

## CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE *ARACHIS BATIZOCOI* CULTIVADO EM SOLOS DO SEMIÁRIDO

Jonnathan Whiny Moraes dos Santos (1); Paulo Ivan Fernandes Júnior (2).

<sup>1</sup> Universidade Estadual da Paraíba – PPGCA/EMBRAPA ([jonnathan.santos@hotmail.com](mailto:jonnathan.santos@hotmail.com))

<sup>2</sup> EMBRAPA SEMIÁRIDO/Petrolina – PE ([paulo.ivan@embrapa.br](mailto:paulo.ivan@embrapa.br))

### INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma cultura que possui grande papel socioeconômico para o Nordeste. E por ser uma oleaginosa de grande importância, essa cultura é produzida em vários países, e no Brasil tem seu cultivo mais significativo nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste (SANTOS et al., 2010), dessa forma a busca por novas tecnologias de baixo custo pode favorecer o aumento da produtividade desta cultura no país, principalmente na região do semiárido nordestino.

Na região Nordeste, o amendoim é cultivado principalmente por agricultores familiares, que o cultivam de forma manual e com baixa utilização de insumos e tecnologias que favoreçam uma maior produtividade (MELO FILHO e SANTOS, 2010). Espécies leguminosas, como o amendoim, possuem a habilidade de se associar em simbiose com rizóbios e fixar N<sub>2</sub> atmosférico, e isso tem grande importância tanto no ponto de vista ecológico, quanto no agrônomico.

Diversos estudos têm mostrado que bactérias nativas isoladas de nódulos de amendoim favorece uma maior nodulação, maior quantidade de nitrogênio total acumulado, além do aumento no rendimento de massa seca da parte aérea em plantas de amendoim (SANTOS et al., 2005; HOFFMAN et al., 2007). Além disso, a utilização de espécies nativas, como o *A. batizocoi*, como plantas iscas na obtenção de nódulos, pode favorecer ainda mais a captura dessas bactérias nativas da região.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade fenotípica de bactérias isoladas de nódulos da espécie *Arachis batizocoi* cultivados em diferentes solos da região semiárida.

### METODOLOGIA

Foi realizado um ensaio em casa de vegetação para obtenção de nódulos das raízes utilizando a espécie *Arachis batizocoi* como planta isca para obtenção das bactérias. Foram coletados solos em seis áreas nas regiões de Barbalha – CE, Petrolina – PE, Campina Grande – PB e Juazeiro – BA (Tabela 1). Os solos foram destorroados e acondicionados em copos com capacidade para 500 mL até o momento do plantio. As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol e peróxido de hidrogênio, seguidas por 10 lavagens em água autoclavada. Foram plantadas 3 sementes por vaso e após o estabelecimento das plantas, foram desbastadas para uma planta por vaso. As plantas receberam água conforme necessário e o experimento foi conduzido até a fase de

florescimento (em torno de 60 dias após o plantio). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 3 repetições.

Aos 60 dias após a emergência (DAE), as plantas foram coletadas e raízes lavadas em água corrente, 10 nódulos de cada planta foram selecionados. O isolamento das bactérias foi realizado nos nódulos frescos. Os nódulos foram desinfestados superficialmente e estourados com o auxílio de uma pinça flambada e estriados com alça de platina em placas de Petri contendo meio YMA (VINCENT, 1970). Após a obtenção dos isolados puros foi realizada a caracterização fenotípica de acordo com suas características culturais em meio YMA foram avaliados o tempo de crescimento, reação de pH do meio, tamanho, forma e cor da colônia, produção, homogeneidade e tipo do muco. As características culturais foram tabuladas em uma planilha e transformadas em uma matriz binária para a construção do dendrograma de similaridade, utilizando o programa Past (HAMMER, et al., 2001).

**Tabela 1 Identificação das amostras de solo**

Solo	Local de coleta	Cobertura Vegetal
1	Campina Grande – PB	Amendoim
2	Juazeiro – BA	Amendoim nativo
3	Petrolina – PE	Amendoim
4	Petrolina – PE	Caatinga nativa
5	Barbalha – CE	Amendoim
6	Barbalha – CE	Amendoim

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o isolamento das bactérias oriundas dos nódulos de amendoim, foram obtidos 54 isolados puros, os quais foram caracterizados culturalmente. Destes isolados 51% tiveram crescimento rápido, 32,1% crescimento intermediário e 16,9% crescimento lento. Para a característica de reação de pH do meio de cultura, 56,6% dos isolados bacterianos foram capazes de acidificar o meio, já os que apresentaram reação de pH alcalina ou neutra foram de 20,8% e 22,7% respectivamente. O que se confirma em estudos recentes, os quais mostram que isolados de rizóbio de crescimento rápido e com capacidade de acidificar o meio de cultura, são geralmente pertencentes ao gênero *Rhizobium*, e ultimamente vêm sendo relatados na literatura como nodulantes da cultura do amendoim (Taurian et al., 2006; Marcondes et al., 2010; Ibañez et al., 2008).

Na avaliação do tamanho de colônias, houve bastante variância entre os isolados, com o tamanho de colônia >2 mm (24,5%), seguido de colônias entre 1 a 2 mm (45,3%) e puntiforme (30,2%). Com relação a coloração, foram obtidas um maior percentual de bactérias de coloração amarela (81,1%), seguida de bactérias brancas (9,4%), transparente (5,7%) e marrom (3,8%). Quanto a forma da colônia 57,4% apresentaram forma irregular, considerando a homogeneidade das

colônias, 60,4% tiveram aparência homogênea, já para a produção de muco, houve um predomínio na produção de pouco muco, um total de 64,2% desse isolados, e quanto ao tipo de muco foram verificados isolados com muco viscoso (41,5%), butírico (17%), aquoso (28,3%) e floculoso (13,2%).

Os dados de similaridade com base na análise polifásica, obtido pelo Coeficiente de Dice, variaram entre 35% a 100% indicando alta diversidade genética entre os isolados analisados (Figura 1). A partir do uso dessa técnica pode-se detectar um alto grau de polimorfismo entre os isolados (CHUEIRE et al., 2000), o que pode favorecer uma posterior análise genética detalhada desses isolados.

De acordo com o dendograma de similaridade obtido (Figura 1), observou-se a separação desses isolados em dois grandes grupos de bactérias associadas aos nódulos dessa espécie, com 35% de similaridade entre eles, indicando que as diferentes áreas de coleta possuem bactérias com alto grau de diversidade, quando comparadas entre si no mesmo solo, assim como, quando comparadas entre as diferentes áreas de coleta de solo. Houve casos específicos com similaridade de 100% entre espécies coletadas de solos de diferentes áreas, indicando uma possível presença da mesma espécie em regiões distintas. Segundo Hameed et al. (2004), a avaliação das características fenotípicas revela uma diversidade bastante ampla dos isolados de rizóbios. Estes dados são importantes, uma vez que o conhecimento das comunidades nativas por meio destas ou de outras técnicas revelam-se fundamentais para se conhecer a diversidade das espécies.

## CONCLUSÕES

Os isolados bacterianos obtidos de nódulos de amendoim *Arachis batizocoi* apresentam elevada variabilidade, o que sugere mais estudos para confirmar se essas podem ser bactérias com o potencial para promoção de crescimento em espécies de amendoim cultivado comercialmente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHUEIRE, L. M. O.; NISHI, C. Y. M.; LOUREIRO, M. F. et al. Identificação das estirpes de Bradyrhizobium e Rhizobium utilizadas em inoculantes comerciais para as culturas da soja e do feijoeiro pela técnica de PCR com “primers” aleatórios ou específicos. *Agricultura Tropical*, Cuiabá, v. 4, p. 80-95, 2000.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and data Analisis. *Paleontologia Eletrônica*, 2001. 4 n.p.

HAMEED, S.; YASMIN, S.; MALIK, K. A.; ZAFAR, Y.; HAFEEZ, F. Y. Rhizobium, Bradyrhizobium and Agrobacterium strain isolated from cultivated legumes. *Biology and Fertility of Soils*, v. 39, n. 3, p. 179-185, 2004.

IBAÑEZ, F.; TAURIAN, T.; ANGELINI, J.; TONELLI, M.L.; FABRA, A. Rhizobia phylogenetically related to common bean symbionts *Rhizobium giardinii* and *Rhizobium tropici* isolated from peanut nodules in Central Argentina. *Soil Biology and Biochemistry*, 40: 537-539, 2008.

MARCONDES, J.; FERRAUDO, A. S.; SCAQUITTO, D. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E. G. M. Efetividade na fixação biológica de nitrogênio de bactérias nativas isoladas de plantas de amendoim. *Ciência & Tecnologia*, 1:21-32, 2010.

MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. A cultura do amendoim no Nordeste: Situação atual e perspectivas. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v.7, p.192-208, 2010.

SANTOS R. C.; FREIRE R. M. M.; LIMA L. M.; ZAGONEL G. F.; COSTA, B. J. Produtividade de grãos e óleo de genótipo de amendoim para o mercado oleoquímico. *Ciência Agronômica*, Fortaleza, v 43, p. 1-8, 2010.

SANTOS, R. C.; GODOY, I. J.; FAVERO, A. P. Melhoramento do amendoim. In: Santos, R. C. (ed.) *O agronegócio do amendoim no Brasil*. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.23-190.

TAURIAN, T., IBAÑEZ, F., FABRA, A., AGUILAR, O. Genetic diversity of rhizobia nodulating *Arachis hypogaea* L. in central argentinean soils. *Plant and Soil* 282:41–52, 2006.

VINCENT, J.M. A. *Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1970. 164p. (IBP Handbook, 15).

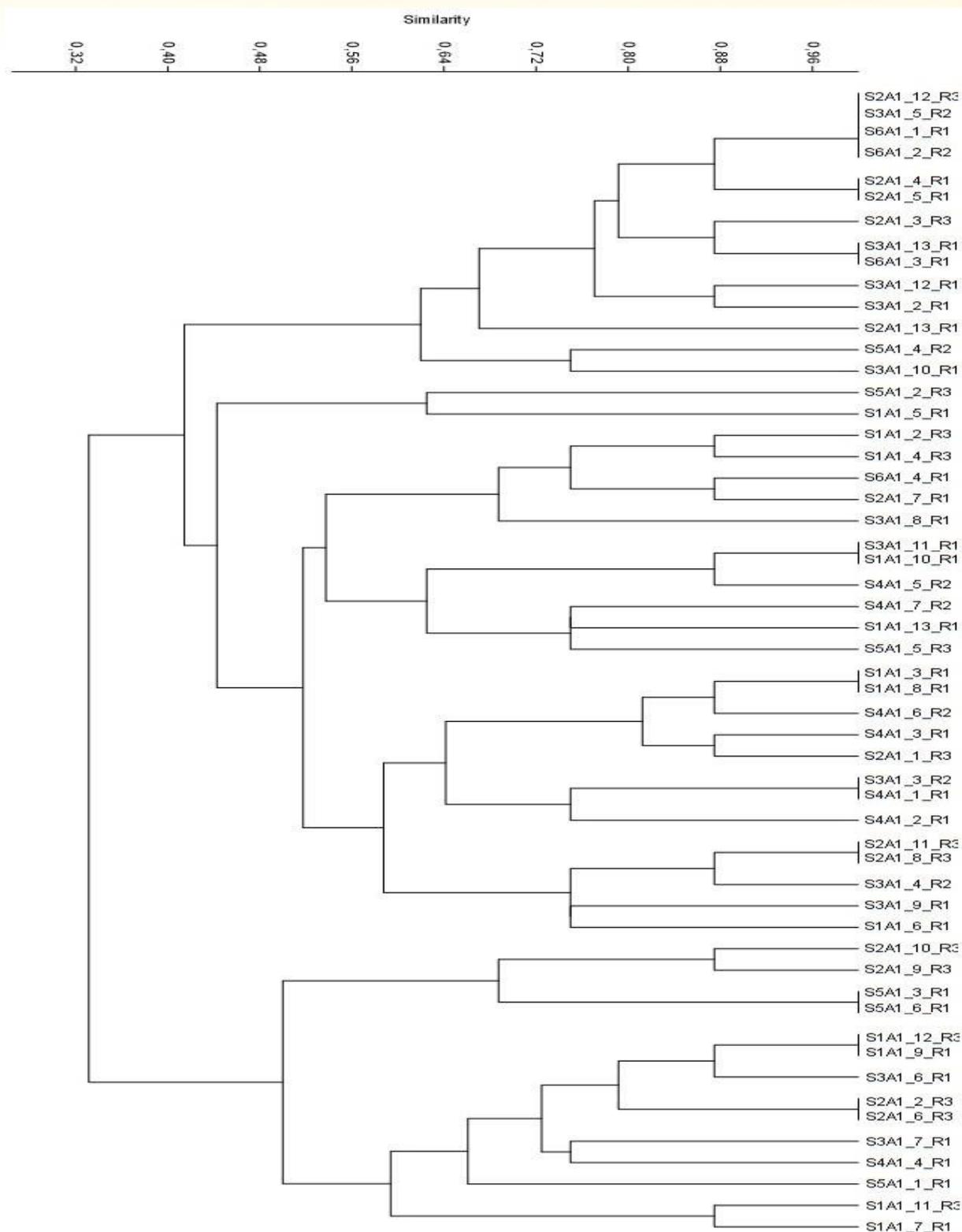


Figura 1 Dendrograma mostrando similaridade dos isolados estudados, considerando características morfológicas.