

12ª Jornada Científica e Tecnológica

BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS PRESENTES EM PASTAGENS DE *Brachiaria brizantha*

Márcio de Souza DIAS¹; Kleso Silva FRANCO JÚNIOR²; Warley Santos CAJAZEIRO³

RESUMO

O objetivo deste estudo foi identificar a presença de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas de *Brachiaria brizantha* no período seco e chuvoso. As bactérias foram isoladas de amostras de solos cultivados sob *B. brizantha* e partes do tecido vegetal desta gramínea, coletados no município de Machado/MG. Foram utilizados cinco meios de cultura semissólidos e semi-seletivos: FAM, JMV, JNFb, LGI e NFb. Foi obtido um total de 164 isolados, sendo 122 bactérias endofíticas e 42 do solo. Os resultados obtidos apresentam relevância, uma vez que serão explorados em outros experimentos, visando identificar os principais gêneros dessas bactérias e também analisar a contribuição para o desenvolvimento de *B. brizantha*.

Palavras-chave: Fixação biológica de N₂; Nitrogenase;

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é o nutriente mais necessário para a maioria das culturas agrícolas, pois é constituinte de várias biomoléculas e participa de diferentes processos metabólicos celulares (NOVAIS et al., 2007). Outro ponto importante a ser considerado em relação a esse nutriente é que o Brasil importa cerca de 70% do N utilizado na agricultura (ANDA 2015), nesse sentido, há a necessidade de se buscar fontes alternativas de N, de forma a reduzir a dependência externa e com características mais sustentáveis.

O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) constitui uma das alternativas à substituição dos fertilizantes nitrogenados, sendo viável do ponto de vista econômico e ambiental. A FBN é realizada por um grupo restrito de procariotos que possuem a enzima nitrogenase, responsável pela redução do N₂ em NH₃, por isso, essas bactérias são denominadas fixadoras diazotróficas e têm sido intensamente estudadas para seu uso na agricultura (DE FREITAS et al., 2015). Considerando a importância da FBN para a recuperação de pastagens no Brasil, o objetivo deste estudo foi identificar a presença de bactérias diazotróficas associadas e endofíticas de *Brachiaria brizantha*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de solo e sistema radicular utilizadas neste estudo foram coletadas em pastagens de *B. brizantha* no município de Machado, localizado na região sul do Estado de Minas Gerais. O clima é do tipo Cwa (Köppen), caracterizado por invernos secos e verões chuvosos. A Tabela 1 apresenta os dados de precipitação e temperatura nos meses em que as amostras foram coletadas, em

¹ Prof. Dr., Secretaria de Estado de Educação de Minas Gerais. E-mail: marciodesouzadias2013@gmail.com

² Prof. Dr., CESEP-Machado (MG). E-mail: kleso.junior@yahoo.com.br

³ Biólogo, UNIFRAN. E-mail: warley.cajazeiro@icloud.com

julho e dezembro de 2019.

Tabela 1. Valores médios de precipitação, temperaturas mínimas e máximas na cidade de Machado, nos meses de julho e dezembro de 2019.

Parâmetros	Julho	Dezembro
Pluviosidade (mm)	48.0	157.0
Temperatura mínima (°C)	10.0	18.0
Temperatura máxima (°C)	26.0	33.0

Dados obtidos no: Instituto Nacional de Meteorologia - INMET (2019)

Quatro amostras de solo *B. brizantha* foram coletadas em 4 pontos (S 21°39'36" W 45°59'07", S 21°38'38" W 46°01'16", S 21°37'07" W 46°01'38" e S 22°36'10" W 46°01'15") sendo a coleta de solo realizada de acordo com Guimarães et al. (2012) e nestes mesmos pontos foram realizadas a coleta das raízes de *B. brizantha*. O material coletado (solo e raízes) foi armazenado em caixas térmicas a 4 °C e encaminhado ao laboratório de microbiologia. Amostras de solo foram submetidas à análise das características químicas conforme métodos compilados na EMBRAPA (2011).

O isolamento das bactérias diazotróficas foi feito inoculando as amostras (solo e raízes) em frascos contendo meios de cultura semissólidos e semisseletivos: NFb, JNFb, LGI de acordo com a metodologia preconizada por Döbereiner et al. (1995), JMV (REIS et al., 2004) e FAM (MAGALHÃES; DÖBEREINER, 1984). A metodologia utilizada para a inoculação do solo e da raiz nos diferentes meios de cultura foi de acordo com Diniz et al. (2012) e Santos et al. (2013), respectivamente. Após o isolamento, a purificação foi realizada e os isolados bacterianos foram inoculados novamente no meio fonte para confirmação da capacidade de fixação de N₂ evidenciada pela formação do filme na superfície do meio.

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro pontos amostrados sendo as medias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram isoladas 122 bactérias endofíticas e 42 do solo, totalizando 164 isolados. Essas bactérias foram isoladas em cinco meios de cultura diferentes, de acordo com a seguinte distribuição: 24%, foram isoladas do FAM, JMV (19%), LGI (23%), NFb (17%) e JNFb (17%).

Meios semissólidos e semisseletivos são utilizados em estudos que visam capturar populações

de bactérias diazotróficas que colonizam o solo e espécies de gramíneas, como *Brachiaria* sp. (BRASIL et al., 2005). O maior número de isolados veio do período chuvoso, o que poderia estar relacionado às melhores condições químicas apresentadas pelos solos nos diferentes pontos de coleta (Tabela 2).

Tabela 2. Diversidade de bactérias diazotróficas isoladas de amostras de solo e tecido vegetal cultivadas sob *B. brizantha* coletadas no município de Machado nos períodos de seca e chuva.

Pontos de amostragem	Solo		Sistema radicular (Endofítica)	
	Período		Período	
	Seco	Chuvoso	----Seco----	---Chuvoso---
	NI*	NI*	NI*	NI*
Ponto 1	1	7	7	22
Ponto 2	-	8	-	23
Ponto 3	2	12	11	32
Ponto 4	3	9	9	18

*Número de isolados

De acordo com Kennedy et al. (2004), a disponibilidade de nutrientes é um dos fatores que influencia positivamente a comunidade bacteriana do solo, sendo possível observar que houve uma tendência dos dados quanto o número de isolados, onde o período chuvoso foi o que apresentou a maior diversidade de isolados em comparação com o período de seca. A influência da água na maior diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas no milho também foi observada por Roesch et al. (2007).

4. CONCLUSÕES

A maior diversidade de bactérias diazotróficas em pastagens de *B. brizantha* está relacionada à disponibilidade de água no solo e considerando que a produtividade deve estar associada ao manejo sustentável do solo, onde os resultados obtidos são relevantes uma vez que serão explorados em outros experimentos, visando identificar os principais gêneros dessas bactérias e também analisar a contribuição para o desenvolvimento de *B. brizantha*.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS – ANDA (2015). *Anuário Estatístico*

do Setor de Fertilizantes. São Paulo.

BRASIL, M.S et al. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do Pantanal sul-matogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n.2, p.179-190, 2005.

DE FREITAS, A.D.S. et al. Fixação biológica de nitrogênio no Semiárido Brasileiro (Biological nitrogen fixation in the Brazilian Semiarid). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 585-597, 2015.

DINIZ, P.F.A. et al. Bactérias diazotróficas em solos sob seringueira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p.1426-1433, oct./nov, 2012.

DÖBEREINER, J. et al. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília, Embrapa-SPI. Itaguaí, Embrapa- CNPAB, 60p, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA– EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2.ed. rev. Embrapa Solos: Rio de Janeiro. 230p, 2011.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, nov./dez, 2011.

GUIMARÃES, A.A. et al. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v.78, p.6726-6733, jul, 2012.

INMET. 2013. Rede de Estações Climatológicas. *Instituto Nacional de Meteorologia*. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/index>> Acesso em 01 fev. 2014.

KENNEDY, N. et al. Impact of lime, nitrogen and plant species on bacterial community structure in grassland microcosms. **Environmental Microbiology**, v.6, p. 1070-1080, october, 2001. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00638.x.

MAGALHAES, F.M.M.; DÖBEREINER, J. Occurrence of *Azospirillum amazonense* in some Amazonian (Brazil) ecosystems. **Revista de Microbiologia**, v.15, p.246-252, 1984.

NOVAIS, R.F. et al. Fósforo. In: NOVAIS, R.F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p.471-537, 2007.

REIS, V.M. et al. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p.2155-2162, November, 2004.

ROESCH, L.F.W. et al. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1367-1380, nov./dez, 2007.

SANTOS, M.C.M. et al. Ocorrência e atividade de bactérias diazotróficas em forrageiras cultivadas na região semiárida no Brasil. **Revista Caatinga**, v.26, p. 27-34, 2013.