NODULAÇÃO EM LEGUMINOSAS FLORESTAIS EM VIVEIROS NO SUL DE MINAS GERAIS[1]

Alexandre Barberi[2], Marco A. C. Carneiro[3], Fátima M. S. Moreira[4], José Oswaldo Siqueira [4]

RESUMO - A simbiose com rizóbio não é uma característica inerente a todas as espécies da família Leguminosae. A capacidade de nodular, ou seja, de formar simbiose com bactérias fixadoras de N_2 denominadas vulgarmente de rizóbio, é mais freqüente entre as Mimosoideae e Papilionoideae e pouco freqüente nas Caesalpinioideae. Além disso, fatores químicos, físicos e biológicos do solo podem limitar a nodulação de espécies capazes de formar esta simbiose. Neste trabalho, pesquisou-se a presença de nódulos em 37 espécies de leguminosas cultivadas em dois viveiros do Sul de Minas Gerais. Não foram encontrados nódulos em nenhuma das 18 espécies de Caesalpinioideae pesquisadas, enquanto que das 19 espécies de Mimosoideae e Papilionoideae estudadas, 84% estavam noduladas. Com exceção de *Platycyamus regnellii*, cuja capacidade de nodular foi constatada pela primeira vez, e *Colvillea racemosa* as observações verificadas para outras espécies são consistentes com resultados obtidos por outros autores. Atividade da nitrogenase, enzima responsável pela fixação de N_2, foi constatada em vários nódulos. Estirpes de rizóbio foram isoladas e identificadas de várias espécies, inclusive de algumas que ainda não possuem inoculantes específicos.

Palavras chave: Leguminosae, Nodulação, Rizóbio.

---

[1] Trabalho financiado pelo convênio UFLA/FAEPE/CEMIG e pela FAPEMIG.

[2] Bolsista de Iniciação Científica do PIBIC, atualmente Engenheiro Agrônomo.

[3] Engenheiro Agrônomo, Aluno do curso de Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas - UFLA, Bolsista do CNPq.

[4] Prof. do Departamento de Ciência do Solo - Universidade Federal de Lavras, Bolsista do CNPq.

NODULATION IN LEGUMINOUS FOREST SPECIES IN NURSERY CONDITIONS AT SOUTH MINAS GERAIS STATE.

ABSTRACT - The symbiosis with rhizobia is not widespread among all leguminous species. Nodulation capability, i.e., the ability to establish symbiosis with nitrogen fixing bacteria commomly denominated rhizobia, is more frequent among Mimosoideae and Papilionoideae and rare among the Caesalpinioideae. Furthermore, chemical, physical and biological soil factors can limit nodulation. The nodulation capability of 37 forest species cultivated under nursery conditions in South Minas Gerais state was investigated. Nodules were not found in 18 Caesalpinioideae species, meanwhile 84% of 19 Mimosoideae and Papilionoideae species were nodulating. With the exception of *Platycyamus regnelli*, for the first time found with nodules, and *Colvillea racemosa*, results obtained to the other species were consistent with previous observations. Nitrogenase activity was detected in many nodules and rhizobia were isolated from diverse species, including some that has no specific inoculant strains.

Key words: Leguminosae, Nodulation, Rhizobia.

1 INTRODUÇÃO

Leguminosas que fixam nitrogênio através da simbiose com bactérias conhecidas por "rizóbio" (gêneros *Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium, Sinorhizobium* e *Mesorhizobium)*, são importantes dos pontos de vista econômico e ecológico, pois podem dispensar total ou parcialmente os fertilizantes nitrogenados, contribuindo assim para viabilizar reflorestamentos e minimizar possíveis impactos ambientais decorrentes da utilização destes insumos.

Dentre aproximadamente 19 000 espécies da família Leguminosae, a maior parte ainda não se tem informações sobre a capacidade de nodular, ou seja, de estabelecer simbiose com bactérias fixadoras de N_2, sobretudo as espécies florestais tropicais (Allen e Allen, 1981), apesar de trabalhos recentes na Mata Atlântica e Amazônia terem contribuído com informações

sobre um número significativo de espécies (Faria et al., 1989; Moreira et al., 1992). A freqüência de espécies arbóreas é cerca de 97% nas Caesalpinioideae, 95% nas Mimosoideae e 38% nas Papilonoideae, sendo que várias delas são importantes na exploração de celulose e papel, energia, forragem, adubação verde, madeira e revegetação em áreas degradadas (Auer e Silva, 1992).

Este trabalho teve por objetivos a verificação da nodulação, isolamento, caracterização e preservação de rizóbio de 37 espécies de leguminosas arbóreas cultivadas em dois viveiros florestais do Sul de Minas Gerais (UFLA/Lavras e Represa de Camargos/Itutinga).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 37 espécies arbóreas cultivadas em 2 viveiros comerciais, localizados na UFLA- Lavras (L) e na represa de Camargos - Itutinga (I), sendo que, do total de espécies estudadas, 18 pertencem à subfamília Caesalpinioideae, 13 Papilionoideae e 6 de Mimosoideae (Tabela 1). As mudas foram cultivadas em sacos plásticos com capacidade de 1,8 kg de substrato e por um período dentre 6 a 12 meses. O substrato utilizado nos dois viveiros foi composto de 40% de casca de arroz carbonizado, 30% de terra de barranco e 30% de esterco de curral ou húmus de minhoca e uma adubação composta de 300 g de FTE (composto de vários micronutrientes), 30 g de KCl e 1500 g de superfosfato simples por metro cúbico de substrato. As características químicas dos substratos utilizados nos dois viveiro (Lavras e de Itutinga, respectivamente) foram: pH em água - 5, 3 e 5,1; P - 24 e 40 $mg.Kg^{-1}$; K- 28 e 139 $mg.Kg^{-1}$; Ca + Mg - 40 e 31 $mmol_c . Kg^{-1}$; Al - 1 $mmol_c . Kg^{-1}$; H + Al - 40 e 29 $mmol_c . Kg^{-1}$.

O sistema radicular de todas as espécies cultivadas nos viveiros foi analisado quanto à presença ou não de nódulos. Em cada espécie foram amostradas três mudas e o destorroamento do substrato foi realizado com cuidado, de modo a evitar possível queda de nódulos. De cada espécie nodulífera foram destacados pelo menos cinco nódulos para medida da atividade da nitrogenase, pelo método de redução do acetileno (Dilworth, 1966) e isolamento de rizóbio em meio YMA (Vincent, 1970) com pH 5,0 e/ou 7,0.

Culturas puras obtidas a partir de colônias isoladas foram caracterizadas quanto à velocidade de crescimento, reação do pH do meio, quantidade de muco produzido e coloração da colônia, como uma primeira aproximação para identificação do gênero. As culturas foram estocadas em tubo de ensaio com tampa rosqueável contendo meio YMA coberto com óleo mineral e armazenadas a 4^oC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comprovou-se a baixa ocorrência de nodulação nas Caesalpinioideae, pois nenhuma das espécies analisadas estavam noduladas, enquanto que nas Mimosoideae e Papilionoideae ocorreu uma alta freqüência de espécies noduladas, 83 e 85% respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por diversos autores estudando espécies florestais brasileiras, corroborando este trabalho (Moreira, 1994). A ausência de nodulação nas Caesalpinioideae pode estar relacionada ao fato desta subfamília conter gêneros de espécies arbóreas mais arcaicos, na escala de evolução das espécies, e estes serem incapazes de nodular. A nodulação parece ser uma característica que se estabeleceu posteriormente e por isso é amplamente distribuída nas leguminosas mais avançadas: as Papilionoideae (Polhill et al., 1981 citado em Moreira, 1994).

Na *Cassia grandis* verificou-se a ocorrência de hipertrofias que podem ser confundidas com nódulos nos dois viveiros, mas que, no entanto, não apresentaram atividade da nitrogenase e não se destacam facilmente das raízes. As características de isolados dessas estruturas são semelhantes a *Agrobacterium* sp, têm crescimento rápido e são acidificantes.

A ocorrência ou não de nódulos nas espécies observadas neste trabalho estão consistentes e corroborando outras observações prévias (Allen e Allen, 1981; Faria et al., 1984 a e b; Faria et al., 1987), com exceção de *Colvillea racemosa* e *Platycyamus regnelli*. Na *C. racemosa*, Allen e Allen (1981) mencionaram que a única informação disponível sobre ocorrência de nódulos nesta espécie necessita ser confirmada. Neste trabalho ela foi encontrada sem nódulos e, portanto, não podemos confirmar a observação anterior. No caso do *Platycyamus regnelli,* foi verificada a ocorrência de nódulos pela primeira vez, o que foi confirmado pela atividade da nitrogenase. Estirpes de rizóbio foram isoladas desta espécie e estão sendo estudadas para verificação de sua eficiência na FBN.

De modo geral, a maioria das espécies analisadas nos dois viveiros tiveram comportamento semelhante quanto à ocorrência ou não de nódulos. A única exceção foi *A. peregrina*, que não nodulou no viveiro da UFLA e nodulou no viveiro de Itutinga. A ausência de nodulação em uma espécie nodulífera pode estar relacionada a fatores químicos (acidez, deficiência em: P, Mo, Co, etc), físicos (compactação, erosão, salinização, etc) ou biológicos (ausência de estirpes específicas) ou o estádio de desenvolvimento da espécie vegetal. Estes últimos podem ter contribuído para a ausência de nodulação em *A. peregrina* no viveiro de Lavras, uma vez que as demais espécies nodulíferas não apresentaram nenhuma limitação nestes substratos, que possuíam características químicas e físicas, de modo geral, adequadas.

Das 16 espécies que estavam noduladas, somente as espécies *Erythrina falcata*, *Swartzia langsdorffii* e *Albizia lebbeck* apresentaram nódulos sem atividade da nitrogenase,

indicando, portanto, que estavam senescentes ou que eram inefetivos (sem fixação de nitrogênio).

Das espécies estudadas somente *Dalbergia nigra*, *Acacia mangium*, *Albizia lebbeck*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Piptadenia gonoacantha*, possuem inoculantes específicos. Estirpes de rizóbio foram isoladas destas e de outras espécies, objetivando a seleção de estirpes eficientes e adaptadas às condições climáticas e edáficas da região, através de estudos posteriores. A inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio é uma estratégia importante na preservação e manutenção dos solos, pois pode garantir a sustentabilidade do ecossistema através dos seus efeitos diretos na matéria orgânica, aumentando a retenção de água, com maior estabilidade dos agregados, menor lixiviação, menor erosão, aumentando a disponibilidade de N no sistema e aumentando a diversidade biológica no solo (Parrota, 1992; Maschio et al., 1992)

Trinta e nove estirpes isoladas foram agrupadas em 5 grupos (Tabela 2). A maioria das estirpes apresentaram crescimento lento, alcalizando o meio de cultura, coloração branca e média a pouca quantidade de muco produzido, características típicas do gênero *Bradyrhizobium* sp. Estas estirpes que foram isoladas do *Centrolobium* sp, *Dalbergia nigra*, *Swartzia langsdorffii*, *Tipuana tipu*, *Acacia mangium*, *Platypodium elegans*, *Anadenanthera peregrina*, *Albizia lebbeck* e *Enterolobium contortisiliquum*. Estirpes de crescimento intermediário, alcalinizantes, colônias brancas e pouca produção de muco, características do gênero *Azorhizobium* sp, foram isoladas de *Sesbania virgata*. Estirpes com crescimento rápido e acidificantes, características dos gêneros *Rhizobium* sp, *Sinorhizobium* sp ou *Mesorhizobium* sp foram isoladas de *Anadenanthera peregrina*, *Albizia lebbeck* e *Platycyamus regnellii*. A identificação das outras estirpes isoladas está sendo verificada, assim como as propriedades simbióticas de todas as estirpes com diferentes hospedeiros.

4 CONCLUSÕES

Comprovou-se a baixa freqüência de espécies nodulíferas na subfamília Caesalpinioideae e alta freqüência de espécies nodulíferas em Papilionoideae e Mimosoideae.

Verificou-se, pela primeira vez, a ocorrência de nodulação em *Platycyamus regnelli*, e a presença de *Agrobacterium* sp em *Cassia grandis*.

Colvillea racemosa não apresentou nodulação.

As espécies estudadas formam simbiose com *Bradyrhizobium* sp, *Azorhizobium* sp e rizóbio de crescimento rápido (*Rhizobium, Sinorhizobium ou Mesorhizobium).*

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, O.N.; ALLEN, E. **The Leguminosae**: A source book of characteristics, uses and nodulation.Washington: The University of Wisconsin Press, 1981. 813 p.

AUER, C.G.; SILVA, R. Fixação de nitrogênio em espécies arbóreas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (eds). **Microbiologia do Solo.** Campinas: SBCS, 1992. p. 157-172.

DILWORTH, M.J. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum.* **Biochem. Biophys. Acta**, Oxford, v.127, p. 285-294, 1966.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; MENANDRO, M.S.; JESUS, R.M. de; BAITELLO, J.B.; AGUIAR, O.T. DE; DOBEREINER, J. Survey on nodulation of indigenous legume trees in Southeast Brazil . **Peq. Agrop. Bras.,** Brasília, v. 19, p. 143-153, 1984a.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; JESUS, R.M. DE; MENANDRO, M.S.; BAITELLI, J.B.; MUCCI, E.S.F.; DOBEREINER, J.; SPRENT, J.I. New nodulating legume trees from South-East Brazil. **New Phytologist**, Cambridge, v. 98, p. 317-328, 1984b.

FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I.; SUTHERLAND, J.M. Occurence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, Cambridge, v.11, p. 607-619, 1989.

FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; FRANCO,A.A.; MUCCI, E.S.F.; SPRENT, J.I. Nodulation of legume trees from SE Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v.99, p. 347-356. 1987.

MASCHIO, L.M.A.; SCALZO, M.S.; GAIAD, S. GRIGOLETTI-JUNIOR, A. Bracatinga (*Mimosa scabrella*), eucalipto (*Eucalyptus viminalis*) e pinus (*Pinus taeda*) na recuperação da biodiversidade, a nível microbiológico, de solos degradados. In: Congresso Nacional de Essências Nativas, 2, Manaus, 1992. **Anais...** Manaus:INPA, 1992. p. 457-462.

MOREIRA, F.M.S. Fixação biológica do nitrogênio em espécies arbóreas. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds) **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 121-150.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F.; FARIA, S.M. Occurence of nodulation in legume species in the Amazon region. **New phytologist**, Cambridge, v,121, p. 563-570, 1992.

PARROTA, J.A. The role of plantation forest in rehabilitating degraded tropical ecosystems. **Agric. Ecosyst. Environ.**, Amsterdam, v. 41, p. 115-133, 1992.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford Blackwell scientific publications, Oxford, 1970. 164 p.

TABELA 1: Nodulação de espécies de leguminosas nativas e exóticas [(1)] em condição de viveiro em Lavras (L) e em Itutinga (I) .

ESPÉCIES	NOME VULGAR	NOD.[5]	INF. ANTERIOR[5]	LOCAL
CAESALPINIOIDEAE				
Bauhinia purpurea L.	Bauhínia-rosa	-	-	**L**
Bauhinia sp [1]	Unha de boi	-	-	**L,I**
Bauhinia variegata L. [1]	Bauhínia-branca	-	-	**L**
Caesalpinia ferrea Mart ex Tul.	Pau-ferro	-	-	**L,I**
Caesalpinia peltophoroides Benth.	Sibipiruna	-	-	**L,I**
Caesalpinia sp	Falso-pau brasil	-	-	**L,I**
Cassia grandis L.	Cássia-rosa	-[3,4]	-	**L,I**
Cassia javanica L. [1]	Cássia-rosa	-	-	**I**
Colvillea racemosa [1]	Colvilea	-	+	**I**
Copaifera langsdorffii Desf.	Óleo copaiba	-	-	**L,I**
Delonix regia Raf.[1]	Flamboyant-vermelho	-	-	**L**
Hymenaea courbaril L.	Jatobá	-	-	**I**
Peltophorum dubium (Spreng) Taub.	Angico-amarelo	-	-	**L,I**
Schizolobium parahyba (Vell) Blake.	Guapuruvu, Umbela	-	-	**L**
Senna macranthera (Collad) I. e B.	Fedegoso	-	-	**I**
Senna multijuga (L.C.Rich) I. e B.	Cássia-verrugosa	-	-	**L,I**
Senna spectabilis (D.C.) I. e B.	Cássia-carnaval	-	-	**L,I**
Tamarindus indica L. [1]	Tamarindo	-	-	**L**

Continua...

Cont. Tabela 1

ESPÉCIES	NOME VULGAR	NOD.[5]	INF. ANTERIOR[5]	LOCAL
PAPILIONOIDEAE				
Centrolobium sp	Araribá	+[2]	+	**L**
Dalbergia nigra Allem.	Jacarandá-da-Bahia	+	+	**L,I**
Dipteryx alata Vog	Baru	-	-	**L**
Erythrina falcata Benth.	Eritrina	+	+	**L**
Machaerium nictitans (Vell) Benth	Bico-de-pato	+[2,3]	+	**L,I**
Machaerium villosum Vog	Jacarandá-mineiro	+[2]	+	**L,I**
Myroxylum balsamum (L.) Harms	Óleo bálsamo	-	-	**L,I**
Ormosia arborea (Vell) Harms	Olho-de-cabra	+	+	**L**
Platycyamus regnellii Benth	Pereira, Pau-pereira	+[2]	-	**L,I**
Platypodium elegans Vog	Jacarandá-branco	+[2]	+	**L,I**
Sesbania virgata (L) Merril	Canafistula-do-brejo	+[2]	+	**I**
Swartzia langsdorffii Raddi	Jacarandá-banana	+[3]	+	**L,I**
Tipuana tipu (Benth) Ktze [1]	Tipuana	+	+	**L,I**
MIMOSOIDEAE				
Acacia mangium L. [1]	Acácia mangium	+[2]	+	**L,I**
Adenanthera pavonina L. [1]	Tento-carolina	-	+	**L**
Albizia lebbeck (L.) Benth [1]	Albizia	+[3]	+	**L,I**
Anadenanthera peregrina (L.) Speg.	Angico-vermelho	- , +	+	**L,I**
Enterolobium contortisiliquum (Vell) Morang	Tamboril	+[2]	+	**L,I**
Piptadenia gonoacantha (Mart.) Machr.	Jacaré,Pau-de-jacaré	+[2]	+	**I**

2. Espécies que apresentaram nódulos com atividade da nitrogenase;
3. Espécies cujos nódulos não apresentaram atividade da nitrogenase;
4. Hipertrofias que podem ser confundidas com nódulos;
5. (-) Não nodulam e (+) nodulam.

TABELA 2: Características culturais de estirpes de rizóbio isoladas de espécies arbóreas e possível identificação em meio YMA.

Estirpes isoladas[1]	Características culturais				Espécie arbórea de onde foram isoladas as estirpes	Possível identificação das estirpes
	Taxa de crescimento[2]	pH do meio	Cor da colônia	Quant. de muco		
7A; 7B; 8A; 8B; 9B; 12A; 12B; 15A; 16A; 21A; 21B; 23B; 27A, 33A; 34A; 35A, 38B; 39B; 40B; 41B; 43A, 45A, 46A, 52B; 54B; 55B; 57B e 62B	Lento	Alcalino	Branca	Médio ou pouco	*Centrolobium* sp, *Dalbergia nigra, Swartzia langsdorffii, Tipuana tipu, A. mangium, Machaerium nictitans, Platypodium elegans, Anadenanthera peregrina, e Enterolobium contortisiliquum*	*Bradyrhizobium*
48B, 49B, 50B, 51B e 54B	Intermediário	Alcalino	Branca	Pouca	*Sesbania virgata*	*Azorhizobium*
18A, 32A, 32B e 63B	Rápido	Ácido	Creme	Muito a Médio	*Anadenanthera peregrina, Albizia lebbeck* e *Platyciamus regnelli*	*Sinorhizobium, Mesorhizobium ou Rhizobium*
31B e 56B	Rápido	Alcalino	Branca	Pouca	*Machaerium villosum, Platypodium elegans* e *A. mangium*	N.I. [3]
37B	Lento	Ácido	Branca	Muito	*Piptadenia gonoacantha*	N.I.

1 - A - Isolada em meio com pH 5,0 e B - Isolada em meio com pH 7,0;

2- Lento = 6 a 10 dias; Intermediário = 4 a 5 dias; Rápido = 2 a 3 dias;

3- N.I.= não identificado.

CERNE, V.4, N.1, p.154-170, 1998