

ISSN 0104-6187



Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia-CNPAB



**LEVANTAMENTO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO CAPAZES DE NODULAR
CAUPI (*Vigna unguiculata*) EM SOLOS DO NORDESTE DO BRASIL.**

I. SERTÃO

Agrobiologia
Seropédica, RJ
Maio/1998

ISSN 0104-6187



Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia-CNPAB

**LEVANTAMENTO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO CAPAZES DE NODULAR
CAUPI (*Vigna unguiculata*) EM SOLOS DO NORDESTE DO BRASIL.
I. SERTÃO**

**Maria Cristina P. Neves, Lindete M. Martins, Gustavo R. Xavier,
Norma G. Rumjanek**

Agrobiologia
Seropédica, RJ
Maio/1998

Exemplares desta publicação podem ser solicitadas à
Embrapa-**Agrobiologia**

Antiga Rodovia Rio/São Paulo

Telefone: (021)682-1086; (021)682-1500

Fax: (021)682-1230

Caixa Postal 74505

23851-970 Seropédica, RJ

e-mail: agrob@cnps.embrapa.br

Comitê de Publicações

Helvécio De-Polli(Presidente)

Johanna Döbereiner

José Ivo Baldani

Paulo Augusto da Eira

Norma Gouveia Rumjanek

Sebastião Manhães Souto

Dorimar dos Santos Felix(Bibliotecária)

NEVES, M.C.P.; MARTINS, L.M.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. **Levantamento de estirpes de rizóbio capazes de nodular caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do Nordeste do Brasil.** I. Sertão. Seropédica: Embrapa-**Agrobiologia**, Maio 1998. 10p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 46).

1. Feijão de corda. 2. Caupi. 3. . *Vigna unguiculata*. 4. Solo. 5. Sertão. I. Martins, L.M., colab. II. Xavier, G.R., colab. III. Rumjanek, N.G., colab. IV. Embrapa-**Agrobiologia** (Seropédica, RJ). V. Título. VI. Série.

CDD 641.356.592

© Embrapa

INTRODUÇÃO.....	4
SERTÃO	4
COLETA DE SOLOS	6
ISOLAMENTO DAS ESTIRPES DE RIZÓBIO.....	7
CARACTERIZAÇÃO DOS ISOLADOS	7
MORFOLOGIA DA COLÔNIA E PRESENÇA DE MUÇO.....	8
REFERÊNCIAS	8

Levantamento de estirpes de rizóbio capazes de nodular caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do Nordeste do Brasil. I. Sertão.

M.C.P. Neves¹, L.M. Martins², G.R. Xavier³, N.G. Rumjanek⁴

INTRODUÇÃO

Em todo o Nordeste o caupi é uma cultura de subsistência de grande importância para a economia da região. Esta leguminosa é nodulada por *Bradyrhizobium* spp. e sob esta denominação estão agrupados um número grande de estirpes capazes de nodular inúmeras espécies de leguminosas herbáceas comuns nas regiões tropicais. A promiscuidade das estirpes dificulta a introdução de estirpes selecionadas, limitando a contribuição potencial da fixação de nitrogênio no caupi. Objetivando uma melhor caracterização deste importante grupo de bactérias, tendo em vista a identificação e seleção de estirpes eficientes e competitivas de caupi que possam ser usadas para inoculação desta cultura, foram promovidos levantamentos nos solos representativos dos ecossistemas denominados Sertão, Agreste e Zona da Mata.

SERTÃO

Trata-se de paisagem típica da região semi-árida nordestina, caracterizada por uma superfície de relevo predominantemente suave-ondulado, e cortado por vários estreitos resultantes dos ciclos intensos de erosão que atingiram grande parte do sertão nordestino. Em função da baixa pluviosidade a vegetação típica é a caatinga hipoxerófila, nas áreas menos secas, e de caatinga hiperxerófila, nas áreas de seca mais acentuada.

Na depressão São-franciscana, ao sul do lago de Sobradinho, predominam os solos arenosos, profundos e de baixa fertilidade natural, com vegetação de caatinga hipoxerófila e trechos de florestas caducifólia.

¹ Bióloga, PhD., Embrapa-*Agrobiologia*, km 47, Caixa Postal 74505, CEP 23851-970, Seropédica-RJ.

² Bolsista de Pós-Graduação, CNPq – Embrapa-*Agrobiologia*

³ Bolsista de Aperfeiçoamento, CNPq – Embrapa-*Agrobiologia*

⁴ Farmacêutica, PhD., Embrapa-*Agrobiologia*

TABELA 1. Dados meteorológicos de alguns dos municípios de coletas de solos na Região do Sertão pernambucano.

Localidade	Latitude (S)	Longitude (W)	Precipitação média anual
Petrolina-Pe.	9°22'	40°30'	500mm
Ouricuri	8°52'	40°40'	470mm

Na região do médio e baixo do São Francisco, o relevo é pouco dissecado, com pequenas elevações residuais disseminadas na paisagem. Os solos são de alta fertilidade natural, mas geralmente são cascalhentos e susceptíveis à erosão. A vegetação é de caatinga muito seca (hiperxerófila).

Na região de Petrolina- PE (margem esquerda do rio São Francisco), predominam solos mais profundos de fertilidade natural baixa.

O clima do sertão é quente, semi-árido e apresenta um período chuvoso bem definido que ocorre entre os meses de outubro a abril. De modo geral a precipitação média anual para toda a área da unidade é da ordem de 500 a 800 mm.

O rio São Francisco e seus afluentes, cortam praticamente toda a unidade. Assim, o potencial da área é elevado nas áreas marginais do rio São Francisco e seus afluentes perenes, além de outros que formam bacias menores.

O sistema agrário baseado na pecuária/agricultura tradicional integrada, é o mais comum. As variações são importantes se estão relacionadas com o tempo de ocupação, fertilidade natural de solos e pluviosidade.

A existência de perímetros irrigados possibilita a exploração de outras culturas (cebola, tomate, melão, melancia, uva, laranja, manga, banana, etc.), além das culturas de subsistência, tais como, caupi, mandioca e milho.

As maiores limitações decorrem da falta d'água, irregularidade das precipitações pluviométricas e da baixa fertilidade natural dos solos. Entretanto a agricultura é bastante desenvolvida nas áreas marginais do Rio São Francisco, caso dos municípios de Petrolina e Santa Maria da Boa Vista-PE, devido à implantação dos grandes perímetros, que vem alavancando a substituição das culturas anuais pela fruticultura (manga, uva, citros).

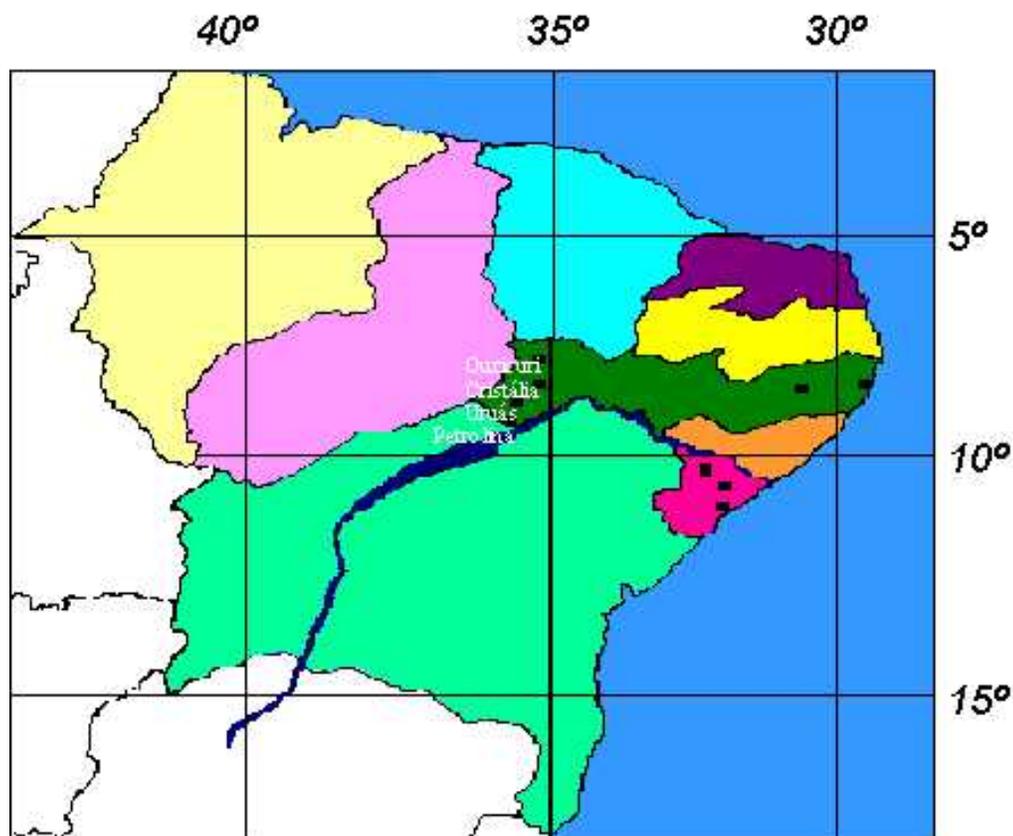


Fig. 1: Localização geográfica dos municípios de coletas de solos. Mapa adaptado do Atlas 95/96.

COLETA DE SOLOS

Foram realizadas duas viagens ao Estado de Pernambuco (Tabela 1, Figura 1 e Quadro 1) com o objetivo de coletar solos para o levantamento inicial da população nativa de rizóbio capaz de nodular caupi. Esta etapa inicial foi realizada em conjunto com o Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-árido (CPATSA), da EMBRAPA, localizado na cidade de Petrolina-Pe, que forneceu o necessário apoio técnico.

Foram coletadas amostras de solos superficiais (0-20 cm) nos municípios de Petrolina, Ouricuri, Cristália, Uruás e nos Campos Experimentais do CPATSA, representativos do Sertão Pernambucano e também na região do Sertão do Estado de Sergipe. Parte das amostras dos solos foram usadas para a caracterização destes através de análise de fertilidade (Quadro 2).

O isolamento do rizóbio nas amostras de solo foi feito usando-se caupi como planta-isca. Sementes de caupi (cultivar IPA 206) foram esterilizadas com $HgCl_2$ (1:500) por 3 minutos e plantadas em número de 4 por vaso contendo os diferentes solos. Aos 30

dias de crescimento, as plantas foram cortadas e os nódulos foram colhidos e guardados em frascos contendo sílica-gel.

ISOLAMENTO DAS ESTIRPES DE RIZÓBIO

O isolamento de nódulos foi feito no Laboratório de Fisiologia do Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia. Foram isolados 80% dos nódulos de uma planta de cada vaso. Os nódulos foram esterilizados lavando-se primeiro em álcool 96° GL por 1 minuto seguido de HgCl₂ 1% por 2 minutos e lavados por 8 vezes consecutivas em água destilada e esterilizada. Em seguida, foram pressionados com uma pinça sobre placas preparadas com meio 79 (Fred & Waksman, 1928) contendo manitol, agar e azul de bromotimol. Após o isolamento, as placas foram incubadas a 28°C por uma semana ou mais até o aparecimento das colônias.

CARACTERIZAÇÃO DOS ISOLADOS

Todas as estirpes foram caracterizadas em meio 79 (Fred & Waksman, 1928) com azul de bromotimol no mesmo pH em que foram isoladas: 6,8 a 7,0 (ideal para a caracterização) aos 3, 6 e 9 dias após plaqueamento. Ao mesmo tempo as estirpes foram crescidas em placas com o meio contendo vermelho Congo. O vermelho Congo é um corante com propriedades fungicidas e foi usado para facilitar a diferenciação entre rizóbio e contaminantes. O rizóbio neste meio é incapaz de absorver o corante, aparecendo com uma coloração rosada difusa.

As características culturais observadas foram: mudança do pH do meio após crescimento (avaliada pela alteração de cor do indicador); velocidade de crescimento (em dias) de colônias isoladas; diâmetro das colônias (em milímetros) a transparência, forma, borda, consistência do muco (avaliação visual comparativa) e absorção do indicador vermelho Congo. Além disso foram feitas anotações a respeito de alguma característica especial que o isolado apresentasse, já que alguns isolados apresentaram características morfológicas atípicas, ou seja, estirpes que formam colônias com coloração, forma, margem e estriado não comuns, se diferenciando portanto, da maioria dos rizóbios descritos.

Os isolados foram agrupados de acordo com similaridade de características, sendo que, posteriormente, representantes desses grupos foram testados quanto a nodulação em caupi e soja crescidas em condições estéreis de casa de vegetação.

Após a caracterização as estirpes foram crescidas em tubos de ensaio contendo meio 79 para estocagem.

A reação de pH foi avaliada utilizando-se na formulação do meio, um indicador de pH (Quadro 2). Neste levantamento de estirpes que nodulam caupi foram encontradas bactérias de crescimento lento produzindo reação ácida no meio, e também bactérias de crescimento rápido que não alteraram o pH do meio de cultura.

De modo geral, cerca de 76% dos rizóbios isolados nos solos do Sertão, apresentaram crescimento lento e 24%, crescimento rápido, sendo que a ocorrência de isolados com crescimento rápido foi maior no Sertão do que nas demais regiões ecofisiográficas de Pernambuco.

MORFOLOGIA DA COLÔNIA E PRESENÇA DE MUCO

A caracterização dos isolados que nodulam caupi, de acordo com a morfologia das colônias também permitiu encontrar diferenças significativas que podem ser utilizadas para o agrupamento dos mesmos. A morfologia de colônia tem sido considerada um parâmetro bastante útil na previsão da eficiência simbiótica das estirpes de *Bradyrhizobium* que nodulam soja. A forma da colônia é dependente da presença de muco, o que é muito comum no gênero *Bradyrhizobium*. A consistência do muco produzido é também bastante variada, principalmente nos isolados de crescimento rápido. Enquanto algumas colônias, apresentam aspecto gomoso outras são aquosas com o muco chegando a se espalhar por toda a placa e tornando difícil o isolamento da colônia. Entre os isolados de crescimento lento que produziram nódulos em caupi e em soja, encontramos somente colônias com muco do tipo butírico. Alguns isolados apresentaram acumulação de N em soja semelhante ao da estirpe BR-33. Estas semelhanças morfo-fisiológicas sugerem um relacionamento mais estreito entre os isolados e a estirpe BR-33. Alguns isolados do tipo viscoso, apresentaram um muco semelhante a leite coalhado que foi definido como floculoso. A colônia apresenta forma circular aos 7 dias e forma variável aos 10 dias. A maioria destes isolados formam nódulos ineficientes em soja (Nod⁺ Fix⁻). Os resultados obtidos até o momento revelaram um número grande de rizóbio de crescimento rápido capaz de nodular caupi nos solos das áreas em estudo. Os dados também mostram uma grande diversidade entre os isolados obtidos, como pode ser observado na Tabela 2.

Os resultados obtidos no presente levantamento foram discutidos nas publicações Martins et al (1995), Martins et al (1997) e Neves e Rumjanek (1997). A descrição dos isolados está apresentado na Tabela 3.

REFERÊNCIAS

- FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. **Yeast Extract** – Manitol Agar Laboratory Manual of General Microbiology. New York: McGraw Hill, 1928. 145p.
- MARTINS, L.M.V.; RUMJANEK, N.G.; NEVES, M.C.P. Diversity of cowpea nodulating rhizobia isolated from the semi-arid northeastern region of Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.67, n.3, p.467-471, 1995.
- MARTINS, L.M.V.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n.5/6, p.1005-1010, 1997.
- NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n.5/6, p.889-895, 1997.

TABELA 2. Características de crescimento de rizóbio isolado de solos do Sertão da região Nordeste do Brasil usando caupi como planta-isca.

	Nº de isolados			
	pH em meio de cultura			
Crescimento	Ácido	Neutro	Alcalino	Total
Lento	4	21	242	267
Rápido	68	15	6	89

QUADRO 1. Relação dos Solos coletados na região do Sertão para isolamento de rizóbio.

Amostra 04 - solo do sertão sergipano
 Amostra 05 - solo do sertão sergipano
 Amostra 07 - solo do sertão sergipano
 Amostra 09 - Solo Aluvial - Projeto Irrigação Bebedouro
 Amostra 10 - Solo Aluvial - Projeto Irrigação Bebedouro
 Amostra 11 - PVA - PISNC (área PA II)
 Amostra 12 - PISNC - área PA II - PVA
 Amostra 13 - Fazenda Cruz - Distrito de Malhada - Petrolina
 Amostra 14 - Sítio Cacimba Grande - Poço Dantas - Petrolina
 Amostra 15 - Fazenda água Branca - Cristália - Petrolina
 Amostra 16 - Sítio Cearense - Uruáis - Petrolina
 Amostra 17 - LVA - Perímetro Irrigado Bebedouro - Petrolina
 Amostra 18 - Latossolo - Perímetro Irrigado Bebedouro - Petrolina
 Amostra 19 - Fazenda Milho Novo - Ouricuri - PE
 Amostra 20 - Chapada de Santa Rita - Ouricuri - PE
 Amostra 21 - Fazenda Quixaba - Ouricuri - PE
 Amostra 31 - LVA - Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho (Lote 327)
 Amostra 32 - LVA - PISNC (Lote 361)
 Amostra 33 - Areia quartzosa - Petrolina - PE
 Amostra 34 - Bruno não cálcico - Petrolina - PE
 Amostra 35 - Vertissolo - (área do CPATSA)
 Amostra 36 - Solo Bruno não cálcico - (área do CPATSA)
 Amostra 37 - Regossolo (área do CPATSA)
 Amostra 38 - PVA - área de sequeiro do CPATSA

QUADRO 2. Resultados das Análises dos Solos coletados

Amostras de solos	pH H ₂ O	Complexo Sortivo (meq/100g solo)							%	% Mat. Org.	ppm	
		Al	Ca+Mg	Ca	Mg	Na	K	S	v		P	K
4	7,0	0,0	15,2	11,8	3,4	-	-	-	-	-	62	156
5	7,3	0,0	28,8	21,8	7,0	-	-	-	-	-	28	258
7	7,1	0,0	27,0	20,0	7,0	-	-	-	-	-	80	169
9	7,0	0,0	-	6,1	1,6	0,02	0,58	8,30	100	1,19	87,75	-
10	6,7	0,05	-	6,9	2,1	0,06	0,35	9,41	89	1,60	24,9	-
11	5,7	0,05	-	2,1	0,7	0,07	0,32	3,19	66	1,47	3,45	-
12	6,8	0,05	-	2,7	1,4	0,01	0,46	4,57	90	1,50	62,70	-
13	6,5	0,05	-	2,4	0,5	0,01	0,26	3,17	91	0,85	2,85	-
14	6,8	0,05	-	3,5	0,9	0,02	0,48	4,90	97	0,93	14,40	-
15	5,8	0,05	-	1,7	0,6	0,01	0,23	2,54	69	1,45	4,80	-
16	5,6	0,05	-	2,2	0,7	0,01	0,24	3,15	68	1,46	4,65	-
17	5,8	0,05	-	1,0	0,5	0,01	0,09	1,60	71	0,64	10,65	-
18	6,4	0,05	-	1,7	0,6	0,01	0,10	2,41	88	0,70	20,10	-
19	6,4	0,05	-	11,8	5,2	0,07	0,90	17,97	98	3,82	102,0	-
20	5,8	0,10	-	1,4	1,6	0,01	0,32	3,33	77	1,12	2,85	-
21	6,3	0,05	-	2,5	1,8	0,01	0,61	4,92	88	1,32	10,95	-
31	6,0	0,05	-	1,8	0,9	0,01	0,26	2,97	86	0,74	67,80	-
32	6,6	0,05	-	2,4	0,9	0,02	0,32	3,64	92	1,16	39,60	-
33	4,8	0,10	-	0,5	0,2	0,01	0,02	0,73	47	0,65	4,65	-
34	5,2	0,10	-	1,2	0,5	0,02	0,18	1,90	54	1,06	3,15	-
35	7,8	0,0	-	40,8	13,8	0,08	0,38	55,06	100	1,72	1,05	-
36	6,9	0,05	-	5,1	1,8	0,01	0,56	7,47	94	1,04	4,20	-
37	6,3	0,05	-	1,3	0,6	0,01	0,11	2,02	92	0,68	22,80	-
38	4,7	0,10	-	0,8	0,3	0,01	0,11	1,22	45	0,68	2,10	-