

Produção de auxinas in vitro por rizóbios de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] nativos do Semi-árido

Tailane Ribeiro do Nascimento¹; Pâmella Thalita Souza Sena²; Thaise Rosa da Silva³; Lindete Míria Vieira Martins⁴; Paulo Ivan Fernandes Junior⁵

Resumo

Objetivou-se avaliar a capacidade de bactérias isoladas feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na síntese de compostos indólicos e solubilização de fosfato inorgânico. Foram avaliadas 27 bactérias. Para a quantificação de ácido indolacético, as bactérias foram crescidas no meio Dgys durante 7 dias. Alíquota de 100 µL do reagente Salkowski foram adicionados a 150 µL do sobrenadante bacteriano em microplaca com 96 poços, incubados no escuro durante 30 minutos e lidos em espectrofotômetro a 530 nm. Para a solubilização de fosfato inorgânico in vitro, os isolados foram inoculados em meio GL (glicose e extrato de levedura) suplementado com CaCl₂ e K₂HPO₄. Ambos os experimentos foram conduzidos em triplicata com o delineamento inteiramente casualizado. Das 27 bactérias avaliadas, 13 apresentaram produções de AIA superiores às demais, equiparando-se à estirpe de referência. Todos os isolados avaliados cresceram em meio GL, porém, nenhum foi capaz de solubilizar o fosfato. Bactérias fixadoras de N isoladas do feijão-caupi apresentam potencial para a promoção do crescimento vegetal.

Palavras-chave: ácido indolacético, FBN, fosfato.

¹Bióloga, mestranda em Horticultura Irrigada – Uneb, bolsista Capes, Juazeiro, BA.

²Engenheira-agrônoma, M.Sc. em Horticultura Irrigada – Uneb, Juazeiro, BA.

³Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Semiárido – Univasf, bolsista Facepe, Petrolina, PE.

⁴Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, professora titular do Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais da Uneb, Juazeiro, BA.

⁵Biólogo, D.Sc. em Ciência do Solo, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, paulo.ivan@embrapa.br.

Introdução

Os microrganismos realizam um papel importante nos ciclos biogeoquímicos, na reposição de nutrientes do solo o que é muito importante para os sistemas agrícolas (Schulz et al., 2013). Além disso, alguns podem desempenhar funções específicas, como a promoção do crescimento vegetal, por meio de diversos mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), síntese de fitormônios, solubilização de fosfato de cálcio entre outros (Verma et al., 2010).

No processo de FBN, a família das leguminosas ganha destaque por possuir grande variabilidade de espécies capazes de se associar, simbioticamente, com bactérias fixadoras de N_2 , denominadas, coletivamente, de rizóbio. Para as leguminosas tropicais, o feijão-caupi é um exemplo de eficiência em associação com rizóbios nativos (Martins et al., 2003).

O feijão-caupi tem fundamental importância socioeconômica e auxilia na geração de emprego e renda de pequenos e médios agricultores no Nordeste (Moreira et al., 2017), porém, a produtividade varia de acordo com os sistemas de cultivo e níveis tecnológicos utilizados.

Como uma maneira de aumentar a produtividade dessa cultura, diminuir os custos da produção e, conseqüentemente, elevar a renda do produtor, a utilização de bactérias fixadoras de N e promotoras de crescimento vegetal tem se mostrado como alternativa. Para tal, é importante o isolamento e avaliação dos mecanismos de promoção do crescimento vegetal in vitro, com o intuito de selecionar bactérias eficazes para os ensaios em plantas.

Com este trabalho, objetivou-se avaliar a capacidade de bactérias isoladas feijão-caupi na síntese de compostos indólicos e solubilização de fosfato inorgânico in vitro.

Material e Métodos

Foram avaliadas 27 bactérias da Coleção de Culturas de Microrganismos da Embrapa Semiárido. Essas bactérias foram isoladas de nódulos de feijão-caupi em um experimento de planta-isca no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS) da Universidade do Estado da Bahia (Uneb), Campus III, Juazeiro, BA (SENA, 2018).

As culturas foram avaliadas quanto à capacidade de produzir AIA, de solubilizar fosfato inorgânico in vitro. Cada bactéria foi inoculada, em 5 mL de meio

líquido Dygs com a adição de 5 g de manitol e incubadas sob agitação durante 48 horas, para a produção de um pré-inóculo. Alíquotas de 1 mL foram inoculadas em meio líquido Dygs suplementado com 5 mg.L⁻¹ de L-triptofano, em triplicata, e incubadas sob agitação constante (100 rpm) durante 7 dias. Após esse período, avaliou-se a densidade ótica (DO) das culturas a 540 nm, ajustando-se a concentração para 0,5. Após o ajuste da DO, alíquotas de 1 mL foram centrifugadas durante 3 minutos a 10.000 rpm. Alíquota de 100 µL de reagente Salkowski (2% de FeCl₃ 0,5 M em 35% de ácido perclórico) foram adicionados a 150 µL do sobrenadante e incubados no escuro durante 30 minutos e lidos em espectrofotômetro a 530 nm (Sarwar; Kremer, 1995).

A avaliação da capacidade das bactérias em solubilizar fosfato inorgânico, in vitro, foi realizada segundo a metodologia descrita por Sylvester-Bradley et al. (1982). Alíquotas de 10 µL foram inoculadas em triplicata em meio GL (glicose e extrato de levedura) sólido contendo: glicose 10 g.L⁻¹, extrato de levedura 0,5 g.L⁻¹ e ágar 15 g.L⁻¹. Antes da distribuição em placas, foram adicionados ao meio 100 mL.L⁻¹ de CaCl₂ (10%) e 50 mL.L⁻¹ de K₂HPO₄ (10%).

O crescimento das colônias e/ou formação de halo foram avaliados 5 dias após a inoculação. Ambos os experimentos foram conduzidos em triplicata com o delineamento inteiramente casualizado. A produção de auxinas pelos isolados foi avaliada por meio de análise de variância, aplicando-se o teste de comparação de médias de Skott-Knott ($p < 0,05$) utilizando o pacote estatístico Sirvar.

Resultados e Discussão

Todos os isolados estudados foram capazes de sintetizar auxinas na presença do seu principal precursor, o L-triptofano. Os valores variaram entre 69,53 mgL⁻¹ a 614,42mgL⁻¹ (Figura 1). Dentre os 27 isolados, 13 juntamente com a estirpe de referência BR 3267 de *Bradyrhizobium yuanningense* apresentaram valores superiores aos demais.

Em alguns estudos vem sendo evidenciado que a produção de auxinas e a fixação biológica do nitrogênio por bactérias diazotróficas contribuem com o crescimento de plantas leguminosas e não leguminosas, através do aumento de raízes, conferindo maior absorção de água e nutrientes essenciais. Estes resultados positivos in vitro ainda precisam ser verificados em testes posteriores a fim de comprovar a eficiência desses microrganismos na promoção do crescimento vegetal (Costa et al., 2013).

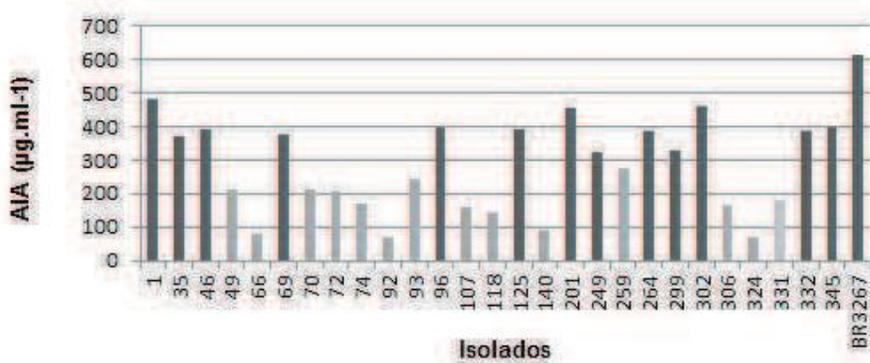


Figura 1. Produção de auxinas in vitro por rizóbios de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] nativos do Semiárido. Colunas da mesma cor não diferem estatisticamente pelo teste Skott-Knott ($p < 0,05$).

A pesar de os isolados apresentarem potencial para síntese de AIA como mecanismo de promoção do crescimento vegetal, nenhum dos isolados estudados apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato inorgânico in vitro, apesar de crescidos no meio GL.

Conclusão

Bactérias diazotróficas isoladas do feijão-caupi apresentam potencial de produção de auxinas como mecanismo de promoção do crescimento vegetal.

Agradecimentos

À Embrapa (03.16. 05.016.00.00) e à Universidade do Estado da Bahia (Uneb), pelo suporte financeiro. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelas bolsas de estudo para as duas primeiras autoras.

Referências

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F.; TROCHMANN, A.; FERREIRA, L. V. M.; MOREIRA, F. M. S. Promoção de crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semiarid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 333-339, 2003.

MOREIRA, W. K. O.; OLIVEIRA, S. S.; ALVES, J. D. N.; RIBEIRO, R. A. R.; OLIVEIRA, I. A.; SOUSA, L. A. S. Evolução da produtividade do feijão-caupi para os principais produtores do nordeste paraense no período de 2000 a 2014. **Nucleus**, v. 14, n.1, 2017.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 282-285, 1995.

SENA, P. T. S. **Caracterização polifásica de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos sob diferentes usos agrícolas do Semiárido baiano**. 2018, 73 f. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L.A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 15-22, out. 1982.

SCHULZ, S.; BRANKATSCHK, R.; DÜMIG, A.; KÖGEL-KNABNER, I.; SCHLOTTER, M.; ZEYER, J. The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. **Biogeosciences**, v. 10, n. 6, p. 3983-3996, jun. 2013.

VERMA, J. P.; YADAV, J.; TIWARI, K. N. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. **International Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 11, p. 954-983, 2010.