

Caracterização Fenotípica de Bactérias Diazotróficas Endofíticas Isoladas da Cana-de-Açúcar Cultivada em Juazeiro, BA

Phenotypic Characterization of Diazotrophic Endophytic Bacteria Isolated from Sugarcane Cropped at Juazeiro, BA

Tailane Ribeiro do Nascimento¹; Rejane de Carvalho Nascimento¹; Katherine Gomes de Oliveira¹; Indra Elena Costa Escobar²; Welson Lima Simões³; Paulo Ivan Fernandes Júnior³

Abstract

This study aimed to characterize phenotypically isolated endophytic bacteria from sugar cane. The bacteria were isolated from the root and stem of sugarcane, after purification phenotypic characterization was performed. The characteristics observed were: size, shape, appearance, transparency, color, and quantity of mucus. Forty-seven isolates were characterized of which 14.89% had size pitting, 51.06% were greater than 2 mm and 34.04% were 1 to 2 mm in size. As regards the form and appearance, 56.25% had a circular shape and 68.75% were homogeneous. As to the color characteristic of the colony, 80.80% were transparent in color, 12.70% were cream and 6.40% were rose. The isolates analyzed showed a high phenotypic diversity that can be considered a potential plan for future studies of nitrogen fixing bacteria.

Keywords: Biodiversity, FBN, semiárid.

Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta da família Poaceae, com alto potencial para uso como alternativa aos combustíveis fósseis. O Brasil é, atualmente, o principal produtor mundial dessa cultura, estando em posição de destaque na produção de energia limpa. Apesar da baixa disponibilidade de nitrogênio nos solos cultivados com cana-de-açúcar, no Brasil, essa cultura não reduz os níveis desse elemento, indicando que as plantas possuem um sistema natural de reposição de N no solo (LIMA et al., 2011).

¹Estudante, Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UPE), Petrolina, PE.

²Bolsista PNPd, Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, PE.

³Pesquisadores, Embrapa Semiárido, paulo.ivan@embrapa.br, Petrolina, PE.

O sistema de reposição pode ocorrer pelo processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (URQUIAGA et al., 2003), de fundamental importância para a sustentabilidade ambiental e produção agrícola menos impactante (FERNANDES JÚNIOR, 2009). A FBN é feita, principalmente, por bactérias conhecidas como diazotróficas que podem colonizar a região rizosférica, o interior (endofíticas) ou a superfície (epifíticas) de tecidos vegetais (BODDEY et al., 2003; FRANCHE et al., 2009). Vários estudos já constataram o potencial de utilização de bactérias diazotróficas como promotoras de crescimento de plantas (SALA et al., 2008; SILVA et al., 2006), sendo uma alternativa na diminuição dos custos de produção e diminuição no uso de fertilizantes nitrogenados, refletindo em ganhos para o meio ambiente. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi selecionar e caracterizar bactérias diazotróficas endofíticas isoladas da cana-de-açúcar no Vale do São Francisco.

Material e Métodos

As bactérias foram isoladas de raízes e colmos de cana-de-açúcar, coletados no Campo Experimental de Mandacaru, em Juazeiro, BA. Estes foram desinfetados em solução de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 10 minutos, antes do processamento. As amostras foram diluídas de forma seriada (10^{-1} a 10^{-6}) em solução salina (NaCl 0,85% v/v). Alíquotas de 0,1 mL foram inoculadas em triplicata, em frascos de vidro, contendo meio NFB semissólido (DÖBEREINER et al., 1995). A incubação foi feita a 26-28°C, por dez dias. As amostras que apresentaram película microaerotáxica, característica da fixação do nitrogênio, foram inoculadas em placas de Petri contendo meio NFB e foram inoculadas sucessivas vezes no mesmo meio até a obtenção de colônias puras.

Após o processo de purificação, as bactérias isoladas foram caracterizadas quanto ao tamanho, forma, aparência, transparência da colônia, elevação, presença e quantidade de muco. Após a caracterização fenotípica dos isolados, foi construída uma matriz de caracterização binária, sendo atribuídos valores de 1 ou 0 para cada característica, possibilitando assim a construção de um dendrograma de similaridade por agrupamento com base no índice de Bray-Curtis e algoritmo UPGMA, utilizando o programa PaSt (HAMMER et al., 2001).

Resultados e Discussão

Após o procedimento de isolamento e purificação, foram obtidos 47 isolados bacterianos, dos quais, 14,89% apresentaram tamanho puntiforme, 51,06% maior que 2 mm e 34,04%, tamanho de 1 a 2 mm. No que diz respeito à forma e aparência, 56,25% apresentaram forma circular e 68,75%, homogênea. Para a característica cor da colônia, 80,80% foram considerados transparentes, 12,70% de cor creme e 6,40%, rosa.

O agrupamento dos isolados no dendrograma de similaridade, de acordo com suas características culturais, formou 22 grupos, dos quais, 12 são formados por apenas um indivíduo. Foi possível observar a formação de 14 grupos com mais de 80% de similaridade (Tabela 1).

Os grupos 3 e 4 apresentaram a maior quantidade de indivíduos, ambos com 10 isolados. As principais características comuns destes grupos foram o tamanho e a forma. O grupo cultural 3 apresentou tamanho puntiforme e forma circular, enquanto que o grupo 4, tamanho maior que 2 mm e forma irregular. Para as características aparência, cor e quantidade de muco, os dois grupos foram homogêneos, apresentando formações transparentes e com pouca quantidade de muco.

Tabela 1. Caracterização dos 14 grupos fenotípicos obtidos por meio do agrupamento das bactérias isolados da cana-de-açúcar (método de agrupamento UPGMA e Coeficiente de Dice).

Grupos/Nº de isolados	Características dos grupos				
	TC	FC	AC	CC	QM
Grupo 1 (1)	<1	I	Het	Cr	P
Grupo 2 (2)	<1	C	Hom	Cr	P
Grupo 3 (10)	<1	C	Hom	Tr	P
Grupo 4 (10)	>2	I	Hom	Tr	P
Grupo 5 (2)	>2	C	Het	Tr	M
Grupo 6 (5)	>2	I	Het	Tr	M
Grupo 7 (2)	1 a 2	C	Het	Tr	P
Grupo 8(6)	1 a 2	I	Het	Tr	P
Grupo 9 (1)	1 a 2	C	Hom	Tr	C
Grupo 10 (3)	1 a 2	C	Hom	Rs	M
Grupo 11 (1)	>2	I	Het	Tr	M
Grupo 12 (1)	1 a 2	C	Het	Tr	M
Grupo 13 (1)	1 a 2	I	Hom	Cr	P
Grupo 14 (2)	>2	I	Hom	Cr	M

¹Grupo fenotípico dos isolados ²TC1 – tamanho da colônia (P: puntiforme, 1 a 2 mm e >2 mm); FC- forma da colônia (C: circular, Ir: irregular); AC- aparência da colônia (Hom: homogênea, Het: heterogênea); CC - cor da colônia (Cr: Creme, Tr: Transparente, Rs: Rosa); QM - quantidade de muco (M: muito, P: pouco).

Estudos revelam que bactérias isoladas de variedades diferentes da cana-de-açúcar, apresentando diferentes características fenotípicas, apresentam diferenças na eficiência de fixar o nitrogênio atmosférico (LIMA et al., 2011). Estudos de isolamento e avaliação da diversidade e potencial de fixação de N com bactérias isoladas de cana-de-açúcar podem culminar com a seleção de bactérias como candidatas à inoculação (SILVA et al., 2006).

A obtenção desta coleção de culturas é o primeiro passo para a avaliação do posicionamento taxonômico das bactérias e avaliação da eficiência simbiótica e agronômica. A elevada diversidade de isolados obtidos neste estudo indica a existência de bactérias pertencentes a espécies não comumente isoladas de cana-de-açúcar.

Conclusão

Plantas de cana-de-açúcar do Vale do São Francisco apresentam alta diversidade fenotípica de bactérias, podendo ser consideradas potenciais para o estudo de bactérias diazotróficas de interesse comercial.

Referências

- BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, The Hague, v. 252, p.139-149, 2003.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60 p.
- FERNANDES JÚNIOR, P. I. **Caracterização fenotípica e produção de biopolímeros por bactérias isoladas de nódulos de guandu** [(*Cajanus cajan* (L.) Millsp)]. 2009. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and data Analysis. **Paleontologia Eletrônica**. v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001. Disponível em: <http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf>. Acesso em: 15 set. 2014.
- LIMA, R. C. de; KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; ANDREANI JÚNIOR, R.; FONSECA, L. da. Caracterização de bactérias diazotróficas endofíticas isoladas de cana de açúcar. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 64, n. 1, p. 5803-5813, 2011 .
- SALA, V. M. R.; CARDOSOS E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 2008.
- SILVA, V. N.; SILVA, L. E. de S. F. da; FIGUEIREDO, M. do V. B. Atuação de rizóbios com rizobactéria promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp). **Acta Scientiarum – Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 407-412, 2006.
- URQUIAGA, S.; LIMA, R. de M.; XAVIER, R. P.; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Avaliação da eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio em diferentes variedades de cana-de-açúcar. **Agronomia**, Seropédica, v. 37, n. 1, p. 55-58, 2003.