

**Agroecologia e Produção Sustentável
Resultado de pesquisa**

**SELEÇÃO DE ESTIRPES DIAZOTRÓFICAS QUANTO À SALINIDADE
E DIFERENTES VALORES DE pH**

Ana Beatriz Carvalho Terra¹

Mario Viana Paredes Filho²

Anderson Romão dos Santos³

Ligiane Aparecida Florentino⁴

Eunice de Oliveira⁵

RESUMO

O trabalho foi realizado com o objetivo analisar a tolerância à salinidade e valores de pH por estirpes isoladas de solos rizosféricos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os testes de tolerância à salinidade e pH foram realizados em meio FAM sólido, modificado. As estirpes foram capazes de crescer em todos os valores de pH. Em relação aos testes de salinidade, foi verificada alta diversidade, sendo as estirpes UNIFENAS 100-52; 100-51; 100-60; 100-63 e 100-65, as que apresentaram maior crescimento nas concentrações mais elevadas.

Palavras Chave: Bactérias promotoras de crescimento; fixação biológica de nitrogênio; diversidade metabólica.

INTRODUÇÃO

No Brasil, cerca de 50% das áreas cultivadas são constituídas por pastagens, com o predomínio de gramíneas do gênero *Brachiaria*, no entanto estima-se que grande parte desses solos (mais de 50%) encontram-se em processos de degradação (Macedo et al., 2013). Nesse sentido, justifica-se a necessidade de utilizar técnicas e práticas de manejo visando recuperar estas áreas. A adubação constitui-se numa prática fundamental para melhoria na qualidade do solo, com destaque para os fertilizantes nitrogenados, porém é necessário avaliar a dimensão do impacto da adubação nitrogenada nas áreas de pastagens devido as emissões de óxido nitroso (N₂O).

A utilização de bactérias fixadoras de N₂ (diazotróficas) constitui-se numa das alternativas à substituição parcial ou total dos fertilizantes nitrogenados. No entanto, a densidade e diversidade desses micro-organismos no solo é influenciada pelas condições edafoclimáticas e pelo tipo de vegetação (Vitorazi Filho et al., 2012).

Estudos da inoculação com bactérias fixadoras de N₂ em gramíneas forrageiras ainda são incipientes, necessitando de pesquisas *in vitro* visando identificar propriedades

¹Mestranda em Ciência Animal – UNIFENAS, anabeatriz.terra@hotmail.com

²Doutorando em Agricultura Sustentável– UNIFENAS, mariomecnica@outlook.com

³Graduando em Agronomia – UNIFENAS, anderson.romao.santos@hotmail.com

⁴Professora UNIFENAS – Campus Alfenas, ligianeflorentino@gmail.com

⁵Graduanda em Agronomia – UNIFENAS, eunicedeoliveira@outlook.com

Agroecologia e Produção Sustentável Resultado de pesquisa

fisiológicas de estirpes bacterianas que proporcionarão maior sucesso quando aplicadas no campo. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo analisar a tolerância à salinidade e valores de pH por estirpes isoladas de solos rizosféricos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

METODOLOGIA

Crescimento em meios contendo diferentes valores de pH e concentrações salinas

Foram utilizadas 18 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de solos rizosféricos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Dias, 2015), pertencentes ao Laboratório de Microbiologia Agrícola da UNIFENAS. Estas estirpes foram cultivadas em meio sólido para confirmação da pureza e posteriormente em meio líquido para “lavagem das células”, conforme descrito por Florentino et al. (2012).

Posteriormente, alíquotas de 100 µL de suspensões de células lavadas em solução salina foram inoculadas e espalhadas com a alça de Drigalsky em placas que continham o meio sólido FAM modificado com as seguintes concentrações de NaCl (mM): 1,71 (tratamento controle); 86; 171; 256; 342; 427; 513; 598; 684; 769 e 855.

Para verificar o crescimento em diferentes valores de pH, o meio FAM foi ajustado para os seguintes valores de pH: 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 e 9,0 pela adição de HCl ou NaOH (Wei et al., 2008). Adotou-se o mesmo procedimento de lavagem das células citado anteriormente. Como tratamento-controle, foi usado o meio de cultura FAM com valor de pH igual a 6,8.

Para ambos os testes (salinidade e pH), os tratamentos foram distribuídos inteiramente ao acaso, com quatro repetições. As placas foram incubadas a 28°C por 7 dias, onde foram avaliados a presença (+) ou ausência (-) de crescimento bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 18 estirpes isoladas de solos rizosféricos cultivados sob *B. brizantha* cv. Marandu apresentaram alta diversidade em relação à capacidade de crescer em diferentes concentrações de NaCl em meio FAM. De um modo geral, as estirpes apresentaram crescimento em todas as concentrações de NaCl testadas, destacando-se as estirpes UNIFENAS 100-52, 100-51; 100-60; 100-63 e 100-65, que cresceram nas três maiores concentrações salinas.

A maior produção de exopolissacarídeos (EPS) pela célula bacteriana é considerada um dos mecanismos que confere maior tolerância às estirpes, uma vez que os EPS conferem maior proteção celular e evita a perda d'água (FREITAS et al., 2015; XAVIER et al., 2007). De acordo com Santos et al. (2012), os microrganismos utilizam estratégias de osmoadação flexíveis o que lhes permite responder a flutuações de salinidade do meio exterior.

Já em relação aos diferentes valores de pH, foi verificado que todas as estirpes foram capazes de crescer em todos os valores testados, corroborando os resultados obtidos por Florentino et al. (2013), para estirpes de bactérias fixadoras de N₂ do gênero *Cupriavidus*, o que indica alta adaptabilidade destas bactérias no solo.

Agroecologia e Produção Sustentável Resultado de pesquisa

CONCLUSÕES

Foi verificado que as estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de solos rizosféricos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu apresentam comportamentos distintos em relação à capacidade de tolerar altas concentrações salinas, sendo a estirpe 100-52 a que apresentou melhor resposta nos testes de tolerância a salinidade. Todas as estirpes foram capazes de crescer nos diferentes valores de pH testados.

REFERÊNCIAS

DIAS, M. S. **Diversidade e potencial de utilização de bactérias fixadoras de N₂ em Brachiariabrizantha**. Alfnas, 2015. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência animal - Universidade José do Rosário Vellano, 2015.

FLORENTINO, L.A. et al. Physiological and symbiotic diversity of Cupriavidus necator strains isolated from nodules of Leguminosae species. **Sci. agric.** (Piracicaba, Braz.) [online], vol.69, n.4, pp.247-258, 2012.

FLORENTINO, L.A. et al. Symbiotic nitrogen fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems in the Western Amazon. **Scientia Agricola**, vol. 70, n.6, -. 397-404. 2013.

FREITAS, A.D.S. et al. Fixação biológica de nitrogênio no Semiárido Brasileiro. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 1, p. 585-597. 2015.

MACEDO, M.C.M. et al. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - FÉRTIL, 1., 2013, Ribeirão Preto, SP. **Anais...** Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 158-181.

SANTOS et al. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-deaçúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 142-149, Mar. 2012

VITORAZI FILHO, J. A. et al. Growth of sweet passion fruit seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria under different levels of phosphorus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 34(2), 442-450. 2012.

**Agroecologia e Produção Sustentável
Resultado de pesquisa**

WEI, G.H. et al. Phenotypic and genetic diversity of rhizobia isolated from nodules of the legume genera Astragalus, Lespedeza and Hedysarum in northwestern China. **Microbiol. Res.**, 163:651-662, 2008.

XAVIER, G.R. et al. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e temperatura em condições in vitro. **Caatinga**, Mossoró, v.20, n.4, p.01-09, 2007.