

Tolerância de rizóbios à acidez e ao alumínio

Menezes N.C.¹; Oliveira L.A.²

¹ Tecnóloga em Petróleo e Gás, Mestre em Agricultura no Trópico Úmido. ² Pesquisador - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. naramenezes19@hotmail.com
luizoli@inpa.gov.br

Resumo

A maioria dos solos amazônicos apresenta boas propriedades físicas, mas possuem alta saturação de Al e acidez, prejudiciais ao desenvolvimento de plantas. Uma alternativa para reduzir estes efeitos negativos é o uso de micro-organismos em simbiose com a planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar rizóbios capazes de tolerar a acidez e alumínio tóxico. A metodologia consistiu em avaliar 31 isolados em meios de cultura YMA com pH 4,5+Al (2 cmolc L⁻¹) e pH 6,5, atribuindo notas de crescimento que variam de 1,00 a 4,00, durante 15 dias. Os resultados mostraram que das 31 bactérias testadas, 29 apresentaram crescimento acima de 3,06 no meio controle, com pH 6,5. Quanto à tolerância ao pH 4,5+Al, somente 9 isolados mostraram crescimento superior a 3,06, sendo assim, tolerantes à acidez e alumínio. Esses isolados tolerantes às condições de acidez e toxidez de Al apresentam potencial para sobreviverem nos latossolos e argissolos da Amazônia, podendo ser usados futuramente em inoculantes para leguminosas, caso apresentem outras características agronômicas desejáveis.

Palavras-chave: Metabolismo microbiano, Ecologia microbiana, Amazônia

Introdução

O solo é um componente ambiental complexo e suas variações, no que se refere às propriedades físicas, químicas e biológicas, são definidoras de padrões ecológicos e do próprio uso da terra. Na Amazônia, cerca de 70% da região é composta por duas classes de solos, os latossolos e os argissolos (Rodrigues, 1996). Esses solos são

profundos, bem drenados e apresentam boas propriedades físicas, mas quimicamente são ácidos, com baixa fertilidade natural e alta saturação com alumínio. Os níveis tóxicos de alumínio aliados à baixa fertilidade nesses solos agem diretamente no desenvolvimento das plantas, afetando desde a raiz, nodulação, relações hídricas, redução da produção/produtividade e, portanto, a sustentabilidade. Apesar disso, estes efeitos podem ser diminuídos ou neutralizados pela calagem e adubação, atuando diretamente no solo e conseqüentemente aliviando os efeitos provocados pela baixa fertilidade e toxidez de alumínio. No entanto, a obtenção destes insumos agrícolas para o uso nos solos da Amazônia é dificultado por problemas financeiros e tecnológicos. Assim, uma alternativa para reduzir os efeitos negativos destes solos no crescimento de plantas é selecionar espécies ou cultivares mais tolerantes, aliado ao uso de micro-organismos do solo, formando associações benéficas plantas-micro-organismos. Os micro-organismos podem estabelecer relações simbióticas, como a fixação biológica de nitrogênio, podendo atuar como “facilitadores”, tornando as plantas menos dependentes de adubos químicos, permitindo, assim, uma economia desses insumos e ao mesmo tempo, uma maior produtividade dos solos. Dentre esses micro-organismos estão às bactérias nodulíferas da família Rhizobiaceae, conhecidos popularmente como rizóbios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de tolerância à acidez e alumínio de rizóbios isolados de nódulos de leguminosas em solos da Amazônia.

Material e Métodos

Foram testados 31 isolados de rizóbios da coleção do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Micro-organismos da Amazônia (LEBMAM), do INPA. Eles foram isolados de nódulos de diversas leguminosas que cresciam em latossolos e argissolos da região de Manaus. A metodologia consistiu em avaliar as bactérias em placas de Petri, contendo meios YMA (Somasegaran e Hoben, 1985), sendo um com $\text{pH}=4,5 + 2 \text{ cmol}_c \text{ Al/L} + 20\text{mL}$ de solução indicadora (bromocresol verde) para a avaliação de tolerância, permitindo assim, uma concentração de Al no meio similar à encontrada nos solos da Amazônia (Chagas Júnior *et al.*, 2009) e, um meio com $\text{pH}=6,5 + 5\text{mL}$ de indicador (solução alcoólica, contendo 0,5% de azul de bromotimol), como controle. O procedimento de repicagem e avaliação para verificar a tolerância dos isolados de rizóbios em meio com Al foi feito segundo o método de Oliveira e Magalhães (1999), que avalia o nível de crescimento bacteriano, atribuindo-se notas de 1,0 (sem crescimento visível) a 4,0 (máximo crescimento), subdivididas em 0,25, ou seja, 1,00,

1,25, 1,50, 1,75, 2,00 e etc., até 4,00, aumentando assim a precisão do método. Foram usadas para cada cultura bacteriana, quatro repetições nos dois meios. As avaliações foram realizadas a cada três dias, num total de quinze dias, sendo considerados sensíveis os isolados que apresentaram valores de 1,0 a 2,0, com tolerância média 2,06 a 3,0 e, tolerantes os que mostraram crescimentos superiores a 3,06. Os indicadores de pHs foram usados para observar se as bactérias diminuía ou aumentavam a acidez dos meios depois de crescerem.

Resultados e discussão

Ao se analisar os crescimentos dos 31 isolados no meio com pH 6,5 (controle), observou-se que oito dos isolados de rizóbios mostraram crescimento elevado aos três dias (nota acima de 3,00) após a repicagem. Aos seis dias, 26 isolados mostraram crescimento acima de 3,06. Ao término do experimento (15 dias), 29 isolados mostraram crescimento superior a 3,06, indicando crescimento elevado nesse meio de cultura, permitindo assim, avaliar suas tolerâncias ou sensibilidades à acidez e presença de Al quando essas condições foram adicionadas ao meio padrão. Os únicos isolados que apresentaram algum problema de crescimento no meio padrão, pH 6,5 foram INPA R578 e INPA R583.

No meio com pH 4,5 e Al, todos os isolados mostraram-se bem sensíveis aos três dias de crescimento, apresentando valores entre 1,00 e 1,75. A partir do sexto dia de crescimento, quatro isolados (INPA R560, INPA R582, INPA R583, INPA R588) mostraram tolerância média (2,06-3,00) e, INPA R578 e INPA R674a cresceram acima de 3,06, mostrando um crescimento diferenciado quando comparado com os outros isolados testados, demonstrando maiores níveis de tolerância ao pH 4,5+Al. Aos 15 dias foi possível selecionar 9 rizóbios: INPA R553, INPA R560, INPA R575, INPA R578, INPA R580, INPA R583, INPA R588, INPA R615, INPA R634, INPA R674a, os quais mostraram crescimento elevado no meio com pH 4,5+Al.

Verificou-se ainda, mudança de coloração do meio com pH 6,5, onde dos 31 rizóbios avaliados, 11 acidificaram levemente e 8 acidificaram totalmente o meio, enquanto que, em pH 4,5+Al não houve modificação visual do pH do meio. A visualização dessa alteração foi possível devido a utilização dos indicadores de pH.

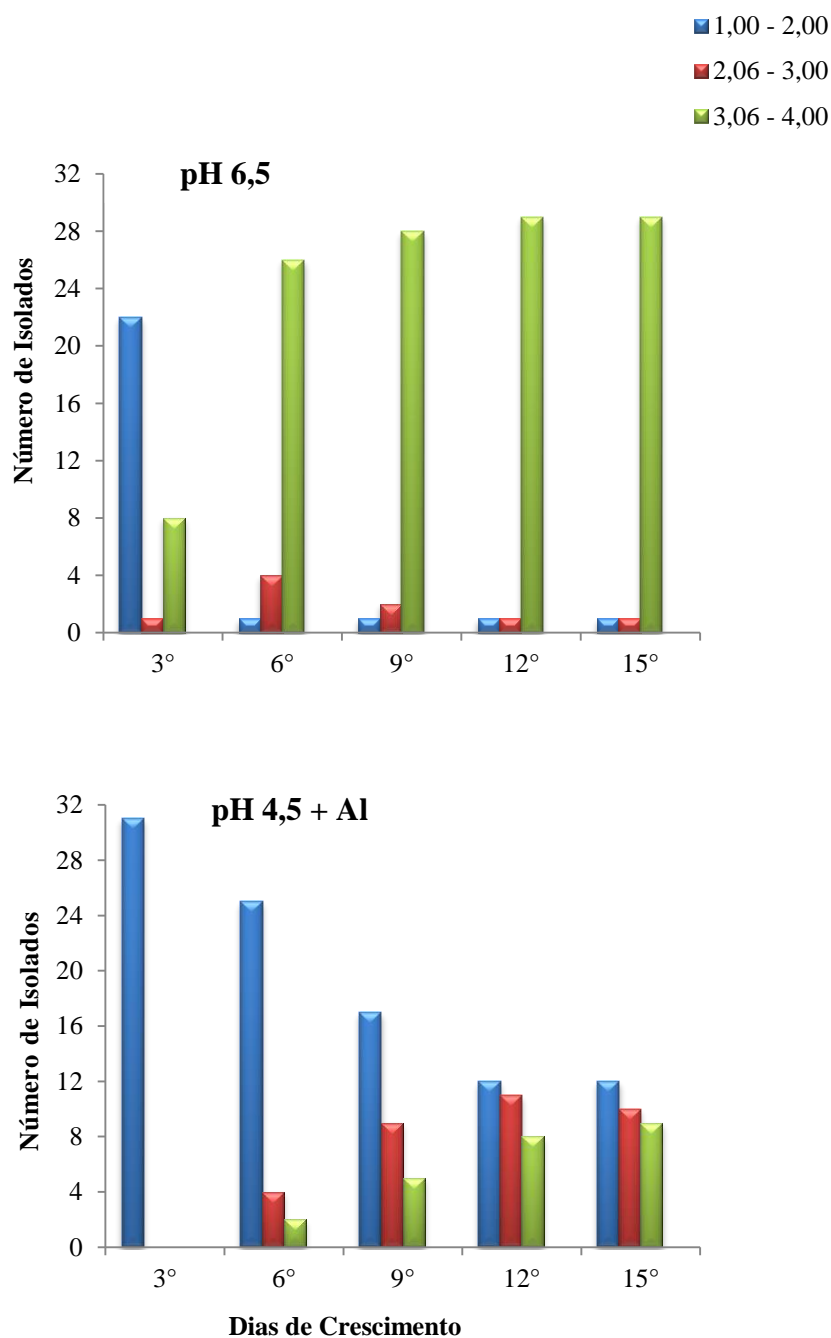


Figura 1. Crescimento dos isolados de rizóbios em placas de Petri contendo meios YMA.

Os resultados obtidos neste experimento foram diferentes dos reportados por Hara e Oliveira (2005) e Chagas Júnior *et al.* (2009), onde observou-se que parte dos isolados testados apresentaram dificuldade para crescerem em meio com pH 6,5, a partir do terceiro e sexto dia de avaliação. Segundo Campos *et al.* (2010), a capacidade desses

isolados de sobreviverem e crescerem em pH 6,5 é de grande importância, especialmente para estudos como associação com plantas em ambientes próximos à alcalinidade, tendo como referencial agrônomo, que solos com esse pH são os que apresentam maiores disponibilidades de macro e micronutrientes (Malavolta, 1976). A tolerância à acidez e alumínio, foi observado por Hara e Oliveira (2005) e Chagas Júnior *et al.* (2009) analisando-se isolados de rizóbios procedentes de solos da Amazônia, um dos motivos para estes isolados não tenham obtido um bom crescimento é que alguns processos citoplasmáticos da bactéria sejam sensíveis a tais fatores. E o crescimento dos isolados no meio aumentou com o tempo de exposição às condições de estresse. Essa capacidade de tolerar o meio com pH 4,5+Al, de acordo com Graham *et al.* (1994), está relacionada à habilidade de manter o pH intracelular entre 7,2 e 7,5 quando o pH externo é ácido. O tempo de crescimento dos rizóbios pode ser usado para seleção, sendo considerados mais tolerantes em pH 4,5+Al, os isolados que apresentarem notas acima de 3,06, em menor período de tempo. Quanto à capacidade de acidificar o meio com pH 6,5, Chagas Júnior *et al.* (2009) também observaram isso estudando outros rizóbios isolados de diferentes solos da Amazônia. Este processo de alteração do pH ocorre devido à produção de ácidos orgânicos liberados pelas bactérias ao crescerem no meio de cultura. Os isolados tolerantes a pH 4,5+Al apresentam-se promissores, porém, necessitam ser testados em solos com essas características e, ainda, em simbiose com a planta na presença desses fatores limitantes.

Conclusão

Dos 31 isolados de rizóbios testados, 29% mostraram-se tolerantes ao pH 4,5 e presença de 2,0 cmol_c de Al⁺³ L⁻¹ em placas de Petri com meio YMA, indicando potencial para serem testados em latossolos e argissolos amazônicos com essas características químicas.

Referências

Campos LL, Martins ME, Elias Neto N, Loureiro MF (2010) Caracterização fisiológica de rizóbios isolados de nódulos de raiz e caule de *Discolobium spp.* *Scientia Agraria Paranaensis*, 9(3):75-84.

Chagas Júnior AF, Oliveira LA, Oliveira NA (2009) Tolerância à acidez e alumínio tóxico por isolados de rizóbios de solos no Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 39(2):467 – 470.

Graham PH, Draeger KJ, Ferrey ML, Conray MJ, Hammer BE, Martinez E, Aarons SR, Quintino C (1994) Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR 1899. *Canadian Journal of Microbiology*, 40: 198-207.

Hara FAS, Oliveira LA (2005) Características fisiológicas e ecológicas de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40: 667-672.

Malavolta E (1976) Manual de química agrícola: nutrição de plantas e fertilidade do solo. São Paulo: Agronômica Ceres.

Oliveira LA, Magalhães HP (1999) Quantitative evaluation of acidity tolerance of root nodule bacteria. *Revista de Microbiologia*, 30:203-208.

Rodrigues TE (1996) Solos da Amazônia, p.19-60. In: Alvarez VH, Fontes LEF, Fontes MPF (Eds.). O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. UFV/DPS/SBCS, Viçosa, MG.

Somasegaran P, Hoben JH (1985) Methods in legume-Rhizobium technology. NifTAL Project and MIRCEN, Paia, Hawaii. 367 p.