

Caracterização morfológica de isolados de rizóbio em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), no Estado de Santa Catarina

Priscila Stocco¹; Julio C. P. Santos²; Vitor P. Vargas³; Diego Pasqualini¹; Mariangela Hungria⁴. ¹Mestrando em Ciência do Solo, CAV-UDESC-Centro de Ciências Agroveterinárias - Universidade do Estado de Santa Catarina; ²Professor Depto de Solos, CAV-UDESC; ³Acadêmico do Curso de Agronomia CAV-UDESC; ⁴Pesquisadora Embrapa Soja.

Introdução

No Brasil, o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ocupa lugar de destaque na agricultura, destacando-se como um produto de mercado interno, cujos grãos representam uma fonte importante de proteínas e de minerais para a população.

O feijoeiro, a exemplo de outras leguminosas, apresenta a capacidade de associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio da ordem *Rhizobiales*. Uma das principais características da simbiose no feijoeiro é a elevada promiscuidade da planta hospedeira com diversos microssimbiontes. A caracterização das propriedades morfológicas das bactérias representa um primeiro passo para o levantamento da biodiversidade, fundamental para o conhecimento das comunidades nativas de rizóbios.

Este trabalho teve como objetivo a caracterização morfológica de isolados de rizóbios, obtidos a partir de nódulos de feijoeiro coletados em diversos locais do Estado de Santa Catarina.

Material e Métodos

Foram coletados nódulos de raízes de feijoeiros, a partir de plantas, colhidas ao acaso, e amostras de solo, em 34 áreas do extremo/meio oeste e do planalto sul catarinense.

No laboratório, dez nódulos foram retirados ao acaso, procedendo-se o isolamento e obtenção de culturas puras de bactérias, de acordo com metodologia descrita por Vicent (1970). Para isso, os nódulos foram desinfestados superficialmente durante 1 minuto em álcool (95%), 5 minutos em hipoclorito de sódio comercial e lavados em água destilada/esterilizada por cinco vezes; em seguida, foram macerados com uma pinça flambada e, com uma alça de platina, repicados em meio de cultura YM contendo o corante vermelho congo. Todas as estirpes foram caracterizadas quanto à produção de muco, transparência, cor, tamanho, borda, elevação e crescimento, aos três e sete dias de crescimento. Também foi observada, a partir do quinto dia de crescimento, a acidificação ou alcalinização do meio YM contendo o indicador de pH azul de bromotimol.

O solo foi classificado conforme o mapa de classificação dos solos de Santa Catarina (Embrapa, 2006) e as análises químicas determinadas segundo os métodos propostos por Tedesco et al. (1995). A caracterização química dos solos pode ser visualizada na Tabela 1.

Resultados e Discussão

Foram obtidos 117 isolados em cultura pura com características típicas de rizóbios. Foi constatado grande variabilidade morfológica em diversos caracteres, com ênfase para a produção de muco. Os isolados apresentaram crescimento rápido, sendo possível realizar a caracterização em apenas três dias. Os grupos predominantes foram aqueles que apresentaram colônias de cor branca opaca em YMA e produção moderada de muco. Aproximadamente 97% dos isolados apresentaram reação ácida em meio YMA contendo azul de bromotimol; quanto a coloração 89% dos isolados apresentaram colônia branca opaca, 8,5% translúcida e 2,5% rosa (Tabela 2).

Estes isolados estão sendo analisados, atualmente, com o uso de marcadores moleculares, como o BOX A1R – PCR e o RFLP – PCR do gene ribossomal 16S, o que possibilitará a realização de estudos de diversidade e taxonomia.

Tabela 1. Procedência, classificação e propriedades químicas de amostras de solos coletados no estado de Santa Catarina, de onde foram obtidos os rizóbios microssimbiontes de feijoeiro.

Localização	Classificação do solo	pH (H ₂ O)	pH (KCl)	Ca*	Mg*	Al*	Na**	K**	P**	N***	% MO
1. Guatambu	Latossolo vermelho distrófico	7,02	6,47	14,34	2,81	0,30	18,0	244,0	288,53	0,0776	3,51
2. Caxambu do Sul	Nitossolo vermelho eutrófico	5,03	4,36	5,28	0,53	0,50	12,0	335,5	69,86	0,1024	3,48
3. Palmitos	Nitossolo vermelho eutrófico	6,53	5,65	15,30	5,57	0,10	21,5	878,5	1152,52	0,1440	5,50
4. Planaltina	Nitossolo vermelho eutrófico	5,29	4,64	10,80	3,05	0,40	18,0	180,0	20,16	0,1652	4,40
5. Pinhalzinho	Latossolo vermelho distrófico	5,25	4,56	6,00	1,78	0,20	16,0	392,5	33,55	0,1020	3,22
6. Peritiba	Nitossolo vermelho eutrófico	5,59	4,70	12,24	2,61	0,35	11,5	603,0	82,86	0,1602	3,36
7. Ouro	Nitossolo vermelho eutrófico	5,89	5,87	8,10	3,26	0,20	24,5	345,5	82,29	0,1228	3,16
8. Campos Novos	Latossolo vermelho distrófico	5,83	5,10	9,66	5,04	0,25	15,0	415,5	105,65	0,1544	4,62
9. Brunópolis	Latossolo bruno distrófico	4,41	3,79	3,48	0,89	2,73	9,0	182,0	29,46	0,1146	3,32
10. BR 470 km 261	Latossolo bruno distrófico	5,49	4,56	3,90	1,07	0,45	4,5	42,0	87,56	0,0812	2,83
11. Estação de Aquicultura - Lages	Cambissolo húmico textura média	6,52	5,88	9,54	3,38	0,20	6,0	44,5	656,24	0,1142	7,11
12. Painel	Latossolo bruno distrófico	4,35	3,91	2,64	0,15	1,93	13,0	150,0	88,96	0,1390	9,10
13. Cedro - Urupema	Latossolo bruno distrófico	5,42	4,98	8,88	4,18	0,40	12,0	220,5	108,16	0,2789	11,03
14. Urupema	Latossolo bruno distrófico	5,56	4,76	14,40	3,59	0,30	26,0	93,5	127,41	0,2022	7,54
15. São José do Cerrito	Nitossolo vermelho distrófico	5,98	5,51	6,48	3,85	0,15	11,0	121,0	24,24	0,2500	8,72
16. Sto Ant. Pinhos - São José do Cerrito	Nitossolo vermelho distrófico	6,06	5,21	12,06	4,74	0,30	17,0	505,5	217,89	0,1453	7,49
17. Toca da Onça - São José do Cerrito	Nitossolo vermelho distrófico	5,94	5,27	10,80	3,38	0,30	21,5	927,5	332,69	0,2121	5,47
18. Guaiabeira - São José do Cerrito	Nitossolo vermelho distrófico	5,14	4,57	7,38	3,35	0,40	15,0	451,0	25,82	0,2076	5,65
19. Salto Rio Caveiras - Lages	Latossolo bruno distrófico	5,17	4,50	5,10	2,61	0,45	15,5	310,5	35,56	0,1968	5,39
20. Urupema - 1600 m altitude	Cambissolo húmico aluminico	5,25	4,53	8,16	3,73	0,99	24,0	290,5	837,46	0,4603	6,51
21. Cadeados - Lages	Cambissolo húmico aluminico	5,40	3,79	4,20	1,16	5,11	11,5	294,5	131,19	0,1968	5,31
22. Bela Vista - Lages	Cambissolo húmico aluminico	6,17	5,44	11,82	6,46	0,20	35,5	162,0	59,78	0,2293	5,87
23. Cerro Alto - Palmeira	Cambissolo húmico aluminico	5,15	4,54	5,16	4,50	0,35	18,0	286,5	439,74	0,2220	5,05

*Teores de Ca, Mg e Al no solo (cmolc dm⁻³); **Teores de Na, K e P no solo (mg dm⁻³); ***Teor de N no solo (mg)

Tabela 2. Morfologia das colônias e reação de acidificação/alcalinização em meio YMA de rizóbios de feijoeiro do estado de Santa Catarina. Caracterização realizada aos três dias de crescimento.

Cor	Transparência	Produção de muco	Reação em meio YMA	Número de isolados
Branca	Opaca	Abundante	Ácida	7
		Moderada	Ácida	79
			Básica	2
	Pouca	Ácida	14	
		Básica	1	
		Neutra	1	
	Translúcida	Abundante	Ácida	1
Moderada		Ácida	9	
Rosa	Opaca	Pouca	Ácida	3
Total				117

Referências

EMBRAPA. **Mapa de Solos do Estado de Santa Catarina**. Disponível em: <http://mapserver.cnps.embrapa.br/website/pub/Santa_Catarina/viewer.htm>. Acesso em 25 de abril 2006.

TEDESCO, J. M.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN; H. A.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p.

VICENT, J. M. **A Manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164 p. (IBP Handbook, nº 15)