

## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS NODULANTES DE AMENDOIM

**Elizete Santos**

elizsouzaflorzinha@gmail.com

**Liamara Perin**

liamara.perin@ifs.edu.br

**Raphaella Nascimento Silva**

raphaellasolis@gmail.com

**Breno Freitas Menezes**

breno.menezes@ifs.edu.br

**Jose Oliveira Dantas**

jose.oliveira@ifs.edu.br

**Resumo:** A cultura do amendoim possui grande importância no nordeste brasileiro. Em Sergipe a produção da cultura aos poucos vem ganhando espaço em lotes dos pequenos agricultores, tornando-se uma importantíssima fonte de renda. O objetivo deste trabalho é conhecer as bactérias que nodulam o amendoim em diferentes tipos de solos de Sergipe. Para o estudo, foram coletadas amostras de solos de diversas áreas e semeadas a cultivar BR 1. No florescimento das plantas, os nódulos foram coletados para isolamento das bactérias e posterior caracterização morfológica. Foi observado grande número de nódulos de tamanho pequeno e destes foram obtidos um total 59 bactérias. Estas bactérias apresentaram 38 tipos de colônias diferentes com 65% de similaridade entre elas. Na próxima etapa do estudo, representantes de cada grupo morfológico de bactérias serão inoculados em amendoim para avaliar sua contribuição no desenvolvimento das plantas.

**Palavras-Chave:** Fixação biológica de nitrogênio, solos; agroecologia.

### INTRODUÇÃO

O amendoim é um alimento muito popular em todas as regiões do Brasil e pode ser consumido tanto doce como salgado. A semente faz parte da cultura brasileira, tornando-se ingrediente principal de muitas receitas tradicionais, como paçoca, pé-de-moleque,

bolos e até sorvetes. É uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, espécie *Arachis hypogaea* Lineu, originária das Américas. O amendoimzeiro é a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo, seu cultivo é realizado em larga escala nos continentes americanos, africano e asiático. Seu cultivo visa à produção de grãos, óleo, farelo entre outros (FERRARI NETO et al., 2012).

A produção de amendoim no Brasil obteve notoriedade na década de 60 até o início dos anos 70, ocupando papel de destaque no suprimento interno de óleo vegetal e na exportação de subprodutos. Sendo os Estados de São Paulo e Paraná os principais produtores, responsáveis por 90% da produção nacional. Ainda na década 70, diversos fatores político-econômicos facilitaram a expansão da soja, e alteraram o perfil da produção e consumo de amendoim no Brasil (DE FREITAS et al., 2005).

No Nordeste, os principais estados produtores são Bahia, Ceará, Sergipe e Paraíba. Tendo a Bahia com destaque na produção, onde o cultivo do amendoim tem grande importância para os pequenos agricultores (SANTOS et al., 2005).

A planta de amendoim supre sua necessidade de nitrogênio quase que na sua totalidade via fixação simbiótica, por meio de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* sp.

presentes nos solos (AGUIAR et al., 2014) e por ser uma leguminosa, possui habilidade de associar-se de forma simbiótica com rizóbios e fixar  $N_2$  atmosférico (SILVA et al., 2009), reduzindo-o para uma forma combinada (amônia), que pode ser utilizada pela planta hospedeira. Portanto, em troca a planta supre a bactéria com fontes de energia e carbono para sua manutenção (MERCANTE et al., 2002).

Por ser considerado como adubo verde natural, ao ser incorporado no solo promove a melhoria da qualidade do solo (SILVA et al., 2009), sendo de grande importância para a agroecologia, pois com isso há uma redução ou até mesmo substituição de usos de insumos químicos nitrogenados, reduzindo os custos e favorecendo ao meio ambiente.

Nos últimos tempos o cultivo do amendoim vem se destacando no Estado de Sergipe, o que acarreta um certo interesse em estudar mais sobre a cultura.

Segundo a Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO), os últimos dados da produção do amendoim no Estado, são de 2015 quando acumulou 3.824 toneladas, contra 3.572 do ano anterior. A produção se concentra na Zona Rural de 38 municípios, sendo que os cinco maiores produtores são: Itabaiana, Areia Branca, Lagarto, Moita Bonita e São Domingos. Em 2013 foi aprovado o projeto de lei nº 7.682/2013, tornando o amendoim um Patrimônio Imaterial de Sergipe, porém lei trouxe apenas impacto cultural para o estado.

Portanto o objetivo deste trabalho é conhecer os rizóbios que nodulam o amendoim em Sergipe, visando estudos posteriores com seleção e inoculação destas bactérias para diminuição de custos e aumento de produção no estado.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Sergipe, localizado no Município de São

Cristóvão/SE, no povoado Quissamã, na BR 101. Inicialmente foram coletadas amostras de solos em áreas de cultivo de amendoim, nos municípios de Capela, Estância, Itabaiana, São Cristóvão e Itaporanga.

Os solos foram dispostos em vasos de polietileno com capacidade para 5 kg, em cada vaso foram semeadas 2 sementes de amendoim da cultivar BR 1 e regadas conforme a necessidade até o período do seu florescimento. Neste momento, as plantas foram coletadas. E o sistema radicular foi lavado em água corrente. Em seguida os nódulos foram contados, pesados e armazenados. Os nódulos das plantas foram selecionados aleatoriamente hidratados por 1 hora e desinfestados superficialmente com etanol comercial por 30 segundos, hipoclorito de sódio (3% v/v) por 3 minutos, seguido de 6 lavagens em água destilada autoclavada. Na sequência os nódulos foram pegos com pinça e esmagados na placa com meio de cultura YMA com vermelho congo (VINCENT, 1970), até que o líquido do nódulo ficasse sobre o meio. Com a alça microbiológica estéril, este líquido foi espalhado nas placas de petri e as mesmas foram guardadas na incubadora por 10 dias a 28° C para o crescimento das bactérias. Sequencialmente, as colônias foram repicadas em novas placas (YMA com azul de bromotimol) para caracterização cultural das mesmas propostas por Martins et al. (1997).

A análise estatística consistiu na análise de distância euclidiana a 0,5% de probabilidade e análise de agrupamento utilizando o software estatístico STATISTICA 7.0 (STATSOFT, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os solos dos municípios escolhidos para a semeadura da cultivar BR 1, estão sumarizados abaixo (Tabela 1). Nesta tabela é possível observar que todas as plantas foram noduladas, apresentaram grande número de nódulos, porém eram pequenos, resultando em baixa massa.

**Tabela 1** - Municípios escolhidos para semeadura da cultivar BR 1, com número de nódulos e pesos.

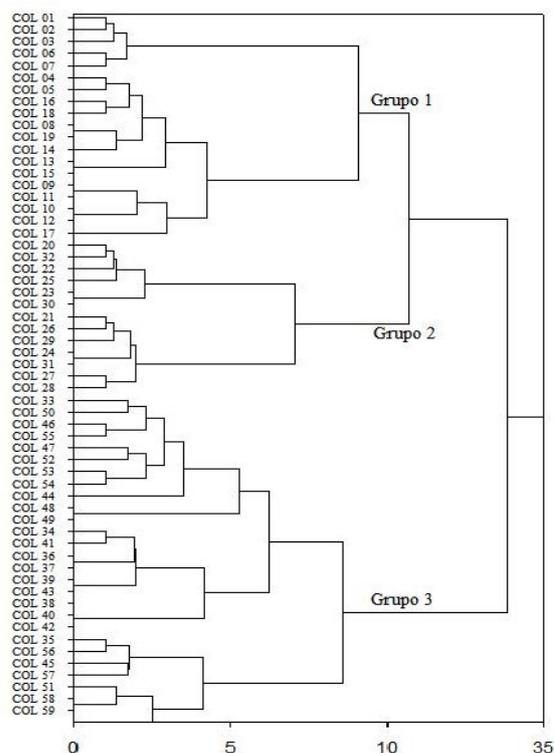
Município	Nº de Nódulos	Massa (g) dos Nódulos
Capela	380	0,588
Estância	200	0,1172
Itabaiana	320	0,440
São Cristóvão	624	0,4616
Itaporanga	328	0,2865

Foram obtidos um total de 59 isolados bacterianos, sendo que a maioria apresentou crescimento rápido, pH ácido com tamanho variando de 2-3 mm, com colônias de aspecto heterogênea, opacas com bordas lisas, de consistência seca e elevação lenticular. Estudo semelhante com rizóbios isolados de amendoim e guandu em solos do Semiárido, também mostrou predominância de bactérias com crescimento rápido e capacidade de acidificar o meio de cultura (SOUZA et al., 2014).

A caracterização fenotípica mostrou variações entre os isolados, gerando assim 38 tipos morfológicos distintos. A análise de diversidade das características morfológicas, apresentou 35% de diferença entre eles (Figura 1). No dendrograma de distância entre os isolados bacterianos, foi observado a formação de dois grandes grupos apresentando 34% de diferença entre eles por apresentarem, diferentes tamanhos, bordas, superfícies e transparências das colônias. Continuando a análise do dendrograma, é possível observar que a aproximadamente 11% de diferença, o primeiro grande grupo se dividiu e o segundo grande grupo manteve seu agrupamento.

A divisão do primeiro grupo ocorreu principalmente pela diferença de tamanho dos isolados. Em relação ao local de isolamento dessas bactérias foi observado que todos distribuíram-se aleatoriamente ao longo do dendrograma, mostrando que nenhum tipo específico de bactéria foi encontrado em apenas um local.

**Figura 1** - Dendrograma de distância euclidiana de características morfológicas dos isolados bacterianos obtidos de amendoim.



## CONCLUSÕES

Foi observado grande número de nódulos com baixo peso nas plantas de amendoim cultivadas nos diferentes solos sergipanos. A maioria das bactérias isoladas dos nódulos de amendoim apresentaram crescimento rápido, pH ácido, 2-3 mm de tamanho, aspecto heterogênea, opacas com bordas lisas, e elevação lenticular.

Foram obtidos 59 isolados que apresentaram 35% de diferença entre eles.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, A., T., E.; GONÇALVES, C.; AYRES., M., E.; PATEMIANI, G., Z; TUCCI, M., L., S., A.; CASTRO, C., E., F.; **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 7.<sup>a</sup> Ed. rev. e atual. Campinas- SP: Instituto. Agrônomo, 2014. 452 p. (Boletim IAC, n. ° 200).

- DE FREITAS, S. M. et al. Evolução do mercado brasileiro de amendoim. In: DOS SANTOS, R.C. **O agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. P. 17-44.
- FERRARI N, J.; DA COSTA, M. H. C.; CASTRO, A. S. G. Ecofisiologia do amendoim. **Rev. Scientia Agraria Paranaensis**. Volume 11, número 4, p.1-13, 2012.
- MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 1005-1.010, 1997.
- MERCANTE, F. M.; GOI, S. R.; FRANCO, A. A. Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbio. **Revista Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Série Ciências da Vida, v.22, n.1, p.65-81, 2002.
- SANTOS, R. C. dos; GODOY, J. I. de; FÁVERO, A. P. Melhoramento do amendoim. In: SANTOS, R. C. dos (Ed.). **Agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, cap. 4, p. 123-192. 2005.
- SILVA, P.C.G.; FOLONI, J.S.S.; FABRIS, L.B. & TIRITAN, C.S. Fitomassa e relação C/N em consórcios de sorgo e milho com espécies de cobertura. **Pesq. Agropec. Bras.**, 44:1504-1512, 2009.
- SOUZA, C. C. B. de et al. Caracterização fenotípica de rizóbios isolados de guandu e amendoim cultivados em solos do Semiárido. In: Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido, 8., 2013, Petrolina. **Anais Petrolina: Embrapa Semiárido**, p. 149-155. 2014.
- STATSOFT INC. (2004) Statistica (**data analysis software system**) version 7. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>. 11 de Junho de 2019.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p. (International Biological Programme Handbook, 15