

Isolamento e caracterização de colônias de rizóbio em nódulos de leguminosas na Borda Oeste do Pantanal: resultados preliminares

Isolation and characterization of Rhizobium colonies from leguminosae nodules in West Border of Pantanal: preliminary results

COSTA, Fádhua de Moura, Acadêmica de Biologia da UFMS, estagiária da Embrapa Pantanal, fadhuacosta@hotmail.com; FIDELYS, Zoy, Acadêmico da UFMS, estagiário da Embrapa Pantanal; MARTINS, Roberta Feitosa, Acadêmica da UFMS, estagiário da Embrapa Pantanal; BRASIL, SILVA, Marivaine da, professora da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; FEIDEN, Alberto, pesquisador da Embrapa Pantanal.

Resumo: Objetivou-se neste trabalho isolar e caracterizar morfologicamente bactérias nativas nodulíferas de crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão de porco (*Canavalia ensiformes*), guandu (*Cajanus cajan*) e mucuna cinza (*Mucuna pruriens*), provenientes de dois assentamentos com características pedológicas distintas (Mato Grande e Taquaral) em Corumbá, MS. Os nódulos foram coletados de três plantas de cada espécie, obtendo-se 59 nódulos no Assentamento Taquaral e 115 no Mato Grande, sendo isoladas respectivamente 52 e 78 estirpes. Nas colônias avaliou-se: forma da colônia, cromogênese, consistência e capacidade de acidificação. Houve maior variabilidade morfológica para o guandu no Assentamento Taquaral, e para a mucuna cinza no Mato Grande. Dos isolados, cerca de 25% (Mato Grande) e 50% (Taquaral) das colônias apresentaram capacidade de acidificação do meio.

Palavra-chave: *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformes*, *Crotalaria juncea*, *Mucuna pruriens*, fixação biológica de nitrogênio.

Abstract: This work has the aim of isolate and characterizes morphologically native bacteria from the green manures *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformes*, *Cajanus cajan* and *Mucuna pruriens* from two land reform settlements in Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brazil (Mato Grande and Taquaral), with different soil characteristics. The nodules were collected from three plants of each specie, where obtained 59 nodules in Taquaral and in Mato Grande and from them where isolated respectively 52 and 78 strains. From each strain colony there where evaluated the characteristics: colony form; color forming, consistency and acidifying capacity. The strains isolated from *Cajanus cajan* in Taquaral and *Mucuna pruriens* in Mato Grande had the greatest morphological variability. The capacity of acidifying the media was showed by 25% of the strains in Mato Grande 25% against 50% in Taquaral.

Key-words: *Cajanus cajan*, *Canavalia ensiformes*, *Crotalaria juncea*, *Mucuna pruriens*, biological nitrogen fixation.

Introdução

As espécies de leguminosas utilizadas como adubo verde, destacam-se por proporcionarem diversas vantagens ao sistema solo-planta. Dentre elas, melhorar características físico-químicas do solo, possibilitar maior produtividade em menor período de tempo, e ser capaz de formar associação simbiótica com bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico, chamadas genericamente de rizóbio. O cultivo com leguminosas é uma das formas mais eficientes de incorporar nitrogênio ao solo de maneira sustentável e economicamente viável, principalmente em sistemas agroecológicos (ESPINDOLA et al., 2005). O levantamento contínuo deste grupo de

bactérias em diferentes plantas hospedeiras visa à seleção de associações mais eficientes e adaptáveis a situações específicas para fins de recomendação biotecnológicos, ampliando a contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) nos sistemas agrícolas (BRATTI et al., 2005).

Na Borda Oeste do Pantanal estão sendo avaliadas as espécies de adubos verdes *Crotalaria juncea* (crotalária), *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco), *Cajanus cajan* (guandu) e *Mucuna pruriens* (mucuna cinza), com o objetivo de suprir a lacuna de conhecimentos sobre estas espécies na região. Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo o isolamento e caracterização morfológica de colônias de bactérias capazes de nodular leguminosas de adubo verde na Borda Oeste do Pantanal.

Material e Métodos

O estudo foi de caráter descritivo, sem teste de hipótese, procurando identificar as diferentes estirpes nativas em cada situação, sem comparação estatística. Foram delimitados dois assentamentos com características pedológicas distintas: Taquaral (Chernossolo) com boa fertilidade química, porém compacto, raso e com água salobra e escassa, e Mato Grande (Argissolo) com boa fertilidade natural, e melhor disponibilidade de água. O plantio foi feito em parcelas de 8 x 4 m em março de 2008.

Amostraram-se três plantas de cada parcela, cujos nódulos foram coletados aos 48 e aos 54 dias nos Assentamentos Taquaral e Mato Grande, respectivamente. Para a coleta dos nódulos foi feito um círculo de aproximadamente 15 cm em volta da planta a uma profundidade cavada de 30 cm. Foram utilizadas três peneiras de diâmetro de malha diferente para separar o solo, para garantir a recuperação do maior número possível de nódulos conforme Hungria (1994).

Dois nódulos por planta foram armazenados em frascos hermeticamente fechados com sílica gel e algodão até o isolamento das bactérias. O isolamento foi feito de acordo com a metodologia seguida por Hungria (1994), utilizando-se meio Yeast Mannitol Agar (YMA) em placas incubadas em estufa a 30°C. Para a verificação da capacidade de acidificar o meio foi usado o azul de bromotimol como indicador.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostram um maior número de nódulos coletados nas plantas cultivadas no Assentamento Mato Grande, destacando-se o guandu. Segundo Moreira e Siqueira (2002) a capacidade de formar nódulos no solo depende de fatores genéticos inerentes aos simbiontes e da interação com fatores edafoclimáticos, isso pode explicar os resultados encontrados para o número de nódulos e de isolados, nas diferentes plantas entre os assentamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Número de nódulos e isolados bacterianos obtidos a partir de leguminosa cultivadas em dois assentamentos de Corumbá, MS.

Plantas	Nº de nódulos		Nº de isolados		Nº de colônias com capacidade de acidificação	
	Mato Grande	Taquaral	Mato Grande	Taquaral	Mato Grande	Taquaral
Crotalária	21	7	16	14	5	4
Feijão-de-porco	38	5	13	13	3	12
Guandu	39	35	39	14	7	9
Mucuna cinza	17	12	10	11	5	1
Totais	115	59	78	52	20	26

Apesar do guandu apresentar um maior número de isolados no Mato Grande constatou-se no Assentamento Taquaral características mais variáveis entre as colônias obtidas a partir desta leguminosa. Já a mucuna cinza e o feijão de porco variaram em proporções semelhantes em ambos os assentamentos, quanto às características estudadas (Figura 1A).

Observa-se no Assentamento Mato Grande (Figura 1B), maior variabilidade morfológica de colônias de *Rhizobium spp.* na mucuna cinza, seguida pelo guandu. A crotalária foi a que menos variou em ambos os assentamentos. Quanto à capacidade de acidificação do meio, 20 estirpes isoladas do Assentamento Mato Grande e 26 do Taquaral foram capazes de acidificar. Esse número equivale à cerca de 25% e 50% respectivamente (Tabela 1). Essa diversidade morfológica também foi verificada por Martins et al. (1997), estudando as características de 27 isolados de rizóbios de raiz e caule de *Discolobium sp.* espécie nativa do Pantanal Mato-Grossense. Martins et al. (2001) observaram uma distinção dos isolados quanto às características de crescimento e reação ao pH.

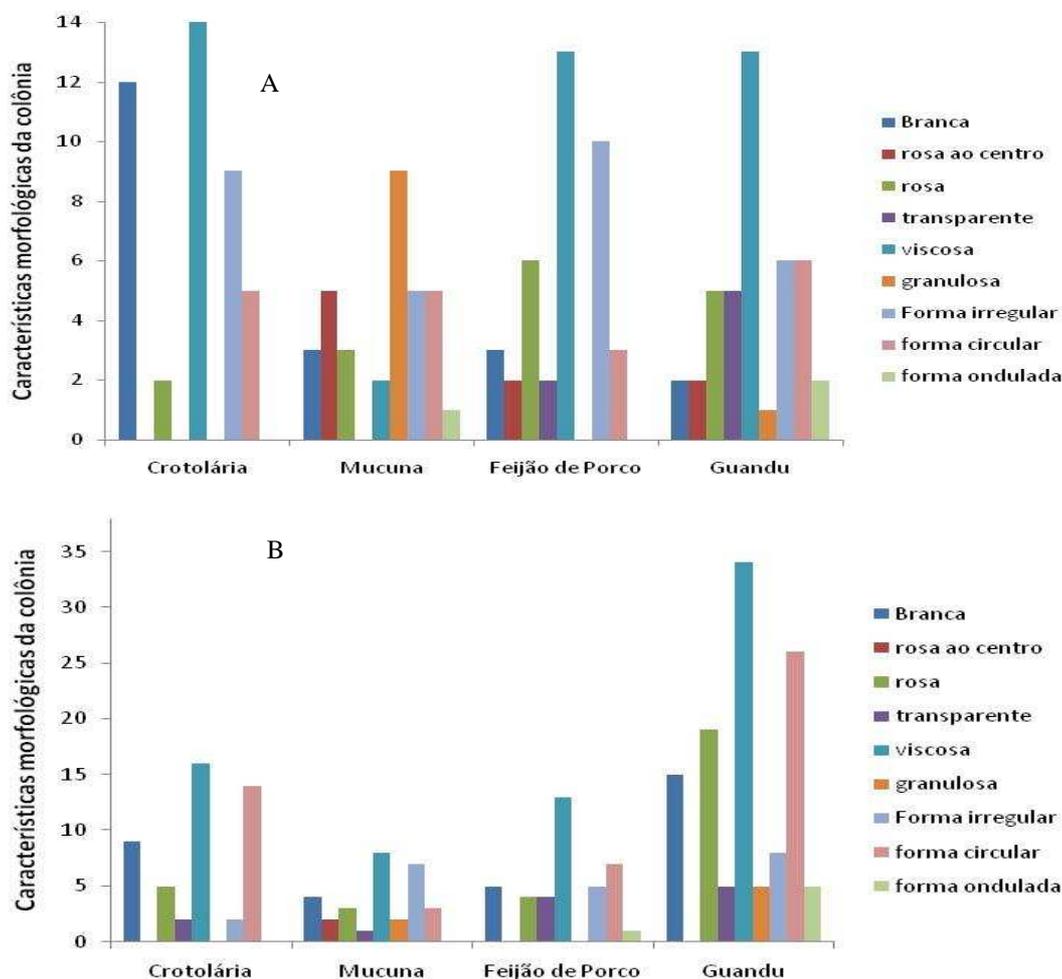


Figura 1. Características morfológicas de rizóbios isolados de crotalária, mucuna cinza, feijão-de-porco e guandu, em dois assentamentos rurais: Taquaral (A) e Mato Grande (B).

Considerações finais

Apesar dos estudos estarem apenas no início a variabilidade de estirpes encontradas nas condições edafoclimáticas do estudo, mostra que há um grande potencial para se encontrar e selecionar novas estirpes adaptadas a condições de estresse locais, as quais poderão contribuir para o desenvolvimento da agricultura de base ecológica nos assentamentos da borda Oeste do Pantanal.

Referências

BRATTI, A. E. et al. **Levantamento de rizóbios em adubos verdes cultivados em Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 14 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 204). Disponível em: <<http://www.cnpab.embrapa.br/servicos/download/doc204.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2008.

ESPINDOLA, J. A. A. et al. **Adubação verde com leguminosas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 49 p. (Coleção saber, 5).

HUNGRIA, M. Coleta de nódulos e isolamento de rizóbio. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA-CNPAP, 1994. p. 45-61. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 46).

MARTINS, C. M. et al. Caracterização morfológica e avaliação da tolerância em níveis crescentes de NaCl e altas temperaturas de isolados de rizóbio de nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp. nativas do Pantanal Mato- Grossense. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 3, p. 7-14, 1997.

MARTINS, C. M. et al. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio de isolados de nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 5, p. 67-79, 2001.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.