

## CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE CULTIVARES DE SOJA TRANSGÊNICA E CONVENCIONAL

CARPENTIERI-PIPOLO, V.<sup>1</sup>; HUNGRIA, M.<sup>2</sup>; NOGUEIRA, M.A.<sup>2</sup>; DEGRASSI, G.<sup>3</sup>; LOPES, K.B.A.<sup>1</sup>; ORO, T.H.<sup>1</sup>; PAGLIOSA, E.S.<sup>1</sup>; HOSHINO, R.T.<sup>1</sup>; SCHNITZER, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, Caixa Postal 451, CEP 99001-970, Passo Fundo, RS, [valeria.pipolo@embrapa.br](mailto:valeria.pipolo@embrapa.br). <sup>2</sup>Embrapa Soja, Cx. Postal 231, 86001-970, Londrina, Paraná, Brazil. <sup>3</sup>ICGEB - International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Padriciano, 99 - Trieste, Italy, [degrassi@icgeb.org](mailto:degrassi@icgeb.org).

Bactérias associadas a plantas que vivem no interior de tecidos sem causar nenhum prejuízo ao hospedeiro são denominadas de bactérias endofíticas. Algumas destas bactérias podem ter efeitos benéficos sobre o hospedeiro por promover o crescimento deste através de certos mecanismos como a síntese de ácido indolacético e através da disponibilização do fósforo adsorvido à solução do solo às plantas.

Bactérias endofíticas estão protegidas pelas plantas contra estresses ambientais e competição com outros microrganismos, todavia existem alguns fatores que podem afetar a composição da comunidade bacteriana no interior do hospedeiro, entre eles estão a espécie, tecido ou estágio de desenvolvimento do hospedeiro, alterações no metabolismo da planta e aplicações de substâncias químicas.

Com o advento da soja RR, houve um incremento no uso do herbicida glifosato na agricultura. O glifosato é um herbicida seletivo que pode induzir uma alteração na comunidade bacteriana que coloniza a planta, podendo ser nocivo para algumas espécies ou, em contrapartida, ser utilizado como fonte de energia e nutrientes por outras.

Em soja, a grande maioria dos estudos envolve a fixação de nitrogênio promovida por *Bradyrhizobium*, todavia, são necessários maiores estudos envolvendo outros gêneros de bactérias promotoras do crescimento.

Os objetivos do trabalho foram avaliar a densidade populacional bacteriana endofítica presente em raízes, caules e folhas de soja transgênica e convencional cultivadas em quatro ambientes, e caracterizar fenotipicamente os isolados quanto à promoção do crescimento de plantas.

Bactérias endofíticas foram isoladas de raízes, caules e folhas de cultivares de soja convencionais e transgênicas (RR), coletadas em Campos Novos/SC, Ponta Grossa/PR, Guarapuava/PR e Cascavel/PR, e sua densidade populacional foi estimada através da

contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) realizada com base no número de colônias por grama de peso fresco e no fator de diluição.

Os isolados recuperados foram caracterizados fenotipicamente quanto à solubilização de fosfatos (P<sub>solub</sub>), produção de ácido indolacético (AIA), exopolissacarídeos (EPS) e sideróforos (Sidero), e motilidade: swarming (Swarm) e swimming (Swim).

Em média, as cultivares RR apresentaram um maior número de UFC (5,0; 3,36 e 4,45 log<sub>10</sub> g<sup>-1</sup> peso fresco para raízes, caule e folhas, respectivamente) quando comparadas às convencionais (4,56; 2,72 e 1,93 log<sub>10</sub> g<sup>-1</sup> peso fresco para raízes, caule e folhas, respectivamente). As raízes apresentaram, em média, uma maior densidade populacional (4,78 log<sub>10</sub> g<sup>-1</sup> peso fresco) seguidas pelas folhas (3,19 log<sub>10</sub> g<sup>-1</sup> peso fresco) e caule (3,04 log<sub>10</sub> g<sup>-1</sup> peso fresco) (Figura 1).

Em média, para a maioria das características avaliadas, as raízes foram as que apresentaram o maior número de isolados, excetuando-se a produção de sideróforos e solubilização de fosfatos, onde os isolados estavam presentes, em grande parte, nas folhas (Figura 2).

Dos 223 isolados obtidos, cerca de 78% sintetizam AIA, sendo que destas, 75 foram isoladas de cultivares convencionais (42 de raízes, 18 de caules e 15 de folhas) e 97 de transgênicas (49 de raízes, 14 de caule e 34 de folhas).

Aproximadamente 43% das endofíticas estudadas solubilizam fósforo, sendo que o maior número de isolados foi encontrado nas raízes em cultivares convencionais (18 isolados) e nas folhas em cultivares transgênicas (22 isolados). Em relação ao total de bactérias avaliadas, somente 31,84% (71 isolados) produzem AIA e solubilizam fósforo, a maioria destes, isolados das cultivares RR (19,73%).

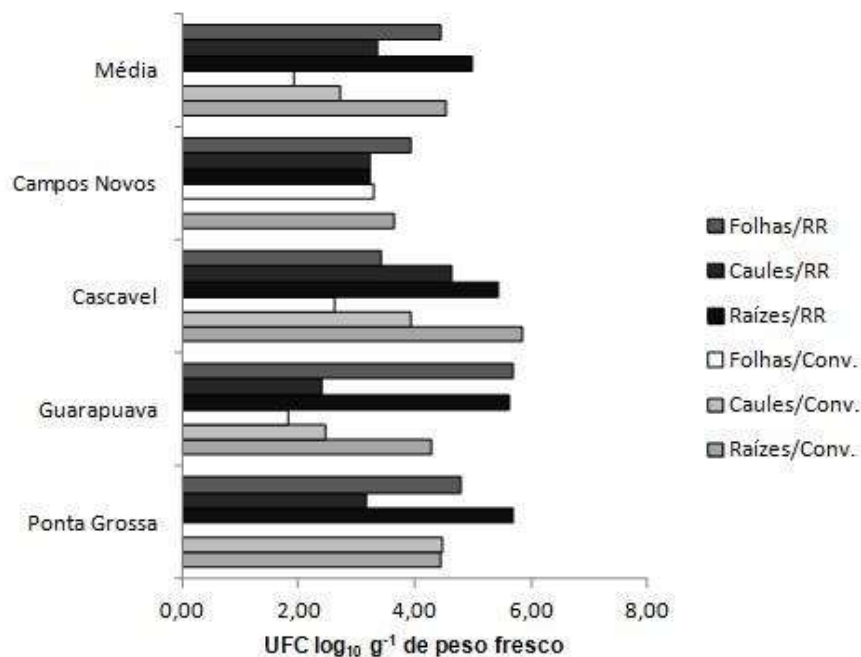
Quanto à produção de sideróforos, EPS e

motilidade verificou-se que 29,15% dos isolados produzem EPS, 8,07% produzem sideróforos, 42,60% apresentam tanto swarming quanto swimming e 40,36% dos isolados não apresentam motilidade.

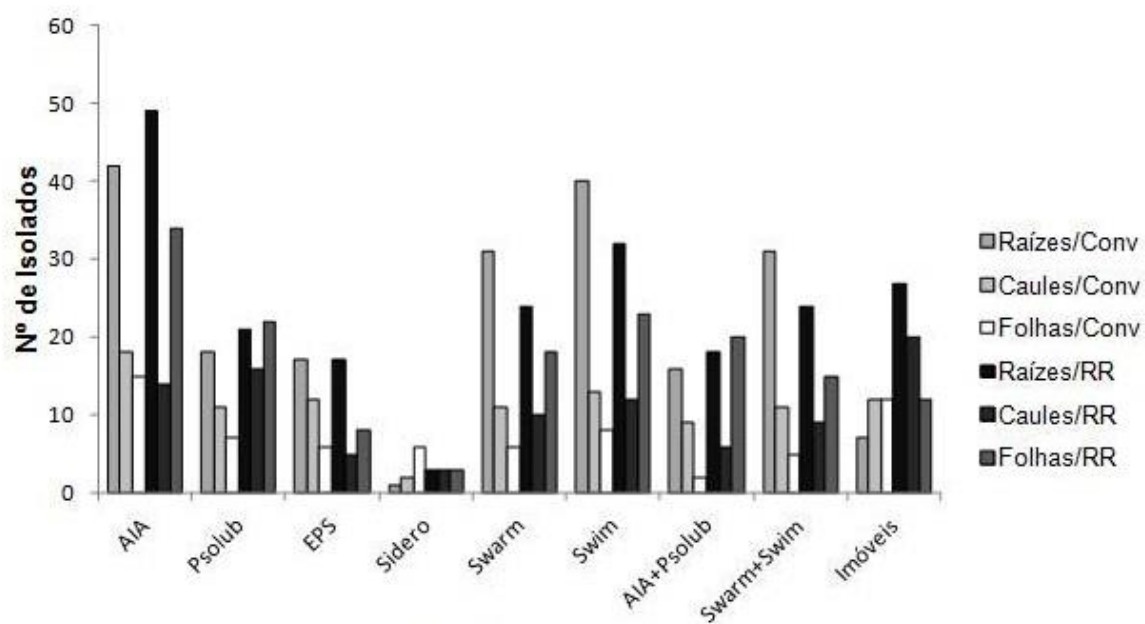
Este estudo oferece uma oportunidade inovadora para a descoberta de novas estirpes com utilidade biotecnológica para serem utilizados como inoculantes biológicos.

## Referências

- BUSSE, M. D.; RATCLIFF, A. W.; SHESTAK, C. J.; POWERS, R. F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1777-1789, 2001.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60 p.
- FATIMA, Z.; ZIA, M.; CHAUDHARY, M.F. Interactive effect of Rhizobium strains and P on soybean yield, nitrogen fixation and soil fertility. **Pak. J. Bot.**, v. 39, n. 1, p. 255-264, 2007.
- KANG, S.H.; HYUN-SOO, C.; HOON, C.; CHOONG-MIN, R.; JIHYUN, F.K.; SEUNG-HWAN, P. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper *Capsicum annuum* L.). **J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 17, n. 1, p. 96-103, 2007.
- KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W.L.; MENDES, R.; GERALDI, I.O.; PIZZIRANI-KLEINER A.A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1244-125, 2004.
- KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W.L.; MENDES, R.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. **Plant and Soil**, v. 273, p. 91-99, 2005.
- LOPER, J.E.; SCHROTH, M.N. Influence of bacterial sources of indole-2-acetic acid on root elongation of sugar beet. **Phytopathology**, v.76, p.386-389, 1986.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.170, n.1, p.265-70, 1999.



**Figura 1.** Densidade bacteriana endofítica média em raízes, caules e folhas de cultivares de soja convencionais e transgênicas (RR), cultivadas em diferentes ambientes.



**Figura 2.** Caracterização fenotípica de bactérias endofíticas isoladas de raízes, caules e folhas de soja convencional e transgênica quanto à síntese de ácido indoleacético (AIA), solubilização de fosfato (Psolub), produção de exopolissacarídeos (EPS) e sideróforos (Sidero) e motilidade: swarming (Swarm), swimming (Swim) e imóveis.