, cap. 1, p. 18-48.

SPRENT, J. I. Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis: chaos-theory, **Plant Soil**, 161:1-10, 1994

VINCENT, J. M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. Oxford, **Blackwell Scientific Publications**. 164p. (IBP Handbook, 15).

WOLDE-MESKEL, E.; BERG, T.; PETERS, N. K.; Frostegård, Å. 2004. Nodulation status of native woody legumes and phenotypic characteristics of associated rhizobia in soils of southern Ethiopia. **Biology and Fertility of Soils**, 40: 55-66.