

**Caracterização Fenotípica de
Bactérias Diazotróficas Associadas
a *Tripogon spicatus* no Bioma Caatinga**



ISSN 1808-9968

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 98

Caracterização Fenotípica de Bactérias Diazotróficas Associadas a *Tripogon spicatus* no Bioma Caatinga

*Paulo Ivan Fernandes Júnior
Saulo de Tarso Aidar
Carlos Alberto Tuão Gava
Jerrí Édson Zilli
Lindete Míria Vieira Martins*

Embrapa Semiárido
Petrolina, PE
2012

Esta publicação está disponibilizada no endereço: www.cpatosa.embrapa.br

Embrapa Semiárido

BR 428, km 152, Zona Rural
Caixa Postal 23 CEP 56302-970 Petrolina, PE
Fone: (87) 3866-3600 Fax: (87) 3866-3815
sac@cpatsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Maria Auxiliadora Coelho de Lima
Secretário-Executivo: Anderson Ramos de Oliveira

Membros: Ana Valéria Vieira de Souza

Andréa Amaral Alves
Gislene Feitosa Brito Gama
José Maria Pinto
Juliana Martins Ribeiro
Magna Soelma Beserra de Moura
Mizael Félix da Silva Neto
Patrícia Coelho de Souza Leão
Sidinei Anunciação Silva
Vanderlise Giongo
Welson Lima Simões

Supervisão editorial: Sidinei Anunciação Silva
Revisão de texto: Sidinei Anunciação Silva
Normalização bibliográfica: Helena Moreira de Queiroga
Tratamento de ilustrações: Paulo Ivan Fernandes Júnior
Editoração eletrônica: Nivaldo Torres dos Santos
Foto(s) da capa: Paulo Ivan Fernandes Júnior

1ª edição (2012): formato digital

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

É permitida a reprodução parcial do conteúdo desta publicação desde que citada a fonte.

**CIP. Brasil. Catalogação na Publicação
Embrapa Semiárido**

Caracterização fenotípica de bactérias diazotróficas associadas a *Tripogon spicatus* no Bioma Caatinga / Paulo Ivan Fernandes Júnior... [et al.]. – Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012.

19 p. (Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 98).

1. Fixação assimiótica de nitrogênio. 2. Bioma Caatinga. 3. Inoculação. 4. Gramínea. I. Título. II. Série.

CDD 631.847

© Embrapa 2012

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	10
Conclusões	17
Referências	17

Caracterização Fenotípica de Bactérias Diazotróficas Associadas a *Tripogon spicatus* no Bioma Caatinga

*Paulo Ivan Fernandes Júnior*¹; *Saulo de Tarso Aidar*²; *Carlos Alberto Tuão Gava*³; *Jerri Édson Zilli*⁴; *Lindete Míria Vieira Martins*⁵

Resumo

O objetivo deste trabalho foi caracterizar fenotipicamente bactérias diazotróficas isoladas de exemplares da gramínea tolerante à dessecação, *Tripogon spicatus*, oriundos da Caatinga. As bactérias foram isoladas de solo rizosférico e de raízes de *T. spicatus* utilizando-se o meio de cultura BMGM semissólido para a obtenção de isolados capazes de fixar o nitrogênio atmosférico em condições microaerofílicas. Os tubos inoculados, onde foi possível observar a película característica para a fixação biológica do N em meio semissólido, foram utilizados para a obtenção dos isolados que foram purificados em meio de cultura Dyg's sólido e avaliados quanto às principais características culturais. Para cada uma das características, a diferença do número de isolados entre o solo rizosférico e a raiz foi avaliada através do teste F. Foi possível observar uma grande variabilidade fenotípica dos isolados, havendo diferença significativa

¹Biólogo, D.Sc. em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, paulo.ivan@embrapa.br

²Biólogo, D.Sc. em Fisiologia Bioquímica de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, saulo.aidar@embrapa.br

³Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, carlos.gava@embrapa.br.

⁴Licenciado em Ciências Agrícolas, D.Sc. em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, jerri.zilli@embrapa.br

⁵Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciência do Solo, professora da Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, BA, mirialind@yahoo.com.br

para seis dentre as oito características avaliadas. Esses resultados indicam que existe grande variabilidade entre os 67 isolados avaliados e demonstram a presença de comunidades bacterianas distintas habitando o sistema radicular e o solo rizosférico de *T. spicatus* na Caatinga.

Palavras-chave: fixação biológica de nitrogênio, bactérias associativas, biodiversidade, tolerância à dessecação, Semiárido.

Phenotypic Characterization of Diazotrophic Bacteria Associated to *Tripogon spicatus* in Caatinga Biome

Paulo Ivan Fernandes Júnior; Saulo de Tarso Aida; Carlos Alberto Tuão Gava; Jerri Édson Zilli; Lindete Míria Vieira Martins

Abstract

The aim of this work was to characterize phenotypically diazotrophic bacteria isolated from desiccation tolerant grass *Tripogon spicatus* at Caatinga biome. The bacteria were isolated from rhizospheric soil and from roots of *T. spicatus* using the semi-solid medium BMGM to obtain bacteria able to fix the atmospheric nitrogen in microaerophilic conditions. The inoculated tubes where possible to observe the characteristic pelicle to the biological nitrogen fixation at the semi-solid medium were used to the obtainment of the isolates that were purified in Dyg's solid medium and were evaluated regarding its mean cultural features. For each characteristic evaluated, the differences of the isolates number (between rhizospheric soil and roots) were compared through F test. It was possible to observe a great phenotypical variability among the diazotrophic isolates and statistical differences was observed in six of eight characteristics evaluated. This results indicate that there is a great variability among the 67 bacterial isolates evaluated showing the presence of different bacterial communities inhabiting the root system and the rhizospheric soil of *T. spicatus* at Caatinga.

Keywords: biological nitrogen fixation, associative bacteria, biodiversity, desiccation tolerance, Semi-arid.

Introdução

As espécies vegetais da Caatinga possuem mecanismos de adaptação às condições do Semiárido. Algumas delas apresentam a capacidade de manter seus tecidos vegetativos viáveis por longos períodos de tempo mesmo após desidratação extrema e retomada do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo durante os períodos de chuva (GAFF, 1987; RAWITSCHER et al., 1952). Plantas que apresentam essa capacidade são conhecidas como tolerantes à dessecação (BEWLEY; KROCHKO, 1982; FARRANT; MOORE, 2011; OLIVER; BEWLEY, 1997; RASCIO; ROCCA, 2005;).

Além dos mecanismos fisiológicos de tolerância às condições ambientais, as espécies vegetais podem ser influenciadas na sua adaptação a diferentes ambientes pela associação com micro-organismos (GROVER et al., 2011). Essa associação, já bem conhecida e caracterizada para espécies vegetais cultivadas, pode influenciar na adaptação a ambientes submetidos a estresses – hídrico, salino, térmico, etc. – (GROVER et al., 2011). Entretanto, para plantas nativas, essas associações têm sido pouco estudadas.

As gramíneas (Poaceae) representam uma família botânica com capacidade de se associar com uma grande variedade de espécies de bactérias diazotróficas. Essas associações têm sido estudadas e caracterizadas para diversas culturas no Brasil, como cana-de-açúcar, milho, arroz, dentre outras (BALDANI; BALDANI, 2005; BALDANI et al., 2009). Para as gramíneas que ocorrem em seu ambiente nativo, esses estudos foram conduzidos em biomas como o Pantanal (BRASIL et al., 2005), Amazônia (FERNANDES JÚNIOR et al., 2010) e mais recentemente na Caatinga (FERNANDES JÚNIOR et al., 2011).

Tripogon spicatus (Nees) Ekman (1912) é uma espécie de gramínea tolerante à dessecação que ocorre na Caatinga e em outras localidades da América do Sul, como na Argentina (GAFF, 1987). Sua distribuição

se estende também pelas ilhas do Caribe, México e Sul dos Estados Unidos, principalmente em afloramentos rochosos e em áreas arenosas ou com solos rasos, tais como os Neossolos Litólicos (BARKWORTH et al., 2007). A tolerância à dessecação de tecidos vegetativos apresentada por *T. spicatus* é explicada por um conjunto de diferentes mecanismos celulares de proteção e reparo contra estresses mecânicos, ultraestruturais e oxidativos (BEWLEY; KROCHKO, 1982; FARRANT; MOORE, 2011; OLIVER; BEWLEY, 1997; RASCIO; ROCCA, 2005;).

Poucos estudos foram conduzidos para avaliar a ocorrência de microorganismos benéficos associados a *T. spicatus*. Em uma avaliação preliminar, Fernandes Júnior et al. (2011) avaliaram a ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a *T. spicatus* na Caatinga e demonstraram que essa espécie apresenta grande diversidade de bactérias diazotróficas, tanto endofíticas como rizosféricas, que apresentaram baixa similaridade fenotípica com bactérias associativas bem estudadas como *Azospirillum brasilense*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Burkholderia tropica* e *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Tais resultados indicam que novas taxa bacterianas podem ser encontrados em associação com *T. spicatus*.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar fenotipicamente os isolados de bactérias diazotróficas provenientes de raízes e de solo rizosférico de *T. spicatus*.

Material e Métodos

Plantas sadias de *T. spicatus* foram coletadas em uma área de Caatinga hipoxerófila no distrito de Baixa do Juremal, Município de Lagoa Grande, Sertão de Pernambuco, no mês de maio de 2011. As plantas foram amostradas em quatro diferentes pontos, localizados entre 8° 48' 11,6" e 8° 48' 23,9" de latitude Sul e 40° 14' 48,4" e 40° 14' 58,7" de longitude Oeste. Em cada ponto foi coletada uma amostra composta

de, pelo menos, cinco amostras simples, constituídas de uma planta e o respectivo solo rizosférico. A coleta das plantas juntamente com o solo rizosférico foi realizada com auxílio de uma pá de forma a manter o sistema planta-raiz-solo intacto. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Semiárido e armazenadas a 4 °C até o processamento do material.

Para o isolamento e purificação das bactérias diazotróficas utilizou-se a metodologia proposta Döbereiner et al. (1995). O solo rizosférico foi cuidadosamente separado das raízes e as plantas foram lavadas em água corrente e, posteriormente, com água destilada esterilizada. Foram pesadas, em triplicata, 10 g de cada amostra de raiz ou de solo rizosférico. Cada triplicata foi colocada em 90 mL de NaCl 0,85%, sendo as raízes trituradas em miniprocessador. As suspensões permaneceram em repouso por 1 hora e posteriormente foram diluídas em série em NaCl (0,85%) até 10^{-7} . Uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi inoculada em triplicata em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio de cultura isento de nitrogênio BMGM semissólido (ESTRADA DE LOS SANTOS et al., 2001) e incubadas por 7 dias a 30 °C.

Todas as triplicatas de cada uma das três diluições menos concentradas onde ocorreu a formação da película, característica do crescimento de bactérias diazotróficas e FBN em condições microaerófilas, foram inoculadas novamente no meio semissólido e incubadas por 7 dias a 30 °C. As repetições que voltaram a apresentar a formação de película foram inoculadas em placas de Petri contendo meio Dyg's sólido (RODRIGUES NETO et al., 1986) e incubadas a 30 °C por um período de 2 a 3 dias. Para obtenção de culturas puras, as bactérias foram novamente inoculadas em placas contendo o mesmo meio e reinoculadas em duplicata no meio BMGM semissólido para a confirmação de crescimento em meio isento de nitrogênio e em condições microaerófilas.

A caracterização cultural dos isolados foi realizada em meio Dyg's. As variáveis avaliadas foram: tamanho da colônia (em mm), cor, forma da colônia (circular ou irregular), opacidade da colônia (opaca, translúcida ou transparente), elevação da colônia (plana ou elevada), aparência da colônia (homogênea ou heterogênea, referente ao aspecto dos exopolissacarídeos nas colônias isoladas), aparência do muco produzido (homogêneo ou heterogêneo, referente ao aspecto dos exopolissacarídeos no crescimento bacteriano concentrado, ou seja, na região da placa onde não há colônias isoladas) e quantidade de muco produzido na placa (pouca, mediana ou elevada).

Para a comparação dos resultados entre os habitats estudados – solo rizosférico e sistema radicular –, os dados relativos ao número de isolados foram tabulados em função dos quatro pontos de coleta e, para cada característica observada, foi feita a comparação com o teste F com $p < 0,10$ (FERNANDES JÚNIOR et al., 2011; PEREIRA et al., 2011).

Resultados e Discussão

Foram obtidos 67 isolados bacterianos em meio de cultura isento de nitrogênio BMGM semissólido que apresentaram elevada diversidade nas suas características fenotípicas. O crescimento bacteriano em meio livre de nitrogênio em condições microaerofílicas sugere a ocorrência da capacidade de fixação biológica de nitrogênio (SILVA; MELLONI, 2011). A relação dos isolados e das características avaliadas podem ser visualizadas na Tabela 1. Todos os isolados bacterianos apresentaram colônias visíveis até o terceiro dia após a inoculação no meio Dyg's.

Tabela 1. Características culturais de bactérias diazotróficas isoladas de solo rizosférico e de raízes de *T. spicatus* na Caatinga.

Isolado	Origem	Diâmetro da colônia	Cor da colônia	Forma da colônia	Opacidade da colônia	Elevação da colônia	Aparência da colônia	Aparência do muco	Produção de muco
ESA0001	raiz	3 mm	laranja	irregular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0002	raiz	3 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0003	raiz	3 mm	creme	circular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0004	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	mediana
ESA0005	raiz	2 mm	laranja	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0006	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0007	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0008	raiz	3 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	heterogênea	mediana
ESA0009	raiz	2 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0010	raiz	2 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0011	raiz	4 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0012	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0013	raiz	2 mm	creme	circular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0014	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0015	raiz	3 mm	creme	circular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0016	raiz	1 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0017	raiz	2 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0018	raiz	3 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	mediana
ESA0019	raiz	3 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	mediana
ESA0020	raiz	3 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0021	raiz	4 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0022	raiz	5 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	mediana

Continua...

Continuação.

Isolado	Origem	Diâmetro da colônia	Cor da colônia	Forma da colônia	Opacidade da colônia	Elevação da colônia	Aparência da colônia	Aparência do muco	Produção de muco
ESA0023	raiz	2 mm	bege	circular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0024	raiz	1 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0025	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0026	raiz	< 1 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0027	raiz	< 1 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0028	raiz	2 mm	laranja	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0029	raiz	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0030	raiz	2 mm	laranja	circular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0031	raiz	1 mm	creme	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0032	raiz	2 mm	amarela	irregular	translúcida	côncava	homogênea	heterogênea	pouca
ESA0033	raiz	3 mm	laranja	irregular	translúcida	plana	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0034	raiz	1 mm	amarela	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0035	raiz	3 mm	creme	circular	opaca	plana	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0036	raiz	3 mm	creme	circular	opaca	plana	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0037	solo	1 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0038	solo	3 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0039	solo	2 mm	creme	irregular	transparente	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0040	solo	2 mm	bege	circular	transparente	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0041	solo	2 mm	bege	circular	transparente	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0042	solo	3 mm	amarela	irregular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0043	solo	3 mm	amarela	circular	opaca	côncava	heterogênea	homogênea	mediana
ESA0044	solo	2 mm	bege	circular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0045	solo	2 mm	bege	circular	transparente	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca

Continua...

Continuação.

Isolado	Origem	Diâmetro da colônia	Cor da colônia	Forma da colônia	Opacidade da colônia	Elevação da colônia	Aparência da colônia	Aparência do muco	Produção de muco
ESA0046	solo	2 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0047	solo	1 mm	creme	irregular	translúcida	plana	homogênea	homogênea	pouca
ESA0048	solo	1 mm	bege	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0049	solo	2 mm	creme	circular	transparente	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0050	solo	2 mm	bege	circular	translúcida	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0051	solo	4 mm	bege	circular	opaca	côncava	heterogênea	homogênea	mediana
ESA0052	solo	4 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	heterogênea	abundante
ESA0053	solo	3 mm	bege	circular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0054	solo	2 mm	bege	circular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0055	solo	2 mm	bege	irregular	translúcida	plana	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0056	solo	5 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	mediana
ESA0057	solo	2 mm	creme	circular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0058	solo	4 mm	bege	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	mediana
ESA0059	solo	2 mm	creme	irregular	translúcida	plana	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0060	solo	1 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	heterogênea	pouca
ESA0061	solo	3 mm	creme	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0062	solo	2 mm	creme	circular	translúcida	côncava	heterogênea	homogênea	pouca
ESA0063	solo	3 mm	creme	irregular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0064	solo	3 mm	amarela	circular	opaca	côncava	homogênea	homogênea	pouca
ESA0065	solo	2 mm	laranja	circular	translúcida	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0066	solo	3 mm	bege	irregular	opaca	côncava	heterogênea	heterogênea	pouca
ESA0067	solo	3 mm	laranja	circular	opaca	côncava	heterogênea	homogênea	pouca

Com relação ao tamanho das colônias, a maioria dos isolados (50) apresentou colônias com tamanho entre 2 mm e 3 mm, enquanto dez apresentaram colônias com diâmetros de até 1 mm e sete com diâmetros iguais ou superiores a 4 mm (Tabela 2). Comparando-se a origem dos isolados foi possível observar que houve mais bactérias com diâmetros entre 2 mm e 3 mm associadas ao sistema radicular do que em solo rizosférico, de acordo com o teste F (Tabela 2).

Com relação à coloração das colônias, 42 apresentaram coloração creme, 13 bege, enquanto apenas sete e cinco apresentaram coloração laranja e amarela, respectivamente (Tabela 2). A análise estatística demonstrou que, também para a característica coloração das colônias, há diferença de acordo com a origem dos isolados, uma vez que as colônias de coloração creme foram mais abundantes nas raízes, enquanto as de coloração bege no solo rizosférico.

O formato da borda das colônias também diferiu entre as comunidades bacterianas dos habitats estudados, uma vez que, de um total de 47 bactérias que apresentaram forma circular, 30 foram isoladas de sistema radicular e apenas 17 foram originárias do solo rizosférico (Tabela 2). As 20 bactérias que apresentaram colônias com forma irregular, tiveram distribuição semelhante nos dois habitats estudados. Avaliando-se a elevação das colônias, a grande maioria – 61 – dos isolados apresentou elevação enquanto apenas seis isolados apresentaram colônias planas. Nessa variável não foi observada diferença estatística entre o sistema radicular e o solo rizosférico.

A opacidade das colônias bacterianas foi outra variável que apresentou diferença entre as comunidades habitantes do solo rizosférico e do sistema radicular. Nessa característica, foi possível observar que 23 dos 32 isolados com colônias translúcidas foram originários das raízes de *T. spicatus*, enquanto apenas nove foram de solo da rizosfera. Os isolados com colônias opacas, 17 na raiz e 13 no solo rizosférico, e transparentes, cinco no solo rizosférico, não apresentaram diferença estatística entre os habitats (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação entre a origem e as características culturais de um total de 67 isolados de bactérias em meio de cultura isento N , associadas a *T. spicatus* na Caatinga, em cada faixa de fenótipo observado.

Fenótipo observado	Número de isolados	Origem dos isolados		Teste F ($p < 0,10$)
		Solo	Raiz	
Diâmetro da colônia				
Até 1mm	10	4	6	ns*
2 mm a 3 mm	50	23	27	s**
4 mm ou mais	7	4	3	ns
Coloração da colônia				
Creme	42	10	32	s
Bege	13	12	1	s
Amarela	5	3	2	ns
Laranja	7	2	5	ns
Forma da colônia				
Circular	47	17	30	s
Irregular	20	10	10	ns
Opacidade da colônia				
Opaca	30	13	17	ns
Translúcida	32	9	23	s
Transparente	5	5	0	ns
Elevação da colônia				
Elevada	61	24	37	ns
Plana	6	3	3	ns
Aparência da colônia				
Heterogênea	30	23	7	s
Homogênea	37	4	33	s
Aparência do muco				
Heterogênea	27	18	9	s
Homogênea	40	9	31	s
Produção de muco				
Pouca	57	22	35	ns
Mediana	9	4	5	ns
Abundante	1	1	0	ns

*ns = não significativo; **s = significativo

As avaliações relativas à aparência das colônias e do muco produzido demonstraram que, para essas duas variáveis, a homogeneidade predominou. Com relação à aparência das colônias, 23 das 30 heterogêneas foram isoladas do solo rizosférico, enquanto 33 das 37 homogêneas foram isoladas do sistema radicular, apresentando diferença estatística pelo teste F. Da mesma forma, foi possível observar diferença estatística entre os isolados oriundos de sistema radicular e de solo rizosférico, avaliando a homogeneidade do muco. De um total de 40 bactérias com muco de aspecto homogêneo, 31 foram oriundas de sistema radicular e, das 27 bactérias que apresentaram muco heterogêneo, 18 foram oriundas de solo rizosférico (Tabela 2). Com relação à produção de muco, apesar da grande maioria (57) das bactérias ter apresentado pouca produção de muco, não houve diferença entre a quantidade de isolados de sistema radicular (35) e de solo rizosférico (22). Nove bactérias apresentaram produção mediana de muco, enquanto apenas um isolado diazotrófico de solo rizosférico apresentou produção de muco abundante.

Das oito variáveis avaliadas neste estudo, apenas duas não apresentaram diferença estatística ao se comparar a quantidade de bactérias oriundas de sistema radicular ou de solo rizosférico. Esses resultados indicam que, nas condições da Caatinga, além da comunidade de bactérias associada a *T. spicatus* ser muito diversa, conforme ressaltado por Fernandes Júnior et al. (2011), há significativa diferença entre as comunidades bacterianas encontradas no sistema radicular com as rizosféricas, ressaltada pelas características avaliadas.

Ao avaliar a comunidade de bactérias diazotróficas associadas às gramíneas nativas em regiões semiáridas dos Andes, Ferrero et al. (2010) observaram diferenças entre o perfil das comunidades associadas aos tecidos radiculares e a comunidade no solo rizosférico. Esse mesmo padrão também já foi encontrado em gramíneas cultivadas, tais como milho e sorgo (COELHO et al., 2009).

Resultados de pesquisa avaliando a diversidade de bactérias diazotróficas associadas a espécies nativas podem revelar importantes papéis dessas bactérias no estabelecimento das espécies vegetais em seus ambientes naturais, principalmente aqueles potencialmente mais estressantes, tais como os ambientes de regiões de clima semiárido e árido (PUENTE et al., 2009). Dessa forma, estudos ecológicos de espécies vegetais nativas associadas a bactérias diazotróficas da Caatinga podem fornecer informações importantes para aplicações biotecnológicas diversas (KAVAMURA et al., 2009).

Conclusão

A avaliação da associação de *T. spicatus* com bactérias na Caatinga revelou a existência de uma diversidade de bactérias capazes de crescer em meio isento de N, além da existência de comunidades bacterianas habitantes do solo rizosférico e dos tecidos radiculares com características distintas.

Referências

- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, p. 549-579, 2005.
- BALDANI, J. I.; TEIXEIRA, K. R. S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F. L.; HEMERLY, A. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; NOGUEIRA, E. M.; ARAÚJO, J. L. S.; BALDOTTI, L. E. B.; SOARES, L. H. B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V. L. D.; CARVALHO, T. L.G.; ALVES, B. J. R.; JAMES, E. K.; JANTALIA, C. P.; FERREIRA, P. C. G.; VIDAL, M. S.; BODDEY, R. M. Fixação biológica de nitrogênio em plantas da Família Poaceae (antiga gramineae). In: RIBEIRO, M. R.; NASCIMENTO, C. W. A. do; RIBEIRO FILHO, M. R.; CANTALICE, J. R. B. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009. p. 203-271.
- BARKWORTH, M. E.; ANDERTON, L.; CAPÉIS, K.; LONG, S.; PIEP, M. **Manual of grasses for North America**. Longan: Utah State University Press, 2007. 543 p.

- BEWLEY, J. D.; KROCHKO, J. E. **Desiccation-tolerance**. In: Lange, D. L. (Ed.). Encyclopedia of plant physiology. Berlin: Springer Verlage, 1982. p. 325-378. (New Series, 12B).
- BRASIL, M. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do Pantanal Sul Matogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 29, p.179-190, 2005.
- COELHO, M. R. R.; MARRIEL, I. E.; JENKINS, S. N.; LANYON, C. V.; SELDIN, L.; O'DONNELL, A. G. Molecular detection and quantification of *nifH* gene sequences in the rhizosphere of sorghum (*Sorghum bicolor*) sown with two levels of nitrogen fertilizer. **Applied Soil Ecology**, Maryland Heights, v. 42, p. 48-53, 2009.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1995, 60 p.
- EKMAN, E. L. *Tripogon spicatus* (Nees) Ekman. **Arkiv för Botanik Utgivet av K. Svenska Vetenskapsakademien**, [Stockholm], v. 11, n. 4, p. 36, 1912.
- ESTRADA DE LOS SANTOS, P. E. de los; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia* a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 67, p. 2790-2798, 2001.
- FARRANT, J. M.; MOORE, J. P. Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. **Current Opinion on Plant Biology**, [London], v. 14, p. 340-345, 2011.
- FERNANDES JÚNIOR, P. I.; AIDAR, S. de T.; MORGANTE, C. V.; GAVA, C. A. T.; ZILLI, J. É.; MARTINS, L. M. V. Diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas associadas à gramínea tolerante à dessecação *Tripogon spicatus* na Caatinga. In: SIMPÓSIO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO, 3., 2011, Juazeiro. **Experiências para mitigação e adaptação: anais**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 1 CD-ROM. (Embrapa Semiárido. Documentos, 239).
- FERNANDES JÚNIOR, P. I.; PERIN, L.; PEREIRA, G. M. D.; PASSOS, S. R.; ZILLI, J. E. Diversidade de bactérias promotoras de crescimento associadas à *Oryza Glumaepatula* Steud no Estado de Roraima. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 29.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 13.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 11.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 8., 2010, Guarapari. **Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro: anais**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2010. 1 CD-ROM.
- FERRERO, M. A.; MENOYO, E.; LUGO, M. A.; NEGRITTO, M. A.; FARIAS, M. E.; SIÑERIZ, F. Molecular characterization and *in situ* detection of bacterial communities associated with rhizosphere soil of high altitude native Poaceae from the Andean Puna region. **Journal of Arid Environments**, Maryland Heights, v. 74, p. 1.177-1.185, 2010.
- GAFF, D. F. Desiccation tolerant plants in South America. **Oecologia**, Heidelberg, v. 74, p. 133-136, 1987.
- GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 27, p. 1.231-1.240, 2011.
- KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Seleção de bactérias rizosféricas produtoras de exopolissacarídeos em mandacaru (*Cereus jamacaru*) da caatinga. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 25., 2009, Porto de Galinhas. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2009. 1 Cd-ROM.

OLIVER, M. J.; BEWLEY, J. D. Desiccation-tolerance of plant tissues: a mechanistic overview. **Horticultural Reviews**, [Hoboken], v. 18, p. 171-213, 1997.

PEREIRA, G. M. D.; RIBEIRO, K. G.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; VITAL, M. J. S.; KASUYA, M. C. M.; ZILLI, J. É. Ocorrência de fungos endofíticos "dark septate" em raízes de *Oryza glumaepatula* na Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, p. 331-334, 2011.

PUENTE, M. E.; LI, C. Y.; BASHAN, Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, London, v. 66, p. 402-408, 2009.

RASCIO, N.; ROCCA, N. la. Resurrection plants: the puzzle of surviving extreme vegetative desiccation. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [S.l.], v. 24, p. 209-225, 2005.

RAWITSCHER, F.; HUECK, K.; MORELLO, J.; PAFFEN, K. H. Algumas observações sobre a ecologia da vegetação das Caatingas. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 24, p. 287-301, 1952.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA JÚNIOR, V.A.; VICTOR, O. Meio simples para isolamento e cultivo de *Xantomonas campestris* pv. *citri* tipo B. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 12, p. 16, 1986.

SILVA, T. F.; MELLONI, R. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas não simbióticas em solos da Reserva Biológica Serra dos Toledos, Itajubá/MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, n. 2, p. 359-371, 2011.



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**



CGPE 10140