

## **DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS EM ESPÉCIES DE LEGUMINOSAS: ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL NA PRODUÇÃO ANIMAL**

Patrícia Cristina de Oliveira dos Santos<sup>1</sup>

Camila Cristina Alves<sup>1</sup>

Flávia Romam da Costa Souza<sup>2</sup>

Ligiane Aparecida Florentino<sup>3</sup>

### **Conservação de solos e Recuperação de áreas degradadas (RAD)**

#### *Resumo*

O cultivo consorciado de leguminosas e gramíneas é um sistema de produção animal que estimula a diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio que atuam em associação simbiótica com espécies de leguminosas, reduzindo a utilização de adubos nitrogenados químicos. A utilização de leguminosas melhoram a qualidade do solo, a nutrição e o bem estar animal. Assim, o objetivo da pesquisa foi analisar a diversidade de rizóbios em nódulos de siratro, gliricídia e leucena. Os nódulos isolados das raízes dessas três leguminosas do estado de MG foram lavados, desinfestados durante 30 segundos no álcool etílico, lavados durante 3 minutos em peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e depois em água destilada autoclavada. Foram esmagados em placa de Petri contendo meio de cultura 79 e incubadas por 10 dias a 28° C. Posteriormente foram repicadas para novas placas e avaliadas quanto a suas características morfológicas (tempo de crescimento, cor, pH do meio, diâmetro e a quantidade de EPS) que foram expostas por meio de um dendrograma de dissimilaridade construído por meio de uma matriz binária com o auxílio do programa estatístico R. Foram obtidos um total de 70 estirpes bacterianas, sendo 25 pertencentes ao Siratro, 21 a Gliricídia e 24 a Leucena. O dendrograma mostrou uma variação de mais de 40% de diferença entre os isolados. Também foi possível observar três grandes grupos gerados pela diversidade das características, possuindo aproximadamente 35% de similaridade. Todas as bactérias apresentaram crescimento rápido e diversidade dentre as outras características avaliadas, evidenciando a característica promíscua das leguminosas estudadas.

**Palavras-chave:** Sistema silvipastoris; Fixação biológica de nitrogênio; Consórcio de pastagens; Melhoria da nutrição de ruminantes; Associação simbiótica em pastagens.

<sup>1</sup>Aluna (s) do Curso (graduação em Agronomia), Universidade José do Rosário Vellano-UNIFENAS, Ciências Agrárias, patricia.santos@aluno.unifenas.br; camila.cristina@aluno.unifenas.br

<sup>2</sup>Aluna do Curso (doutorado em Agricultura Sustentável), Universidade José do Rosário Vellano-UNIFENAS, Ciências Agrárias, flavia.souza@aluna.unifenas.br.

<sup>3</sup>Profª. Dra. Universidade José do Rosário Vellano-UNIFENAS - Ciências Agrárias (Agronomia), ligiane.florentino@unifenas.br.



## INTRODUÇÃO

Tratar a pastagem como cultura, nos leva a buscar manejá-la de forma a alcançar produtividade associada à sustentabilidade. O cultivo consorciado de leguminosas e gramíneas é uma opção de sistema no país, visto que estimulam a diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio que atuam em associação simbiótica com espécies de leguminosas como *Leucaena leucocephala* (Leucena), *Gliricidia sepium* (Gliricídia) e *Macroptilium atropurpureum* (Siratro), sendo necessário mais estudos.

Essa associação é benéfica e natural para ambos, as bactérias fixadoras de nitrogênio dos nódulos radiculares, por meio do complexo enzimático nitrogenase rompem a tripla ligação das moléculas do gás dinitrogênio (N<sub>2</sub>) tornando-o acessível para o metabolismo vegetal e em troca, a planta fornece fotoassimilados, levando a uma economia da adubação nitrogenada via adubação química.

Dentre as leguminosas com grande potencial de uso na produção animal, podemos destacar a gliricídia, a qual contribui para a formação de biomassa repondo os nutrientes do solo, o siratro que tem sido usado em sistema de consorciação, além de bancos de proteínas e a leucena com seu potencial produtivo muito além da consorciação, usadas como cercas vivas, banco de proteínas, apresentando-se como alternativa para a seca. Portanto, melhoram a qualidade do solo e as características nutricionais em relação as gramíneas, visto que os teores de proteínas das gramíneas caem abaixo do limite tolerável de 8%, além de proporcionar bem estar animal nos sistemas silvipastoris (NAIR, 1985).

Nesse sentido, isolar e caracterizar rizóbios nativos encontradas nos nódulos das raízes dessas leguminosas são de extrema importância para a reprodução delas para o uso na pecuária. Baseado nisso, o objetivo da pesquisa foi analisar a diversidade de rizóbios em nódulos de siratro, gliricídia e leucena.

## METODOLOGIA

Os nódulos foram isolados de raízes de três leguminosas, Gliricídia (*Gliricidia sepium*), no município de Poço Fundo (Latitude: 21° 46' 59" Sul, Longitude: 45° 57' 13" Oeste), Siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e Leucena (*Leucaena leucocephala*) no

município de Machado (Latitude: 21° 39' 40" Sul, Longitude: 45° 55' 30" Oeste), ambos localizados na região Sul do estado de Minas Gerais.

Os nódulos das plantas foram separados cuidadosamente das raízes, lavados em água corrente com o auxílio de uma peneira e em seguida foram colocados durante 30 segundos no álcool etílico e lavados durante 3 minutos em peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Após esses processos, os nódulos foram lavados em água destilada autoclavada, repetindo o processo por seis vezes (VINCENT, 1970). Posteriormente, foram pegos por meio de pinça autoclavada e esmagados na placa contendo meio de cultura 79 (FRED e WAKSMAN, 1928) até o líquido do nódulo ficasse sobre o meio possibilitando espalhá-lo com alça microbiológica autoclavada. Essas placas foram incubadas por 10 dias a 28° C para o crescimento das colônias.

Após o período de incubação, essas colônias foram repicadas para novas placas contendo meio 79 para serem avaliadas quanto a sua caracterização morfológica. Foi avaliado o tempo de crescimento (rápido, intermediário ou lento), a cor (amarela, branca ou creme), o pH do meio (neutro, alcalino ou ácido), o diâmetro e a quantidade dos exopolissacarídeos (EPS).

Para agrupá-las quanto as suas características foi realizado um dendrograma de dissimilaridade construído por meio dos resultados das avaliações transformados em matriz binária de presença e ausência de dados, denominadas de 1 e 0, respectivamente. Essa matriz binária foi analisada estatisticamente e o dendrograma foi construído pelo algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages*) com o auxílio do programa R Core Team (2021) e o pacote *Multivariate Analysis* (2021).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos um total de 70 estirpes bacterianas, sendo 25 pertencentes ao Siratro, 21 a Gliricídia e 24 a Leucena, pode-se observar que todas elas apresentaram crescimento rápido. A maioria apresentou coloração amarela, mas houve variação entre creme ou branca. A maioria apresentou produção de exopolissacarídeos (EPS) intermediário, mas houve estirpes que apresentaram pouco ou até mesmo abundante. A produção de EPS pelas colônias de bactérias evita a perda de água, protegendo suas células e conferindo

adaptabilidade as condições do meio (XAVIER et al., 2007), bem como o crescimento em diferentes faixas de pH, é uma característica observada em bactérias diazotróficas (FLORENTINO et al, 2012). Quanto ao pH, houve diversidade, variando entre ácido, básico e alcalino. O diâmetro das colônias variou entre <1 e 3 mm.

Por meio dessa caracterização fenotípica foi possível observar que houve variações entre os isolados mostrando diferentes morfotipos. A análise de diversidade das características morfológicas (dendrograma) por dissimilaridade mostrou uma variação de mais de 40% de diferença entre os isolados (Figura 1). Também foi possível observar três grandes grupos gerados pela diversidade das características, possuindo aproximadamente 35% de similaridade.

Em relação as espécies de leguminosas de isolamento dessas estirpes foi observado que todas distribuíram-se aleatoriamente ao longo do dendrograma, impossibilitando a identificação de uma estirpe de característica específica de determinada espécie de leguminosa, evidenciando a característica promíscua dessas plantas, podendo estabelecer simbiose com diferentes estirpes de rizóbios.

Essa diversidade de rizóbios, garante a redundância funcional e com isso a resiliência do sistema (JURBURG e SALLES, 2015), portanto apresenta-se como um fator de grande importância para o manejo da produção animal, garantindo maiores produtividades de maneira sustentável, em que visa, principalmente, redução da utilização de adubação nitrogenada química e a conservação do solo.

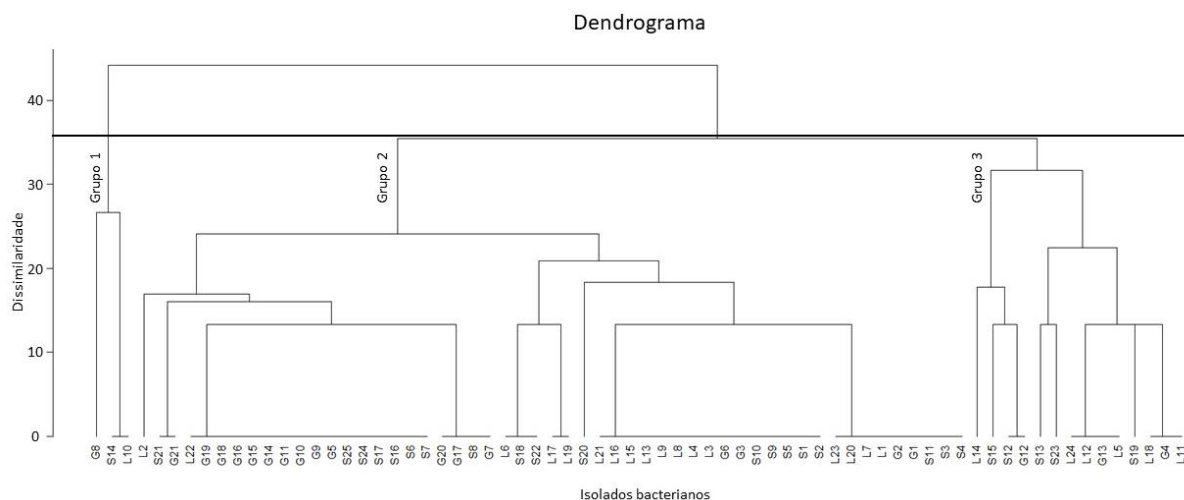


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade de características morfológicas dos isolados bacterianos obtidos

de Siratro, Gliricídia e Leucena. Isolados com iniciais S pertencem ao Siratro, G a Gliricídia e L a Leucena.

## CONCLUSÕES

Todas as bactérias apresentaram crescimento rápido e diversidade dentre as outras características avaliadas, evidenciando a característica promíscua das leguminosas estudadas.

## REFERÊNCIAS

AZEVEDO, A. M. **Multivariate Analysis: Pacote Para Análise Multivariada**. R package version 0.1.1., 2021.

BARBOSA, R. A.; SANTOS, C. S.; RITÁ, F. S. **Manual Básico para Elaboração do Resumo Expandido e Trabalho Completo**. 4. ed. Poços de Caldas: Congresso Nacional do Meio Ambiente. 2021. 13p., ISSN on-line N° 2317-9686 – V. 13 N.1 2021.

FLORENTINO, L. A. et al. **Physiological and symbiotic diversity of Cupriavidus necator strains isolated from nodules of Leguminosae species**. *Soils and Plant Nutrition*, Sci. agric. (Piracicaba, Braz.) V. 69, 2012.

FRED, E. B. e WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology with special reference to the microorganisms of the soil** New York: McGraw-Hill Book Company, 145p, 1928.

JURBURG, S. D. e SALLES, J. F. **Functional redundancy and ecosystem function - The soil microbiota as a case study**. In: LO YH et al. *Biodiversity in ecosystems - linking structure and function*. Rijeka: Intech. p. 29-49, 2015.

NAIR, P. K. R. **Classification of agroforestry systems**. *Agroforestry Systems*, v.3, n.2, p.97-128, 1985.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021. URL <https://www.R-project.org/>.

VINCENT, J. M. **A manual for practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 140 p. (IBP Handbook, n. 15), 1970.

XAVIER, G. R. et al. **Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e temperatura em condições *in vitro***. *Revista Caatinga*, v. 20, n. 4, p. 1-9, 2007.