

## Tolerância de isolados rizobianos originários do semiárido nordestino a condições de pH e Alumínio *in vitro*<sup>(1)</sup>.

João Paulo Campos Moura Cavalcante<sup>(2)</sup>; Luciana Remigio Santos Nascimento<sup>(3)</sup>; Mario de Andrade Lira Junior<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPQ

<sup>(2)</sup> Graduando em Ciências Biológicas; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife, Pernambuco; [joaopcmcavalcante@gmail.com](mailto:joaopcmcavalcante@gmail.com); <sup>(3)</sup> Doutora em Ciência do solo, Pós-doutoranda, Universidade Federal Rural de Pernambuco; <sup>(4)</sup> Professor Associado, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

**RESUMO:** Distintas condições de pH e a presença de alumínio nos solos do semiárido podem afetar a simbiose entre leguminosa e micro-organismo. Neste estudo foram utilizados 21 isolados rizobianos para feijão-caupi, com origem em 7 grupos de solos distintos do semiárido pernambucano. Os isolados foram crescidos em meio YM a 120 rpm. Com o crescimento, os mesmos, foram submetidos pelo método da gota a placas de petri com meio YMA ajustado para condições de pH de 4 a 9, e presença de alumínio entre 0 e 2 cmol/l. Após 5 dias, foi verificada a tolerância a partir de análise qualitativa do crescimento em placa. Em 94,5%, dos ensaios os isolados mostraram tolerância a distintas condições de pH e em apenas um ensaio houve sensibilidade a condição de 2 cmol/l. O resultado do teste Qui-quadrado revelou que não houve influência do solo de origem do isolado na tolerância a distintas faixas de pH e alumínio.

**Termos de indexação:** Fixação Biológica de Nitrogênio; estresse ambiental; Leguminosa;

### INTRODUÇÃO

O crescimento microbiano, que é a multiplicação no número de células procaríotas, necessita que diversas condições ambientais estejam numa faixa aceitável. Temperatura, salinidade, presença de nutrientes e íons são alguns dos fatores que podem influenciar a multiplicação celular para procaríotes. (Tortora et al, 2012)

O pH, por exemplo, é um conhecido fator que afeta o tamanho das populações microbianas, que se reduzido, altera a disponibilidade de determinados nutrientes, diminuindo fósforo, cálcio e magnésio, e aumentando alumínio e manganês para valores excessivos (Pinheiro et al, 2014).

Característica recorrente do semiárido nordestino, a acidez do solo e o consequente aumento da quantidade de alumínio podem prejudicar a associação entre leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio, através da diminuição do crescimento radicular, e a absorção de nutrientes e água para a planta e o simbiote,

afetando o aporte de nitrogênio, proveniente da fixação biológica (Figueiredo *et al*, 2007).

Assim, avaliar *in vitro* a tolerância ao estresse do pH e o alumínio associado ao pH ácido, é importante para a compreensão do processo de fixação biológica do nitrogênio em áreas, como o semiárido nordestino, que apresentem solos com acidez elevada.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a tolerância de isolados rizobianos, do semiárido pernambucano, a distintas condições de pH, acidez e alumínio e a influência do solo de origem do isolado na tolerância aos estresses ambientais.

### MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram selecionados 21 isolados (Tabela 1) rizobianos obtidos por Lira (2014), com origem nos seguintes grupos de solos do semiárido pernambucano, a saber: Neossolo Litolico, Argissolo Vermelho amarelo, Planossolo, Latossolo amarelo, Neossolo quartizarênico, Neossolo regolítico. Inicialmente os isolados rizobianos, foram repicados em placas de petri pelo método de estrias por esgotamento e em seguida envoltos em plástico PVC e encubados em BOD a 28°C.

Com o crescimento, os micro-organismos foram repicados em erlenmeyers com 50 mL de meio YM e em seguida levados a mesa agitadora a 120 RPM por 5 dias. Como medida de verificação do crescimento foi utilizada a observação da turbidez do meio.

Foi avaliada a resistência destes isolados rizobianos quanto a acidez, acidez e alumínio e a salinidade pelo método da gota -Drop plate-, sendo a placa dividida em 8 partes e em cada um destas foi depositado 7 uL do meio com o microorganismo já crescido. Para a avaliação do pH, foram utilizadas placas de petri com meio YMA ajustado na faixa de pH de 4 a 9 (Oliveira *et al*, 2014).

Já para a avaliação da acidez e alumínio, foi realizada avaliação *in vitro* em placas de petri com meio YMA contendo  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ , como fonte de alumínio, nas concentrações de 0,5; 1; e 2 cmol de Al/l (Oliveira *et al*, 2014) e pH ajustado a 5.

A Tolerância, aos distintos fatores foi avaliada qualitativamente pelo crescimento em placa após cinco dias do processo de repicagem.

#### Análise estatística

A partir dos resultados obtidos, foi realizado teste do qui-quadrado para a avaliação da influência da origem sobre a tolerância do micro-organismo ao estresse ambiental pelo pH e Alumínio.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 94,5 % dos ensaios para a faixa de pH avaliada, houve crescimento (Tabela 1). A resistência à acidez *em vitro* de isolados rizobianos concorda com o trabalho de Pinheiro *et al* (2014), que estudando isolados rizobianos para Feijão Caupi do semiárido do Rio Grande do Norte verificou que em sua maioria (75%) cresceram em pH 4 e 71% em pH 10, já Soares *et al* (2014) verificou que além do crescimento em condições ácidas (pH 5), isolados de caupi apresentaram mais de  $10^9$  UFC/ml indicando uma ótima capacidade para tolerar condições de stress ambiental.

A tolerância a faixa de pH ácida pode ser justificada pelo fenômeno conhecido como *acid habituation* (Moreira e Siqueira, 2006), já que os distintos solos do semiárido nordestino usados nesse estudo tem média de pH 6,44, com os solos apresentando mínimos de pH 4. Deste modo, pode-se deduzir que o ambiente ácido pode ter selecionado isolados capazes de tolerar esse fator de estresse.

Quanto a tolerância ao alumínio e a acidez (pH 5) combinadas, apenas em um ensaio um isolado foi sensível a concentração de 2 cmol de Al/L (Tabela 2). Assim pode-se afirmar que os isolados foram resistentes a acidez e ao alumínio combinados em uma taxa de tolerância semelhante a encontrada por Chagas Júnior *et al* (2010) estudando isolados de Caupi de solos da Amazonia (87%).

A avaliação sobre a influência da origem do isolado sobre a tolerância ao pH e ao alumínio, mostrou que não houve relação, entre o solo de origem do isolado e a condição apresentada no teste.

### CONCLUSÕES

Os isolados rizobianos utilizados nesse estudo apresentaram tolerância a todas as faixas de pH e alumínio aos quais foram submetidos.

O solo de origem do isolado não influenciou, neste caso, a capacidade de tolerar estresses ambientais de pH e alumínio.

### AGRADECIMENTOS

Ao Cnpq pelo auxílio financeiro e bolsa dos autores.

### REFERÊNCIAS

- CHAGAS JUNIOR, A.F.; OLIVEIRA, L.A.; OLIVEIRA, A.N. Caracterização fenotípica de rizóbios nativos isolados de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão caupi. *Acta Scientiarum Agronomy*, p.161-169, 2010.
- FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S. Microorganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura. Guaíba: Agrolivro, 2008. 568 p.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo – 2 ed. Atual. Ampl. – Lavras: editora UFLA, 2006. 729 p.
- OLIVEIRA, C.S.; LIRA JUNIOR, M.A.; STAMFORD, N.P.; KULINSKY-SOBRAL, J.; MOREIRA, F.M.S. Exopolysaccharids and abiotic stress tolerance in bacterial isolates from sabiá nodules. *Revista Caatinga*, p 240-245, 2014.
- PINHEIRO, M.S.; SOUZA, J. B.; BERTINI, C.H.C.M.; MARTINS, S.C.S.; MARTINS, C.M. Isolamento e seleção de estirpes de rizóbios nativas do semiárido tolerantes a estresses ambientais. *Revista Enciclopédia Biosfera*, 271:283, 2014.
- SOARES, B.L.; FERREIRA, P.A.A.; OLIVEIRA-LONGATTI, S.M., MARRA, L.M.; RUFINI, M.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, M.F.S. Cowpea symbiotic efficiency, pH and aluminum tolerance in nitrogen-fixing bacteria. *Scientia agrícola*, p 171-180, 2014.
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L.; *Microbiologia – Porto Alegre: Artmed, 2012.*

Tabela 1- Isolados rizobianos, suas distintas origens e resultado do teste de tolerância a faixa de pH de 4 a 9, com os diferentes ensaios e repetições.

Solo de Origem	Isolado	pH																	
		-----7-----			-----4-----			-----5-----			-----6-----			-----8-----			-----9-----		
		R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Planossolo	G11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Planossolo	G78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Planossolo	G729	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G194	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G196	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G152	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G190	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G764	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G7112	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G1118	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G155	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G137	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G715	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G757	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G761	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G73	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G723	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G737	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G726	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G745	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G777	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: (+) isolado resistente; (-) isolado sensível; R1, R2, R3 - repetições

Tabela 2 - Teste de resistência a diferentes concentrações de alumínio.

Solo de Origem	Isolado	cmol <sub>c</sub> de Al											
		-----0,5-----			-----1-----			-----2-----			-----0-----		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Planossolo	G11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Planossolo	G78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Planossolo	G729	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G194	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G196	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo Litólico	G152	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G190	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G764	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argissolo Vermelho amarelo	G7112	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G1118	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G155	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Luvissole	G137	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G715	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G757	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Latossolo	G761	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G73	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G723	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo quartzarênico	G737	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G745	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G726	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Neossolo regolítico	G777	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: (+) isolado resistente; (-) isolado sensível; R1, R2, R3 - repetições