

IDENTIFICAÇÃO E OCORRÊNCIA DE NODULAÇÃO EM ESPÉCIES NATIVAS E INTRODUZIDAS DE ESTILOSANTES NO CERRADO DE RORAIMA⁽¹⁾.

Josimar da Silva Chaves^{2,3}; Alexandre Cardoso Baraúna³; Cátia Aparecida Mosqueira³; Vicente Gianluppi⁴; Krisle da Silva⁵; Jerri Édson Zilli⁶

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Embrapa Projeto RizoABC: 02.12.08.001.00.02.

⁽²⁾ Professor, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Roraima/IFRR– Campus Novo Paraíso, Br-174 S/N, Caracará, RR. E-mail: josimar.chaves@ifrr.edu.br; ⁽³⁾ Alunos do curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Roraima (UFRR), Centro de Ciências Agrárias, Campus Cauamé, BR 174, Km 12 - Monte Cristo, CEP 69301-970, Boa Vista-RR; ⁽⁴⁾ Engº Agrônomo, Pesquisador, EMBRAPA - Roraima, Br.174 Km 8, Distrito Industrial, Boa Vista, RR; ⁽⁵⁾ Pesquisadora em Microbiologia do Solo; Embrapa Roraima, Rodovia BR-174, Km 8, Distrito Industrial, CEP 69301-970, Boa Vista-RR; ⁽⁶⁾ Pesquisador em Microbiologia do Solo; Embrapa Agrobiologia, Rodovia BR-465 Km 7 caixa Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica-RJ

RESUMO: O cerrado de Roraima está localizado na porção central do estado, possui solos com pH ácidos, baixa fertilidade natural, com presença de alumínio, baixo teor de carbono devido à vegetação rala, com predominância de gramíneas que sofrem ação constante de incêndio associada a processo intenso de erosão laminar. Dentre as espécies de leguminosas presentes nestes solos, merece destaque o gênero *Stylosanthes* por apresentar uma ampla adaptação ao clima, e a solos de baixa fertilidade, além de estabelecer simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio. Assim, o objetivo deste trabalho foi coletar e identificar plantas de estilosantes do cerrado de Roraima, verificar a ocorrência de nodulação em condições de campo e isolar bactérias de nódulos formados nestas plantas. Foram coletadas plantas de estilosantes em dois municípios do Estado de Roraima (Boa Vista e Bonfim) em áreas próximas a cultivos agrícolas. Foram identificadas botanicamente cinco espécies do gênero *Stylosanthes* (*Stylosantes capitata* Vogel, *Stylosantes scabra* Vogel, *Stylosantes gracilis* Kunth, *Stylosantes humilis* Kunth e *Stylosantes angustifolia* Vogel). Foram isolados 577 nódulos, que após a purificação e sucessivas repicagens resultaram em 303 bactérias. A maioria das bactérias isoladas foram oriundas de *Stylosantes gracilis* Kunth, seguido por *Stylosantes capitata* Vogel, *Stylosantes angustifolia* Vogel, *Stylosantes scabra* Vogel e *Stylosantes humilis* Kunth.

Termos de indexação: Fixação Biológica de Nitrogênio. Amazônia. *Stylosantes* spp.

INTRODUÇÃO

A região Amazônica concentra uma grande diversidade de espécies vegetais e alguns trabalhos também tem demonstrado uma grande diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio (Lima et al, 2005), no entanto devido a sua extensão, ainda são poucos os trabalhos na região. O Estado de Roraima apresenta características climáticas e de

vegetação bem distintas em relação a outras áreas da região Amazônica, como por exemplo, o cerrado. O cerrado em Roraima também é conhecido como savana ou lavrado, este se assemelha ao cerrado do Brasil Central, mas com características peculiares. Os solos do cerrado de Roraima estão na maioria em áreas planas ou com pequena declividade, com baixo teor de carbono devido à vegetação rala, com predominância de gramíneas que sofrem ação constantes de incêndio associados a processo intenso de erosão laminar (Melo et al., 2003).

Entre a vegetação presente no cerrado de Roraima é encontrado diversas leguminosas, entre elas há espécies nativas e/ou introduzidas pertencentes ao gênero *Stylosantes*.

No Brasil, o gênero *Stylosantes* destaca-se como uma leguminosa forrageira de ampla adaptação e resistência de pressões bióticas e abióticas. Além disso, esta leguminosa estabelece simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, o que é uma vantagem para a melhoria da fertilidade das pastagens brasileiras.

Segundo Paciullo et al. (2003), trabalhando com *Stylosantes guianensis* em consórcio com *Brachiária brizantha*, o nitrogênio fixado além de influenciar no crescimento da gramínea, contribuiu para o aumento da qualidade da dieta e massa de forragem total da pastagem, aumentando a capacidade de suporte da mesma.

De acordo com Gianluppi et al. (2002), no Estado de Roraima, os trabalhos com estilosantes foram desenvolvidos com objetivos de avaliar a adaptação às condições edafoclimáticas locais, produtividade de sementes e adaptação aos diversos sistemas de produção agrícola e de pecuária. Os trabalhos com *Stylosantes capitata* cultivar lavradeiro, lançado pelo CIAT, em 1983, recomendado para os cerrados da Colômbia, foi introduzido em Roraima no mesmo ano pela Embrapa. Esse cultivar apresentou excelente adaptação, tanto em plantio direto quanto em plantio convencional; boa tolerância a pragas e doenças, à seca e ao fogo; produz grande

quantidade de sementes de fácil colheita mecanizada, tem excelente taxa de ressemeadura e persistência na pastagem, desenvolve-se bem com gramíneas forrageiras, com culturas produtoras de grãos (milho, arroz, sorgo) e com capim nativo; apresenta boa produção de matéria seca; grande resistência ao pastejo e pisoteio; rápida rebrota no segundo ano, podendo ser usado em pastagens consorciadas, bancos de proteína no período chuvoso e como cultura de cobertura e melhoria de solos nos sistemas de produção de grãos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi coletar e identificar plantas de estilósantes no cerrado de Roraima, verificar a ocorrência de nodulação em condições de campo e isolar bactérias em simbiose com estas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação de estilósantes no cerrado de Roraima

As coletas foram realizadas no Município de Bonfim em áreas particulares próximas a cultivos agrícolas, e também no Campo Experimental da Embrapa Roraima Água Boa (CEAB) em área de integração lavoura pecuária, pastagem plantada e capim nativo (**Tabela 1**). A parte aérea de plantas contendo flores foi coletada para confecção de exsiccatas. Estas foram então depositadas no Herbário do Museu Integrado de Roraima para identificação. A coleta de raízes foi realizada com auxílio de pá reta. Estas foram levadas ao laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Roraima, onde foram lavadas para observação de nodulação e posterior isolamento.

Amostras de solos composta foram coletadas nas áreas de ocorrência de estilósantes na profundidade de 0-20 cm. Estas foram para análise química e granulométrica do solo de acordo com Embrapa (1997).

Isolamento e purificação das bactérias de nódulos de Estilósantes

Para o isolamento das bactérias o sistema radicular das plantas de estilósantes contendo os nódulos recém coletados foram lavados para retirar o excesso de solo seguida da retirada manual de 60 nódulos ao acaso por planta coletada por área. Em seguida, foi realizada a desinfestação superficial dos nódulos com etanol 92,8% por três segundos, hipoclorito de sódio a 1% por cinco minutos e seis lavagens sucessivas em água estéril.

Os nódulos desinfestados foram esmagados com pinça estéril e o líquido intra-nodular foi estriado utilizando alça de platina em placas de Petri contendo meio de cultura YMA (Fred & Waskman 1928) e o indicador vermelho congo a 0,25%. As

placas foram incubadas a 28° C, com verificações diárias da formação de colônias. Após o surgimento de colônias, as mesmas foram repicadas para outra placa de Petri contendo meio de cultura YMA, com indicador azul de bromotimol (0,5%) e novamente incubadas para a purificação das bactérias isoladas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Coleta e identificação de estilósantes no cerrado de Roraima

Foram identificadas cinco espécies do gênero *Stylosanthes*, três na cidade de Boa Vista no CEAB (*Stylosantes capitata* Vogel, *Stylosantes scabra* Vogel e *Stylosantes gracilis* Kunth) e duas na cidade de Bonfim em áreas de produtores rurais (*Stylosantes humilis* Kunth e *Stylosantes angustifolia* Vogel) (**Tabela 2**).

S. capitata foi identificada no Campo Experimental da Embrapa Roraima (**Tabela 1**), em área próxima de experimento de integração lavoura pecuária floresta (ILPF) e em área de pastagem plantada. É uma planta perene, que se desenvolve em solos com baixo valor de pH e baixa fertilidade e não cresce bem em solos férteis, características observadas nas áreas coletadas. Estas características tornam esta espécie uma espécie forrageira de potencial para o uso em áreas de pastagens no cerrado de Roraima.

Já a espécie *S. scabra* foi coletada em área próxima a experimento de integração lavoura pecuária floresta. Assim como *S. capitata* esta espécie se desenvolve em solos ácidos e de baixa fertilidade.

S. gracilis foi coletada em duas áreas, no experimento de integração lavoura pecuária floresta e em área de cerrado nativo do Campo Experimental da Embrapa Roraima. A presença *S. gracilis* Kunth, ocorre exclusivamente em áreas abertas e secas, principalmente em savanas, em solos ácidos e mais arenosos e é adaptada ao fogo, condições similares às encontradas no cerrado de Roraima.

S. humilis, possui grande capacidade de se adaptar a solos inférteis e também possui a capacidade de responder a aplicação de nutrientes, principalmente fósforo, características encontradas na área de ocorrência desta espécie (**Tabela 1**).

A espécie *S. angustifolia* foi encontrada em duas propriedades particulares, próximos a lavouras de soja e arroz, respectivamente (**Tabela 1**). Trata-se de uma planta indicadora de solos ácidos e inférteis.

Ocorrência de nodulação

Em todas as plantas coletadas foi observada a presença de nódulos nas raízes. Foi utilizado para o isolamento um total de 577 nódulos, mas após o isolamento e purificação foram obtidas 303 bactérias (**Tabela 2**). *Stylosantes gracilis* Kunth (86 isolados), *S. capitata* Vogel (74 isolados) e *S. angustifolia* Vogel (74 isolados) apresentaram o maior número de isolados, seguidas por *S. scabra* Vogel e *S. humilis* Kunth que apresentaram os menores números, com 39 e 30 isoladas, respectivamente (**Tabela 2**). Em condições de clima tropical, o potencial da fixação biológica de nitrogênio é afetado por fatores abióticos relacionados à baixa fertilidade do solo. Nas áreas próximas ao cultivo

agrícolas, observou-se uma maior fertilidade do solo (**Tabela 1**), e conseqüentemente foi obtido um maior número de bactérias isoladas destas áreas (**Tabela 2**).

CONCLUSÕES

A área de cerrado do Estado de Roraima apresenta uma grande diversidade de espécies de leguminosas, dentre elas, do gênero *Stylosantes*, onde foi possível o isolamento de cinco espécies diferentes.

As cinco espécies de estilosantes apresentaram nódulos em condições de campo. *S. gracilis* Kunth apresentou o maior número de bactérias isoladas.

REFERÊNCIAS

GIANLUPPI, V.; SMIDERLE, O. J.; GIANLUPPI, D. Utilização e cultivo do Estilosantes lavradeiro nas áreas de cerrado de Roraima. Embrapa Roraima, 2002. 9p. (Circular Técnica, 02).

LIMA, A. S.; PEREIRA, J. P. A. R.; MOREIRA, F. M. S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.40, n.11, p.1095-1104, 2005.

MELO, V.F.; GIANLUPPI, D.; UCHOA, S.C.P. Características edafológicas dos solos do estado de

Roraima. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2003. 28p. (Embrapa Roraima: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 01)

PACIULLO, D. S. C.; AROEIRA, L. J. M.; ALVIM, M. J.; CARVALHO, M. M. Características produtivas e qualitativas de pastagem de braquiária em monocultivo e consorciada com Estilosantes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 38, n. 3, 2003, p. 421-426.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. Yeast extract-mannitol agar for laboratory. Manual of general microbiology. New York: McGraw Hill, 145 p., 1928.

Tabela 2. Número de nódulos coletados de cada ponto de coleta e número de bactérias isoladas de *Stylosanthes* spp. no cerrado de Roraima.

Local	Espécies	Número de nódulos isolados	Número de bactéria isoladas
1	<i>S. capitata</i> Vogel	60	45
	<i>S. scabra</i> Vogel	90	39
	<i>S. gracilis</i> Kunth	144	54
2	<i>S. capitata</i> Vogel	60	29
3	<i>S. gracilis</i> Kunth	43	32
4	<i>S. humilis</i> Kunth	60	30
5	<i>S. angustifolia</i> Vogel	60	36
6	<i>S. angustifolia</i> Vogel	60	38
Total	5	577	303

Tabela 1- Origem, análise química e granulométrica das amostras de solo onde foram coletadas plantas de estilosantes no cerrado de Roraima.

Local	Fitofisionomia SUT	Coordenadas	Município	Características Químicas						Características Físicas			
				pH H ₂ O	Ca	Mg	K	Al	P	MO %	Argila	Silte (g kg ⁻¹)	Areia
1	Área de integração lavoura pecuária floresta	N 02°39'49,8" W 60°50'55,8"	Boa Vista/ Campo Experimental Água Boa Embrapa-Roraima	5.4	0.32	0.10	0.03	0.25	4.42	1.08	173	16.5	810
2	Área de pastagem plantada	N 02°39'53,0" W 060°50'37,1"	Boa Vista/ Campo Experimental Água Boa Embrapa-Roraima	4.8	0.26	0.16	0.03	0.4	3.13	-	-	-	-
3	Capim nativo	N 02°40'10,7" W 060°50'55,8"	Boa Vista/ Campo Experimental Água Boa Embrapa-Roraima	4,1	0,3	0,2	0,01	0,8	3.00	1.10	200	40	760
4	Estrada próxima à lavoura de soja	N 03°17'20.5" W060°20'45.6"	Bonfim/ Área Particular	6.8	0.81	0.24	0.14	0.01	11.54	2.61	124	68	808
5	Estrada próxima à lavoura de soja	N 03°17'32.8" W 060°21'26.7"	Bonfim/ Área Particular	5.0	0.39	0.12	0.04	0.24	15.02	4.96	109	148	743
6	Área de cultivo de arroz em pousio	N 03°16'03.8" W 060°16'18.5"	Bonfim/ Área Particular	5.4	0.24	0.07	0.10	0.17	22.84	9.72	111	127	762