

POTENCIAL DIAZOTRÓFICO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE FOLHAS DE MILHO

Vilella, Francys Mara Ferreira¹; Cassini, Sérgio Túlio Alves²; Bressan, Wellington³; Torres, Virginia Ribeiro⁴

1- Estudante de pós-graduação, nível mestrado - Universidade Federal de Viçosa - UFV; Departamento de Microbiologia, R. PH Rolfs s/n 36571-000, Viçosa, MG.; 2- Prof. Adjunto do Departamento de Microbiologia - UFV; 3- Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo / EMBRAPA, Sete Lagoas, MG; 4- Estagiária do Laboratório de Microbiologia do Solo - UFV

Nos últimos anos tem havido interesse em pesquisas para se obter sistemas fixadores de nitrogênio para plantas não-leguminosas. O isolamento de alguns gêneros de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar (Dobereiner et al, 1995) foi um avanço para o estímulo dessas pesquisas. Neste trabalho objetivou-se o estudo do potencial diazotrófico de bactérias endofíticas isoladas em uma variedade comercial de milho (*Zea mays* L.), o XHT 12. A coleta do material foi realizada no Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo/ EMBRAPA, situada em Sete Lagoas, MG, durante o ensaio nacional. Após a coleta e lavagem em água corrente, a desinfestação superficial das folhas de milho foi realizada na seguinte sequência: álcool 75% durante 1 minuto, hipoclorito de sódio 3% durante 4 minutos e lavados em água destilada estéril por 3 vezes. Foram feitos cortes de 1cm x 1cm nas folhas após serem retiradas as bordas. Em seguida, os cortes foram plaqueados em meio de cultura D₂ (Kado & Heskett, 1970), pH 7,8, e incubadas a 28^oC até o aparecimento de colônias. As colônias emergentes foram reisoladas por estrias compostas e um total de 113 isolados foi obtido. Os isolados foram caracterizados morfológicamente, tomando-se como parâmetros o tamanho, a superfície, a borda e a cor da colônia. Em seguida, as 33 colônias isoladas de crescimento rápido foram inoculadas em 3 diferentes meios semi-sólidos: NFb pH 6,8, LGi pH 6,2 e JNFb pH 5,8 (Dobereiner, 1995) e incubadas à 28^o C, para testar a condição diazotrófica. Após 52 hs. houve resultado positivo para algumas colônias com a indicação de crescimento e formação de película no meio de cultura (Quadro 1).

O meio LGi é recomendado para o isolamento dos gêneros *Azotobater*, *Azomonas* e algumas espécies do gênero *Azospirillum*, o meio JNFb para o gênero *Herbaspirillum* e o meio NFb para o isolamento de outras espécies do gênero *Azospirillum*. No Quadro 1, apenas 6% dos isolados cresceram no meio JNFb porém elas também cresceram no meio NFb. 38,88% dos isolados cresceram no meio NFb e formaram película na região central do meio de cultura as outras 61,12% que cresceram nesse meio formaram película na superfície. Dos isolados crescidos no meio LGi, 30,30% formaram película na superfície, 42,42% acidificaram o meio, sendo que 71,42% dos isolados nesse meio também cresceram no meio NFb.

Os resultados obtidos sugerem que grande parte das bactérias isoladas apresentam potencial diazotrófico e, possivelmente, estejam incluídas dentro de alguns dos gêneros acima citados. Estudos estão sendo realizados no nosso laboratório para a identificação dessas bactérias.

Identificação	meio NFb	meio JNFb	meioLGi	Observação
A5	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A7	++	+	-	acidificou o meio JNFb
A10	++	+	-	
A26	+	-	+	película só na superfície
A28	++	-	+	
A30	++	-	+	acidificou o meio Lgi
A31	++	-	+	
A43	++	-	+	acidificou o meio Lgi
A44	+	-	+	película só na superfície
A45	++	-	+	
A52	++	-	-	acidificou o meio Lgi
A53	++	-	-	acidificou o meio Lgi
A57	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A58	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A59	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A65	+	-	+	película só na superfície
A67	+	-	+	
A68	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A69	+	-	+	
A70	+	-	+	película só na superfície
A72	-	-	-	acidificou todos os três meios
A73	++	-	+	
A74	+	-	+	película só na superfície e acidificou o meio Lgi
A75	+	-	+	película só na superfície
A76	++	-	+	
A77	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A81	+	-	+	película só na superfície
A87	+	-	+	película só na superfície
A88	+	-	+	película só na superfície
A94	+	-	+	película só na superfície
A95	+	-	-	acidificou o meio Lgi
A96	++	-	+	acidificou o meio Lgi
A97	+	-	-	acidificou o meio Lgi

(++) crescimento com formação de película na região central do meio de cultura;

(+) pouco crescimento com formação de película na superfície do meio de cultura;

(-) sem crescimento

Referências bibliográficas:

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D. & BALDANI, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. **Embrapa** - SPI, Brasília, 1995.

KADO, C.I. & HESKETT, M.G. Seletive media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, 60: 969-976, 1970.