

POPULAÇÃO DE RHIZOBIUM SPP. E OCORRÊNCIA DE MICORRIZA V.A. EM CULTIVOS DE ESSÊNCIAS FLORESTAIS¹

ROBERTO BONETTI, LUIZ A. OLIVEIRA e FÁTIMA M.M. MAGALHÃES²

RESUMO - São apresentados resultados da ocorrência da nodulação e associação micorrízica em várias espécies florestais arbóreas da Reserva Ducke/INPA (km 27 M 010-AM-Brasil).

As espécies estudadas foram: *Cedrelinga catenaeformis* (Cedrorana), *Calophyllum brasiliense* (jacareuba), *Dipterix odorata* (cumaru), *Carapa guianensis* (andiroba), *Dipterix potiphylla* (cumarurama), *Goupia glabra* (cupiúba), *Tabebuia serratifolia* (pau d'arco), *Clarisia racemosa* (Guariúba-folha-fina), *Pithecellobium racemosum* (angelim-rajado), *Vouacoupa pallidior* (acapu), *Eperua bijuga* (muirapiranga) e *Diploptropis* sp. (sucupira).

Somente as espécies *C. catenaeformis* e *V. pallidior* apresentaram nódulos em solo argiloso e arenoso, respectivamente. A falta de nodulação não foi correlacionada com a população de *Rhizobium* no solo.

A quantidade de esporos de micorrizas vesículo-arbusculares no solo, também, não correlacionou com a infecção de raízes. Todas as espécies mostraram infecção com micorrizas, sendo maior em *C. catenaeformis*.

Termos para indexação: leguminosas florestais, nodulação, fixação de nitrogênio.

RHIZOBIUM SPP. POPULATIONS AND MYCORRHIZAL ASSOCIATIONS IN SOME PLANTATIONS OF FOREST TREE SPECIES

ABSTRACT - The occurrence of nodulation and mycorrhizal association in several forest tree plantations at reserva Ducke/INPA (km 25 M 010-AM-Brazil) was investigated.

The species of indigenous forest trees studied were: *Cedrelinga catenaeformis* (cedroana), *Calophyllum brasiliense* (jacareuba), *Dipterix odorata* (cumaru), *Carapa guianensis* (andiroba), *Dipterix potiphylla* (cumarurama), *Goupia glabra* (cupiúba), *Tabebuia serratifolia* (pau d'arco), *Clarisia racemosa* (Guariúba-folha-fina), *Pithecellobium racemosum* (angelim-rajado), *Vouacoupa pallidior* (acapu), *Eperua bijuga* (muirapiranga) and *Diploptropis* sp. (sucupira). The only leguminous trees that showed nodules were *C. catenaeformis* and *V. pallidior* on clay and sandy soil respectively.

The lack of nodulation was not correlated with *Rhizobium* populations. The amount of V.A. mycorrhizal spores in the soil were not seen to be correlated with root infection. All tree species showed V.A. mycorrhizal infection, and one of the higher infection in *C. catenaeformis*.

Index terms: legume trees, nodulation, nitrogen fixation.

¹ Pesquisa financiada pelo Projeto Polamazônia - INPA/CNPq.

² Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), Departamento de Silvicultura Tropical, Estrada do Aleixo, 1.756 - 69000 - Manaus, AM.

INTRODUÇÃO

Em recentes trabalhos de levantamento de nodulação em floresta tropical úmida, verificou-se que raramente ocorrem nódulos em floresta primária, sendo que em solos arenosos a ocorrência de nódulos é maior (Silvester-Bradley et al. 1980 e Magalhães et al. 1982), e que, em mudas de essências florestais que não nodulam em condições naturais, nodulam em viveiro (Magalhães et al. 1982). Uma das hipóteses proposta é a de que o equilíbrio de nutrientes, em condições naturais é suficiente para a manutenção do status nutricional da planta, não havendo necessidade da planta nodular. Em solos arenosos entretanto, devido talvez a intensa lixiviação de nutrientes, há um desbalanço no ciclo de nitrogênio, levando a planta a nodular nestas condições. Porém, outros fatores estão envolvidos no fato de ocorrer a falta de nodulação em sistemas florestais.

Um outro aspecto importante é que existem poucos estudos relacionados com as associações fungo e raiz, denominadas micorrizas, em essências florestais da Amazônia.

Neste sentido, os objetivos desse trabalho foram: a) verificar a ocorrência de nódulos e infecção radicular por micorriza vesículo-arbuscular em plantios de essências florestais nativas; b) verificar a relação entre o número de *Rhizobium* e esporos de micorriza no solo, com a nodulação e infecção por micorriza vesículo-arbuscular, respectivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de coleta

O local de estudo em que foi realizado o trabalho situa-se na Reserva Ducke (INPA), km 25, Manaus-Itacotiara. As coletas foram feitas em três diferentes áreas de plantios de espécies florestais feitos pelo Departamento de Silvicultura Tropical. Nas áreas 1 e 3, encontram-se plantios de essências florestais sob floresta, onde as espécies florestais nativas foram conservadas. Na área 2, todas as espécies nativas foram retiradas, com terreno de encosta.

Coleta de nódulos, raízes e solo

Escolheram-se três plantas ao acaso de cada espécie, e fez-se a avaliação para a nodulação quanto ao número, cor e forma dos nódulos. Seguiu-se um determinado segmento radicular da planta escolhida, em toda sua extensão, desde a base da árvore até que fosse possível tal avaliação.

Coletaram-se amostras de solo (aproximadamente 500 g) adjacente ao sistema radicular de cada espécie, juntando-se numa única amostragem. A contagem de *Rhizobium* foi feita utilizando-se o método do número mais provável - NMP - descrito por Weaver & Frederick (1972), utilizando-se saquinhos de plástico contendo solução nutritiva com pH 5,0 com cinco repetições por diluição. Utilizaram-se, também, tubos contendo agar, inclinados, com solução de Norris (1968) com pH 6,0, com três repetições por diluição. A planta teste foi siratro (*Macroptilium atropurpureum*).

O número de esporos de micorriza vesículo-arbuscular, foi feito por peneiramento úmido do solo, de acordo com Gerdman (1955).

Coletaram-se também amostras de raízes de cada espécie, e fez-se a avaliação da infecção por micorriza vesículo-arbuscular pelo método de clareamento e coloração, segundo Phillips & Hayman (1970).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, verifica-se que, das leguminosas observadas, somente *Cedrelinga catenaeformis* e *Vouacapoua pallidior* apresentaram nódulos, sendo que a última somente na área 3, que apresenta solo arenoso. Em relação à *Vouacapoua pallidior*, esses dados confirmam os resultados de Sylvester-Bradley et al. (1980) e Magalhães et al. (1982) que encontraram maior nodulação em solo arenoso; uma possível explicação apresentada pelos autores é que em solo arenoso a intensa lixiviação pode causar um desbalanço nutricional, no caso, pela perda de nitrogênio. Também Döbereiner & Campelo (1977) verificaram que, sob condições naturais, nem sempre se encontram nódulos em leguminosas florestais. Bonnier & Brakel (1969), citados por Silva & Döbereiner (1982), sugerem que, do ponto de vista ecológico, a fixação simbiótica é um processo de adaptação para uma situação de balanço de nitrogênio desequilibrado, já que as leguminosas não estão bem noduladas em ecossistemas naturais equilibrados, e nodulam bem em condições de cultivo, onde o nitrogênio é limitante. Do mesmo modo, Magalhães et al. (1982) verificaram que mudas de leguminosas adubadas, que não nodulam sob condições naturais apresentaram nódulos em viveiros e mudas que nodularam em condições naturais, quando em viveiros, apresentaram-se bem mais noduladas; isto pode ser devido a uma menor limitação de outros fatores (por exemplo: luz e nutrientes), aumentando a demanda de nitrogênio e estimulando assim a nodulação ou lixiviação do nitrogênio devido às regas diárias.

No caso da *C. catenaeformis*, a nodulação ocorreu em ambas as áreas 1 e 2, que apresentaram solo argiloso; o mesmo foi encontrado por Magalhães et al. (1982) que sugeriram que tal fato se deve às diferenças estacionais na velocidade de ciclagem de nutrientes na floresta tropical úmida, sendo que tais diferenças podem influenciar na quantidade de nitrogênio disponível, levando as plantas a nodularem. Uma outra possível explicação para o fato da *C. catenaeformis* nodular em solo argiloso e as outras espécies de leguminosas não nodularem é que esta é uma árvore de grande porte e considerada uma espécie de crescimento mais rápido em relação às espécies nativas (Magalhães et al. 1980). Devido a isso, haveria necessidade de uma demanda maior de nutrientes inclusive o nitrogênio, estimulando a nodulação. Para as outras leguminosas, a quantidade de nitrogênio envolvida no ciclo de nutrientes seria suficiente para sua manutenção. Tal fato ocorreu com *V. pallidior*, espécie de crescimento lento, que em solo argiloso não apresentou nódulos, talvez porque as quantidades de nitrogênio encontradas no solo foram suficientes para suas necessidades, enquanto que, em solo arenoso, o desequilíbrio no sistema, causado pela intensa lixiviação de nitrogênio, estimulou a nodulação para compensar tal déficit. Um outro aspecto a ser considerado quanto à ocorrência de nodulação nestas duas espécies é que elas podem ser mais promíscuas que as outras, apresentando, assim, maiores facilidades para nodularem.

Observa-se também que o número de *Rhizobium* (avaliado em siratro) no solo em geral foi baixo, mas suficiente para nodular a *C. catenaeformis* e a *V. pallidior*. O número de *Rhizobium* no solo, utilizando-se o agar com pH 6,0 como substrato, foi maior quando comparado ao método, utilizando-se saquinhos com solução nutritiva com pH 5,0. Pode-se notar, também, que não houve relação entre o número de *Rhizobium* no solo e a ocorrência de nodulação, sendo que a falta de nodulação não é consequência do baixo número de *Rhizobium* no solo, mas advém de outros fatores discutidos anteriormente.

O sistema radicular de todas as plantas analisadas apresentou infecção por micorriza vesículo-arbuscular. Esses resultados estão de acordo com as observações de Nicolson (1967) e Mosse (1977) que indicam que, em termos ecológicos, a micorriza parece prevalecer em solos de moderada ou baixa fertilidade, e, segundo Redhead (1968) e Vasconcelos (1982), ocorre de maneira generalizada em floresta tropical úmida.

TABELA 1. Nodulação natural, população de *Rhizobium* e presença de micorrizas vesículo-arbuscular em plântios de leguminosas arbóreas na Amazônia.

Área ^a	Espécie	Nome vulgar ^b	N.º de esporos micorriza/50 g solo	% Infecção por micorriza nas raízes	N.º <i>Rhizobium</i> g/solo saquinho agar	Presença de nódulos ^c
1	<i>Cedrelinga catenaeformis</i>	Cedrorana (L)	136	86	4,0 < 3	+
	<i>Calophyllum brasiliense</i>	Jacareuba	92	80	1,8 11	-
	<i>Dipterix odorata</i>	Cumarú (L)	13	56	9,2 40	-
	<i>Carapa guianensis</i>	Andiroba	20	56	1,8 < 3	-
	<i>Dipterix potiphylla</i>	Cumarurama (L)	19	19	1,8 30	-
	<i>Goupia glabra</i>	Cupiuba	11	86	8,1 200	-
	<i>Tabebuia senatifolia</i>	Pau-d'arco	9	56	-	-
	<i>Clarisia racemosa</i>	Guariuba folha fina	34	36	1,8 30	-
	<i>Pithecellobium racemosum</i>	Angelim rajado (L)	8	86	1,8 11	-
	2	<i>Pithecellobium racemosum</i>	Angelim rajado (L)	45	75	-
<i>Vouacapoua pallidior</i>		Acapu (L)	15	30	3,6 30	-
<i>Eperua bijuga</i>		Muirapiranga (L)	18	56	1,8 35	-
<i>Diploptropis</i> sp.		Sucupira (L)	45	50	9,2 35	-
<i>Cedrelinga catenaeformis</i>		Cedrorana (L)	63	80	5,5 40	+
3	<i>Vouacapoua pallidior</i>	Acapu (L)	-	-	4,0 45	+

a (1) - Solo argiloso, terreno plano, plântio sob sombra; (2) - Solo argiloso, terreno de encosta, plântio em plena abertura e (3) Solo arenoso, terreno de encosta, plântio sob sombra.

b (L) - Leguminosa

c (+) presença e (-) ausência de nódulos.

O número de esporos de micorriza no solo apresenta baixo e variável, parecendo não haver relação com a percentagem de infecção. De fato, Hayman (1978) verificou que, em solos não cultivados e em florestas, há ocorrência de baixo número de esporos. Neste caso, não haveria necessidade de estruturas de sobrevivência para a persistência do fungo, pois, como nas áreas cultivadas, não existe períodos em que a área fica sem o hospedeiro.

Verificou-se que algumas espécies se apresentavam altamente infectadas pela micorriza em relação às outras espécies, fato ocorrido com a *C. catenaeformis* que apresentou uma das mais altas infecções em ambas as áreas. Os resultados de nodulação e infecção por micorriza vesículo-arbuscular, encontrados neste trabalho em *C. catenaeformis* sugerem que estas associações estão relacionadas com as demais nutricionais, particularmente o N e P, podendo contribuir assim para o rápido crescimento desta espécie.

REFERÊNCIAS

- BONNIER, C. & BRAKEL, J. Legumineuse *Rhizobium*. In: GEMBLOUX, J.D. Lutte biologique contre la faim. 1969. p.148.
- DÖBEREINER, J. & CAMPELO, A.B. Importance of legumes and their contribution of tropical agriculture. In: HARDY, R.W.F. & GIBSON, A. A treatise on dinitrogen fixation; agronomy and ecology. WILEY, 1977. v.4, p.191-220.
- GERDEMANN, J.W. Relation of a large soil borne spore to phycomycentous mycorrhizal infections. *Mycologia*, 47: 619-32, 1955.
- HAYMAN, D.S. Endomycorrhizal. In: DOMMERGUES, Y.R. & KRUPA, S.V., eds. Interactions between non - pathogenic soil microorganisms and plants. New York, ELSEVIER Sci. Publ. Co, 1978. cap. 10, p.401-42.
- MAGALHÃES, L.M.S.; FERNANDES, N.P. & ALENCAR, J.C. Sistemas de regeneração artificial com essências florestais nativas da Amazônia. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE ECOLOGIA, 2, Belém, Pará, 1980. Anais . . . p.169-84.
- MAGALHÃES, F.M.M.; MAGALHÃES, L.M.S.; OLIVEIRA, L.A. & DOBEREINER, J. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus, AM. *Acta Amaz.*, 12(3):509-14, 1982.
- MOSSE, B. The role of micorrhiza in legume nutrition on marginal soils. In: VICENT, J.M.; WHITNEY, A.S. & BOSE, J., eds. Exploiting the legume - *Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. University of Hawaii, USA, 1977. p.275-92.
- NICOLSON, T.H. Vesicular-arbuscular mycorrhiza - a universal plant symbiosis. *Sci. Prog.*, 55:561-81, 1967.
- NORRIS, D.O. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: SOME concepts and methods in sub-tropical pastures research. Comm. Bureau of Pastures and Field Crops, 1968. cap. 17, p.186-98. (Bull., 47).
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedure for clearing and staining parasitic and V.A. micorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55:158-61, 1970.
- REDHEAD, J.F. Mycorrhizal association in some Nigerian Forest trees. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51:377-87, 1968.
- SILVA, E.M.R. & DÖBEREINER, J. O papel das leguminosas no reflorestamento. In: SEMINÁRIO SOBRE PERSPECTIVAS E ATUALIDADES FLORESTAIS: ASSOCIAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE ESPÉCIES FLORESTAIS E MICROORGANISMOS PARA O AUMENTO DA PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DO REFLORESTAMENTO, 7, Curitiba, PR, 1982. p.33-52.

- SYLVESTER-BRADLEY, R.; OLIVEIRA, L.A.; PODESTÁ FILHO, J.A. & ST. JOHN, T.V. Nodulations of legumes, nitrogen activity of roots and occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* spp in representative soil of Central Amazonica. *Agro. Ecosystems*, 6:249-66, 1980.
- VASCONCELOS, I. Associação simbiótica entre microorganismos e espécies florestais do nordeste. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: ASSOCIAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE ESPÉCIES FLORESTAIS E MICROORGANISMOS PARA O AUMENTO DA PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DOS RE-FLORESTAMENTOS, 7, Curitiba, PR, 1982. p.53-6.
- WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. A new technique for most-probable number counts of Rhizobia. *Plant and Soil*, 36:219-22, 1972.