

Isolamento e caracterização de rizóbios com potencial para fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro

Letícia Fernandes da Cunha¹, Lorena Dornel de Faria², Márcio Vinícius de C. Barros Côrtes³, Elder Tadeu Barbosa⁴, Enderson Petrônio de Brito Ferreira⁵

Os rizóbios constituem um grupo de bactérias que conseguem se associar a leguminosas, estabelecendo uma associação simbiótica onde a planta fornece nutrientes para o microrganismo e em troca recebe nitrogênio fixado. O processo de fixação biológica de nitrogênio se mostra uma alternativa importante do ponto de vista econômico e ecológico, pois além de ter um custo mais baixo, pode dispensar total ou parcialmente o uso de fertilizantes nitrogenados. A caracterização morfológica de colônias de rizóbios é importante para selecionar populações microbianas realmente viáveis. Na seleção de estirpes de rizóbios eficientes, várias etapas são necessárias, como o isolamento das bactérias, a purificação das colônias, a avaliação e caracterização destas bactérias e a verificação da capacidade de nodulação. O trabalho tem como objetivo isolar e caracterizar morfológicamente estirpes de rizóbios com potencial para fixação biológica de nitrogênio. O trabalho vem sendo realizado no Laboratório de Microbiologia Agrícola da Embrapa Arroz e Feijão de dezembro de 2014 até o momento, seis variedades de feijão (Aporé, Pérola, Ouro Negro, Grafite, Agreste e Corrente) foram plantados em amostras de solos coletados em cinco estados: Goiás, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Realizou-se 20 coletas, 3 por semana, realizando a coleta de nódulos de 6 plantas de diferentes origens. Em laboratório, foram selecionados 5 nódulos ativos (de maior espessura e com coloração rósea-avermelhada) de cada uma das plantas amostradas diariamente. Os nódulos coletados foram submersos em álcool 70% por 30 segundos, e posteriormente transferidos para solução de hipoclorito de sódio por 5 minutos, para desinfestação. Após esse processo, lavou-se os nódulos em água destilada e esterilizada. Após isso, os nódulos foram triturados manualmente e o seu conteúdo estriado isoladamente em placas de Petri contendo meio de cultura sólido "Yeast Mannitol Ágar" (YMA), pH 6,8 com indicador azul de bromotimol. As placas foram incubadas à 28 °C até o crescimento das colônias. Após o crescimento das colônias, estas foram transferidas para criotubos contendo glicerol 15%, e armazenadas em freezer à -8°C. Na etapa seguinte, as colônias puras, foram caracterizadas morfológicamente a partir da inoculação dos isolados em placa de Petri contendo meio de cultura sólido YMA com indicador azul de bromotimol, pH 6,8 por um período de 24 a 72 horas de incubação a 28°C. As características observadas foram: pH (com base na alteração do meio de cultura, alcalino – azul, neutro – verde, ácido – amarela), velocidade de crescimento (rápida - ≤ 24 horas, normal - até 48 horas, lenta - > 48 horas), tamanho (< 2mm, > 2mm), transparência (opaca, translúcida), aparência (heterogênea, homogênea) e cor da colônia (creme, amarela, abobora). Foram cultivadas em meio de cultura sólido YMA as bactérias BR 266, BR 281, SEMIA 4077, como controle. A partir dos nódulos coletados, foram obtidos 600 isolados, a princípio com características típicas de rizóbio. Foram caracterizados morfológicamente 80 isolados, dos quais: 39 acidificaram o meio, 40 mantiveram o pH neutro e 1 isolado apresentou pH alcalino; 70 isolados exibiram crescimento rápido e 10 crescimento normal; 33 isolados formaram colônias maiores que 2mm, e 47 isolados colônias menores que 2mm. Em relação a transparência: 31 são translúcidos e 49 isolados opacos; 34 isolados formaram colônias heterogêneas e 46 homogêneas; 44 isolados apresentaram colônias com coloração creme, 35 coloração amarela e 1 com coloração abobora. Apesar do estudo de caracterização morfológica estar apenas no início, a variabilidade de estirpes encontradas mostra que há um grande potencial para se encontrar e selecionar novas estirpes de rizóbios, as quais poderão contribuir para o desenvolvimento da agricultura.

¹ Estudante de graduação em Agronomia do Centro Universitário de Anápolis - UniEvangélica, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, leticiafernandes.agro@outlook.com

² Estudante de graduação em Agronomia do Centro Universitário de Anápolis - UniEvangélica, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, lorena.dornel@hotmail.com

³ Farmacêutico, Mestre em Bioquímica, Analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, marcio.cortes@embrapa.br

⁴ Farmacêutico, Técnico da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, elder.barbosa@embrapa.br

⁵ Engenheiro agrônomo, Ph.D. em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, enderson.ferreira@embrapa.br