

# Efetividade de Linhagens de Rizóbios Nativos do Semiárido

C. C. Nóbrega<sup>1</sup>; D. R. Santos<sup>2</sup>; K. D. S. Ól; J. M. Oliveira<sup>1</sup>; J. L. L. Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Campina Grande, 58700-970, Patos-PB, Brasil

<sup>2</sup>Professor Associado da Unidade Acadêmica de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Campina Grande, 58700-970, Patos-PB, Brasil

*camilhanobrega@hotmail.com*

(Recebido em 20 de novembro de 2011; aceito 20 de fevereiro de 2012)

---

A seleção de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> é um processo dinâmico, que pode garantir o suprimento de nitrogênio necessários ao desenvolvimento da planta. A seleção de linhagens de rizóbio proveniente do solo onde vai ser utilizado, visando a produção de inoculantes específicos, é um dos componentes fundamentais para o sucesso no uso deste bioinsumo. Este trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade competitiva das linhagens de isolados rizobianos nativos de solos do semiárido através de fenótipos radiculares. As linhagens de isolados foram caracterizados em relação a reação (pH), avaliados os efeitos da inoculação nos fenótipos radiculares e posteriormente estocados. As características avaliadas foram o aumento do número de pêlos radiculares, pêlos encurvados, deformados, comprimento e espessura da raiz principal e presença de nódulos nas raízes. Os nódulos apareceram com maior intensidade nas plântulas com os isolados de números 259, 265, 266 e 283. Os inoculantes que apresentaram uma maior capacidade competitiva quanto à deformação, encurvamento e aumento do número de pêlos radiculares foram 251, 259, 263, 270, 284, 287 e 291. Fenótipos radiculares podem indicar estirpes eficientes de rizóbio para produzir inoculantes efetivos na nodulação de mudas de essências florestais do semi-árido.

Palavras-chave: Capacidade competitiva, Seleção de rizóbio, Fenótipos radiculares.

The selection of N<sub>2</sub> fixing bacteria is a dynamic process that can guarantee the supply of nitrogen needed for plant development. The selection of strains of rhizobia from the soil where it will be used in order to produce specific inoculants is a fundamental component for success in using this bio-feedstock. This study aimed to evaluate the competitive ability of strains isolated rhizobial native soils of semiarid. The isolated strains will be characterized for reaction (pH), evaluated the effects of inoculation on root phenotypes and subsequently stored. The characteristics evaluated were the increased number of root hairs, hairs curled, deformed, length and thickness of the main root and nodules on roots. The nodules that appeared more intense in seedlings with the isolates of number 259, 265, 266 and 283. The inoculant that had a higher competitive ability on the deformation, bending and increased number of root hairs were 251, 259, 263, 270, 284, 287 and 291. So, through the selection of efficient strains of rhizobia will be possible to produce forest seedlings nodulated well with faster growth and greater resistance to field conditions.

Keywords: Competitive ability, Selection of rhizobia, Root phenotypes.

---

## 1. INTRODUÇÃO

Bactérias diazotróficas simbióticas, genericamente denominadas rizóbio, habitam o solo e são amplamente empregadas na inoculação de leguminosas agrícolas e pouco usadas em leguminosas arbóreas. A simbiose eficiente resulta na fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN), que traz benefício nutricional a planta hospedeira. E proporciona papel relevante para a economia de fertilizantes nitrogenados e conservação ambiental.

Estas bactérias são comuns nos solos, entretanto as linhagens nativas, geralmente apresentam baixa eficiência simbiótica, embora mais adaptadas as condições edafoclimáticas. Isto torna o processo de seleção para obtenção de bactérias eficientes, fator essencial para o sucesso da inoculação.

O nódulo resulta do processo de reconhecimento entre a bactéria e a planta hospedeira [1]. Esta estrutura é muito utilizada como parâmetro, para avaliação de uma simbiose eficiente. No

processo de formação do nódulo, segue-se uma seqüência de eventos que resultam em modificações radiculares microscópicas.

Leguminosas arbóreas nativas brasileiras são utilizadas para produção de madeira, energia, celulose, cerca viva, extração de fitoquímicos e gomas, na alimentação humana e animal, recuperação de áreas degradadas, entre outras.

Na grande maioria das espécies arbóreas a formação do nódulo, até que sejam visíveis a olho nu, demanda cinco vezes mais tempo do que em culturas agrícolas, que geralmente ocorre abaixo de quinze dias. E, a análise destas modificações que precedem a nodulação pode ser utilizada para abreviar o tempo gasto no processo de seleção de rizóbios eficientes para leguminosas arbóreas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de fenótipos radiculares nas leguminosas arbóreas como indicador precoce da capacidade infectiva de linhagens de rizóbios nativos do semiárido.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### Caracterização das linhagens de isolados rizobianos nativos

Foram utilizadas 25 isolados rizobianos que foram caracterizadas quanto a sua reação. A avaliação foi feita com a bactéria crescendo em meio YMA com azul de bromotimol após quatro dias de incubação da cultura a 28°C, por meio de observação visual de variação de cor da cultura.

### Leguminosas utilizadas

Foram utilizadas plântulas de leguminosas importantes para múltiplo uso na região semiárida, cultivadas *in vitro* sob luminosidade natural. As sementes foram cedidas pelo Laboratório de Sementes do Curso de Engenharia Florestal da UFCG, Campus de Patos, PB (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de Leguminosas com potencial para múltiplo uso por subfamílias utilizadas

Nome Vulgar	Nome Científico	Subfamília
Tamboril	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Morong.)	Mimosoideae
Sabiá	<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> (Benth.)	Mimosoideae
Pau Ferro	<i>Caesalpinia ferrea</i> (Benth.)	Caesalpinoideae
Jurema Preta	<i>Mimosa hostilis</i> (Benth.)	Mimosoideae
Mata Fome	<i>Pithecellobium Dulce</i> (Benth.)	Mimosoideae
Angico	<i>Piptadenia macrocarpa</i> (Benth.)	Mimosoideae
Cumarú	<i>Amburana cearensis</i> (A. Smith.)	Papilionoideae

### Preparo e aplicação do inóculo nas plântulas

No preparo do inóculo utilizaram-se linhagens de rizóbios nativos purificadas, provenientes de estoque do Laboratório de Microbiologia do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos. Obtidos em estudo anterior de solos do semiárido da Paraíba.

As sementes foram desinfetadas em álcool (70%) por cinco minutos e solução hipoclorito de sódio (2%) por três minutos. Posteriormente foram pré-germinadas em papel Germitest até que as radículas atingissem cerca de 0,5 cm. Em seguida as plântulas foram transplantadas para recipientes contendo meio nutriente-ágar (10 g de Ágar), pH 6,8 isento de N [2].

A inoculação das bactérias foi feita no transplante, adicionando-se 0,1 ml da cultura líquida do isolados ( $10^7$  cel.ml<sup>-1</sup>) para cada espécie de planta, em três repetições.

### Avaliação dos fenótipos radiculares

Após quinze dias, as raízes das plântulas foram avaliadas em relação à testemunha (sem inoculação) em microscópio ótico (40x). Avaliaram-se, deformação da raiz principal (TSR, thick and shot root), aumento do número dos pêlos radiculares (HAI, hair induction), pêlos radiculares deformados (avaliados pela deformação dos pêlos (HAD, hair deformation)), e pêlos

encurvados (avaliados pela presença e ausência de encurvamento dos pêlos radiculares (HAC, hair curling)), comprimento (RL, root length) e espessura (RT, root thickness) da raiz principal [3].

### Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e comparação de média pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional Assistat-beta 7.4 [4].

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da inoculação dos isolados rizobianos nos parâmetros radiculares nas plântulas das espécies de leguminosas, estão na tabela 2.

Tabela 2 Efeito da inoculação dos isolados nos parâmetros radiculares das plântulas

Espécies	Parâmetros radiculares <sup>(1)</sup>						NOD <sup>(2)</sup>
	TSR	HAI	HAD	HAC	RL	RT	
<b>Tamboril</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	+
<b>Sabiá</b>	ns	**	**	**	ns	ns	+
<b>Pau Ferro</b>	ns	ns	**	*	ns	ns	+
<b>Jurema Preta</b>	ns	*	ns	ns	ns	ns	+
<b>Mata Fome</b>	ns	ns	ns	ns	*	ns	+
<b>Angico</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cumarú</b>	-	-	-	-	-	-	-

<sup>(1)</sup> TSR (deformação da raiz principal); HAI (aumento do número dos pêlos radiculares); HAD (pêlos radiculares deformados); HAC (pêlos encurvados); RL e RT (comprimento e espessura da raiz principal, respectivamente). <sup>(2)</sup> NOD (Nódulo) presença (+) e ausência (-). \* e \*\* Significativo a 1% e 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Avaliando-se o tamboril não se observou diferença significativa (5%), pelo teste de Scott-Knott, para HAI, HAD, HAC, RL e RT. Indicando a ausência de características da infecção pelo rizóbio específica. Contudo, plântulas inoculadas com os isolados 265, 268, 280, 281 e 285 apresentaram deformações diferentemente da testemunha, indicativas de primórdios nodulares.

No tocante a sabiá, os parâmetros HAI, HAD, HAC e RL foram significativos (1%) em comparação a testemunha. O que não ocorreu para HAC e RT. Plântulas inoculadas com os isolados 267, 286 e 290 apresentaram deformação, similares as observadas em tamboril.

Ao se avaliar plântulas de pau ferro observou-se que HAD e HAC diferiram do tratamento sem inoculação (1% e 5%, respectivamente), enquanto HAI, RL e RT não diferiram da testemunha. Sendo que as plântulas inoculadas com os isolados 151, 250, 259, 261, 283 e 287 apresentaram primórdios nodulares.

Com relação a jurema preta apenas HAI apresentou diferença significativa (5%) com sinais de infecção bacteriana específica. Similarmente ao observado em tamboril e sabiá. Raízes da jurema preta também apresentaram nódulos com as os isolados 260, 263 e 283 (Figura 1A).

Em plântulas de mata fome observou-se apenas diferença significativa (5%) entre os tratamentos com inoculação em relação a testemunha para RL. Sendo que as plântulas inoculadas com os isolados 245, 251, 259, 266, 270, 283, apresentaram nódulos (Figura 1B).

No tocante ao angico e ao cumarú a ausência de resultados deve-se ao recalcitrante ataque de fungos nas sementes destas espécies o que impossibilitou o desenvolvimento das plântulas.

Foram observadas deformações na raiz principal (TSR) das espécies, embora não significativas (1% e 5%). É importante destacar que 80% dos isolados apresentaram primórdios nodulares, e destes 90% mostraram-se específicos.

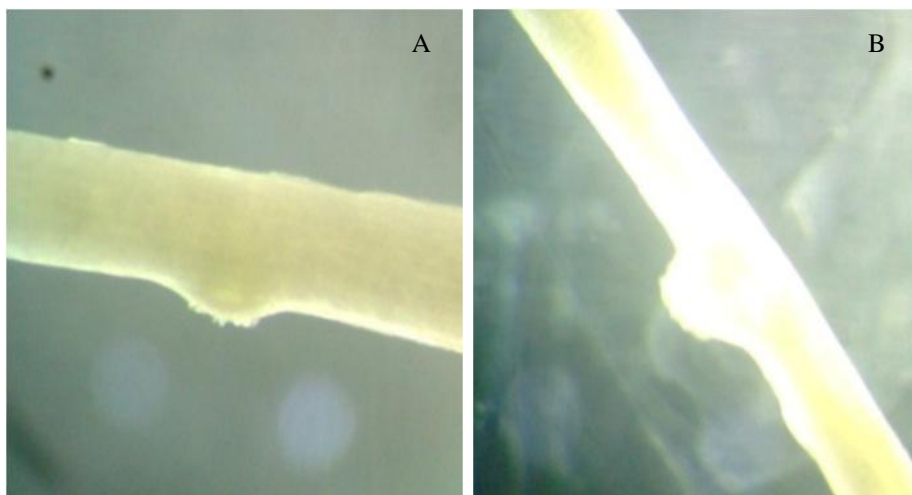


Figura 1 Observações microscópicas de primórdios nodulares de jurema preta (A) e mata fome (B). Fonte Nóbrega, C.C., 2011

#### 4. CONCLUSÃO

Com este estudo conclui-se que os fenótipos radiculares produzidos pelos isolados podem ser utilizados como indicadores para obtenção precoce de isolados rizobianos efetivos na nodulação de espécies arbóreas.

- 
1. CAMPELO, A.B.; DOBEREINER, J. Estudo sobre a inoculação cruzada de algumas leguminosas florestais. *Pesq. Agrop. Bras.* V. 4, p. 67-72, 1969.
  2. VINCENT, J.M. *Manual for the practical study of root nodule bacteria.* Oxford, Blackwell, 1970, 164p.
  3. ZAAT, S.A.J.; VAN BRUSSEL, A.A.N.; TAK, T.; PEES, E.; LUGTENBERGS, B.J.J. Flavonoids induce *Rhizobium leguminosarum* to produce *nodDABC* gene-related factors that cause thick, short roots and root hair responses on common vetch. *J. Bacteriol.* V.169, p. 3388-3391, 1987.
  4. SANTOS e Silva, F.A. ASSISTAT – beta 7.4. Campina Grande: 2007.