

OCORRÊNCIA DE *Derrxia* sp. EM SOLOS DE ALGUNS ESTADOS BRASILEIROS¹

ADALIS BEZERRA CAMPÊLO² e JOHANNA DÖBEREINER³

Sinopse

Foi estudada a ocorrência de *Derrxia* sp. em 100 amostras de solos dos Estados de São Paulo (Matão), Rio de Janeiro (Km 47), Pernambuco (Petrolina) e Pará (Belém), com diversas plantas, predominando gramíneas.

O meio de cultura usado para isolar do solo a bactéria foi um agar sem nitrogênio, com amido como fonte de energia e acrescentado de bicarbonato de sódio.

A inoculação foi feita com pedaços de raízes, ou com pequenas porções de solo, colocados diretamente sobre as placas de meio de cultura, com uma espátula.

A bactéria foi encontrada em solos dos Estados do Rio e do Pará, não ocorrendo nas amostras de solos extremamente secas de Pernambuco e de São Paulo (cerrado).

Derrxia sp. foi encontrada em 36% do total das amostras, parecendo o aumento da umidade do solo favorecer essa ocorrência. Assim, 77% dos solos inundados, 36% dos solos úmidos e apenas 13% dos solos secos apresentaram a referida bacteréria. Sua ocorrência ainda parece mais freqüente nas raízes (33%) que no solo mais afastado delas (26%).

Derrxia sp. esteve presente numa faixa de pH compreendida entre 4,5 a 6,5, sendo a ocorrência mais freqüente (47%) entre 5,1 a 5,5.

INTRODUÇÃO

Desde que a nova espécie *Derrxia gummosa* foi descrita por Jensen *et al.* em 1960, poucas informações têm sido acrescentadas à excelente descrição dos autores (Chakravorty & Das 1965). Roy (1962) descreveu uma outra espécie desse gênero, isolada de juta parcialmente decomposta, na Índia.

Nada se conhece sobre a ecologia do organismo. Ao lado das duas espécies de *Derrxia*, isoladas na Índia (Jensen *et al.* 1960, Roy 1962), *Derrxia* sp., provavelmente *D. gummosa*, foi isolada de 15 amostras de solo da rizosfera de diferentes plantas coletadas no Estado do Rio de Janeiro (Döbereiner 1966).

A falta quase completa de informações sobre a ocorrência de *Derrxia* não deve ser devida a dificuldades na identificação, pois essa bactéria é facilmente identificada por colônias inicialmente lisas e depois enrugadas, marrom-amareladas, excessivamente duras, de consistência elástica, muito características. Essa au-

sência de dados pode ser devida à falta de métodos adequados para o isolamento e, provavelmente, ao fato de que são poucos os que trabalham no assunto, em áreas tropicais. Jensen *et al.* (1960) observaram que em meio agar sem nitrogênio, inoculado com grande número de células de *Derrxia*, somente poucas desenvolveram colônias características, enquanto milhões de outras formaram pequenas colônias brancas, não características. Assim, parece que algum fator adicional é necessário para começar a fixação de nitrogênio, porém, uma vez começada dentro das colônias gelatinosas, as condições são excelentes para a fixação e se desenvolvem colônias enormes (acima de 2 cm de diâmetro e 1 cm de altura).

Para estudar a ocorrência desse organismo parece essencial encontrar-se um meio livre de nitrogênio e conseqüentemente bastante seletivo, que permita a formação de colônias de todas as células.

No presente trabalho, com métodos já melhorados, apesar de não serem perfeitos, tentou-se fazer uma avaliação preliminar da ocorrência de *Derrxia* sp. em solos de algumas regiões brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 100 amostra de solos superficiais dos Estados do Rio de Janeiro (60), S. Paulo (7), Pernambuco

¹ Recebido 18 nov. 1969, aceito 10 dez. 1969.

Boletim Técnico n.º 92 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Apresentado no XII Congr. Bras. de Ciência do Solo, Curitiba, julho de 1969.

² Eng.º Agrônomo do Setor de Solos IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

³ Eng.º Agrônomo do Setor de Solos do IPEACS e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq 7103/68).

(3) e Pará (30), foi estudada a ocorrência de *Derxia* sp. A maioria das amostras era de solos cobertos com gramíneas, e de preferência úmidas.

De acordo com os resultados obtidos de uma série de experimentos anteriores (Campêlo & Döbereiner 1969), foi usado o meio de Lipman com uma ligeira modificação, em placas com amido solúvel como fonte de energia e acrescentado do bicarbonato de sódio a 0,01% ou 0,1%:

Meio de Lipman

Amido	20 g
K ₂ HPO ₄	0,05 g
KH ₂ PO ₄	0,15 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,20 g
CaCl ₂	0,02 g
FeCl ₃ sol. 10%	1 gota
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,002 g
Azul de bromotimol sol. alc. 0,5%	5,0 ml
Agar-agar	20 g
NaHCO ₃	0,1 g
H ₂ O	1.000 ml

A inoculação foi feita com pedaços de raízes (10/placa) ou com pequenas porções de solo (20/placa, aproximadamente 300 mg) colocados com auxílio de uma espátula, sobre o meio de cultura nas placas. As placas, assim preparadas, foram incubadas a 35°C e depois do 4.º ou 5.º dia começaram a aparecer as colônias de *Derxia*, elevadas, marrom-amareladas, brilhantes, duras e de consistência gelatinosa. No início foram lisas, tornando-se enrugadas depois e atingindo 2 cm ou mais de diâmetro e 1 cm de altura. Normalmente, as colônias apareceram por cima da porção de solo ou da raiz, mas outras apareceram por baixo e desenvolveram-se ao lado. Em alguns casos as colônias foram logo cobertas por fungos, tornando-se um pouco difícil a identificação. Em caso de dúvida, tocou-se a colônia com a alça, confirmando-se a consistência dura que não permitia que se tirasse algum pedaço da mesma. Em outros casos, apareceram colônias contaminadas, menos duras, mas só foram consideradas positivas quando bem características.

Nas amostras de n.º 1 a 44 foi usado o meio com 0,01% de bicarbonato, e nas de n.º 45 a 100 usaram-se duas placas com 0,01% e duas com 0,1% para cada amostra. Como não houve diferença entre as duas concentrações, são apresentadas as médias das 4 placas.

Foi determinado o pH dos solos e observado o estado de umidade de todas as amostras na ocasião da coleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1 são apresentados os resultados das contagens de *Derxia* em 100 amostras de solos. Ve-

rifica-se, em primeiro lugar, a presença dessa bactéria em 36 das 100 amostras coletadas. Enquanto nenhuma das 3 amostras de Petrolina e das 7 de Matão apresentaram a bactéria, 11 (36%) das 30 amostras de Belém e 25 (41%) das 60 amostras do Estado do Rio a continham.

A ocorrência dessa bactéria parece estar condicionada à umidade abundante do solo como pode ser observado na Fig. 1. A maior percentagem de amos-

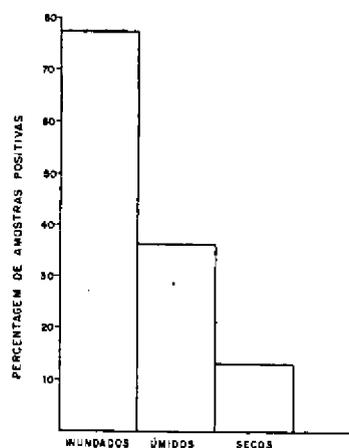


FIG. 1. Efeito da umidade na ocorrência de *Derxia*.

tras positivas foi encontrada nos solos inundados (77%), seguida pelas amostras de solos bem úmidos (36%), enquanto em amostras de solos secos era de apenas 13% a ocorrência. Tendo sido feita a coleta das amostras em época de pouca precipitação, a maioria das amostras de solos úmidos foi proveniente de lugares baixos, de má drenagem, como em campos de arroz. Esta observação é contrária ao que se deveria esperar de uma bactéria aeróbia (Jensen *et al.* 1960), mas a melhor fixação de nitrogênio com pO₂ mais baixo que o da atmosfera já foi observada em outras bactérias aeróbias fixadoras de N como *Azotobacter* (Parker 1954, Tschapek & Giambiagi 1955). Um aumento da ocorrência de *Beijerinckia* com a umidade do solo até a inundação ainda foi observado por Döbereiner & Alvalydo (1959). Schmidt & Rippel (1957) explicaram esta aparente controvérsia pelo fato de a fixação do nitrogênio em si ser um processo redutivo, sendo prejudicada pela pO₂ elevada da atmosfera, enquanto o desenvolvimento de *Azotobacter* suprido com N mineral aumentou com o aumento da pO₂ até duas vezes a pressão parcial de O₂ da atmosfera.

QUADRO 1. Ocorrência de *Derris* sp. em 100 amostras de solos (médias de 2 placas, de 1 a 44) e de 4 placas, de 45 a 100)

Amostra	Local	pH	Vegetação	Solo*	Umidade na hora da coleta	Ocorrência (% de porções positivas)	
						Solo	Raiz
1	Km 47	5,4	Gramíneas	G/E	Úmido	45,7	—
2	»	6,1	»	»	»	77,5	50
3	»	5,9	»	»	»	0	20
4	»	5,8	»	»	Sêco	0	0
5	»	4,0	Ciperáceas	E	Úmido	0	0
6	»	5,0	Gramíneas	G	Úmido	7,5	10
7	»	6,2	»	»	Sêco	0	0
8	»	5,5	»	E	Úmido	2,5	10
9	»	6,2	»	G	»	0	0
10	»	5,6	»	E	»	10	0
11	»	5,1	»	G/E	»	0	0
12	»	5,0	»	G	Sêco	0	0
13	»	5,1	»	G	Úmido	0	0
14	»	5,2	»	G	»	0	0
15	»	6,2	»	E	»	13,5	20
16	»	6,0	»	»	»	0	10
17	»	6,0	Compositae	G/E	Sêco	5	0
18	»	6,5	Comelináceas	»	»	0	0
19	»	5,8	Leguminosae	»	»	0	0
20	»	5,8	Gramíneas	»	»	0	0
21	»	6,3	Ciperáceas	»	»	0	0
22	»	5,1	Gramíneas	»	»	0	0
23	»	5,6	Ciperáceas	G	Inundado	0	90
24	»	5,6	Gramíneas	»	»	27,5	10
25	»	5,6	Onagraceas	G/E	Úmido	0	0
26	»	5,6	Ciperáceas	»	»	0	0
27	»	5,5	Gramíneas	»	»	0	0
28	»	5,2	»	G	Inundado	0	60
29	»	5,6	»	»	»	0	20
30	»	4,5	»	»	»	2,5	20
31	»	5,1	»	»	»	0	10
32	»	5,4	Onagraceas	»	»	0	50
33	»	5,2	Gramíneas	»	»	0	0
34	»	5,5	»	»	»	0	20
35	Matão	5,4	»	Arg. A	Sêco	0	—
36	»	7,3	Leguminosae	»	»	0	—
37	»	6,2	Sem vegetação	»	»	0	—
38	»	5,9	»	»	»	0	—
39	»	6,2	»	»	»	0	—
40	»	5,2	Gramíneas e Leguminosae	»	»	0	—
41	Matão	5,6	Sem vegetação	Arg. A	Sêco	0	—
42	Petrolina	7,7	»	»	»	0	—
43	»	7,2	»	»	»	0	—
44	»	8,3	»	»	»	0	—
45	Km 47	5,7	Compositae	G	Úmido	2,5	0
46	»	6,5	Gramíneas	E/G	Sêco	10	20
47	»	6,1	Tiliáceas	»	»	0	0
48	»	5,3	Onagraceas	G	Úmido	0	0
49	»	5,3	»	»	»	0	10
50	»	5,1	»	»	»	1	0
51	»	5,2	Ciperáceas	»	»	0	0
52	»	6,3	»	»	»	3,5	0
53	»	6,2	Compositae	E/G	»	2,5	10
54	Belém	4,6	Gramíneas	»	»	1	10
55	»	4,8	Sem vegetação	Arg. A	»	0	0
56	»	5,5	»	Arg.	Inundado	7,5	—
57	»	3,7	»	»	Úmido	0	—
58	»	4,2	»	»	Inundado	0	—
59	»	3,8	»	T	Úmido	0	—
60	»	3,8	»	»	»	0	—

Amostra	Local	pH	Vegetação	Solo ^a	Umidade na hora da coleta	Ocorrência (% de porções positivas)	
						Solo	Raiz
61	>	5,1	>	C	>	0	—
62	>	5,1	Gramíneas	Lat. trans.	>	0	0
63	>	5,3	Sem vegetação	Arg. A	>	0	—
64	>	5,0	>	LA	>	0	—
65	>	5,3	>	A	>	8,7	—
66	>	4,8	>	Lat. trans.	>	0	—
67	>	5,2	>	LA	Inundado	1	—
68	>	5,6	Leguminosae	A	Úmido	0	—
69	>	4,8	Gramíneas	>	>	7,5	0
70	>	5,0	>	LA	>	0	0
71	>	0,4	>	>	>	75	65
72	>	5,2	>	>	>	20	10
73	>	5,3	>	>	>	0	0
74	>	5,1	>	>	>	7,5	0
75	Belém	5,9	Gramíneas	LA	Úmido	6,2	15
76	>	5,7	>	A	Sêco	3,7	15
77	>	6,2	>	>	Úmido	50	95
78	>	—	Leguminosae	>	Sêco	0	0
79	>	6,3	>	Arg. A	Úmido	0	0
80	>	5,8	Sem vegetação	A	>	0	—
81	>	6,4	Leguminosae	>	>	0	0
82	>	7,8	>	Arg. A	>	0	0
83	>	—	>	>	>	0	0
84	Belém	6,3	Leguminosae	Arg. A	Úmido	1	10
85	Km 47	5,6	Gramíneas	E.	>	0	0
86	>	5,3	>	E/G	>	0	0
87	>	5,1	>	E	>	0	15
88	>	5,4	>	G	>	0	0
89	>	6,0	>	>	>	0	0
90	>	6,5	>	>	>	0	0
91	>	6,3	>	>	>	0	0
92	>	5,4	>	>	>	0	0
93	>	6,2	>	G	Inundado	0	0
94	>	6,1	Comelinaceae	G	Úmido	0	0
95	>	5,8	Leguminosae	E	>	0	0
96	>	5,3	Compositae	>	>	0	0
97	>	5,4	Gramíneas	>	>	0	0
98	>	6,1	Cyperaceae	>	>	0	0
99	>	5,9	Gramíneas	E/G	>	0	0
100	>	5,7	Leguminosae	>	>	0	0

- ^a E-Série Ecologia (grey hidromórfico)
 G-Série Guandu (solo hidromórfico)
 G/E-Transição entre Ecologia e Guandu
 A-Solo arenoso não classificado
 Arg.-Solo argiloso não classificado
 LA-Latosolo amarelo
 Lat. trans.-Laterito de transição
 C-Clareira
 T-Turfo.

Observando-se ainda no Quadro 1 a dependência da ocorrência de *Derris*, do pH do solo, verifica-se que o maior número de amostras positivas está na faixa de pH 5,1 a 5,5 (Fig. 2), tendo, entretanto, havido amostras positivas na faixa toda entre 4,5 e 6,5. Quatro amostras com pH abaixo de 4,5 e 8 amostras com pH acima de 6,5 não continham a bactéria. Pela descrição de Jensen *et al.* (1960), em

meio de cultura, *Derris gummosa* se desenvolve entre pH 5,0 e 8,5, mas em trabalho posterior, Döbereiner (1966) observou a ocorrência em solos com pH entre 5,0 e 6,2.

A ocorrência de *Derris*, não parece ser restrita à rizosfera de certas plantas, como o é, por exemplo, *Azotobacter paspali* (Döbereiner 1966), pois foi encontrada em amostras de solos sem cobertura vege-

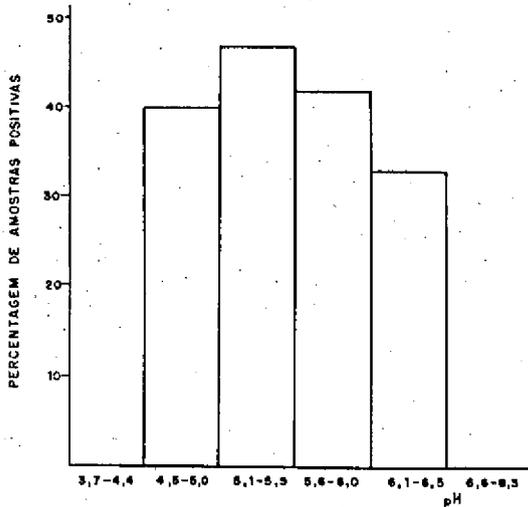


FIG. 2. Efeito do pH na ocorrência de *Derrtia*.

tal e com plantas as mais diversas. Comparando-se o número de colônias contadas em placas inoculadas com solos com as inoculadas com pedacinho de raízes, verifica-se que 33% de amostras de raízes e 26% de amostras de solo resultaram positivas (Fig. 3).

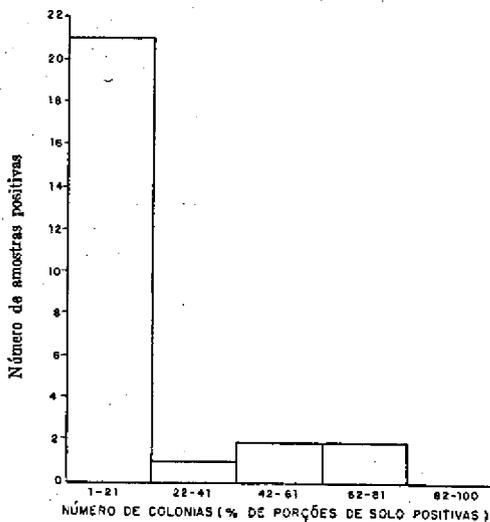


FIG. 3. Distribuição da frequência de porções de solo positivas (Amostras onde apenas as raízes foram positivas, não estão incluídas nesta figura).

Os dados apresentados no presente trabalho demonstram que *Derrtia* parece ocorrer com bastante frequência, sendo sua ocorrência pouco menor que a de *Beijerinckia* que foi estimada em 55 a 56% (Döbereiner 1968), e provavelmente ligada às condições

tropicais. Não parece, assim, ser "extremamente rara" como observado por Jensen (1965). Não tendo sido ainda perfeitos os métodos usados, possivelmente a sua distribuição será maior do que a encontrada no presente estudo.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo preliminar permitem tirar as seguintes conclusões:

a) a ocorrência da bactéria é condicionada à umidade abundante do solo, sendo a maior percentagem de amostras positivas encontrada em solos inundados;

b) com relação ao pH, foi na faixa de 5,1 a 5,5 que ocorreu a maior percentagem de amostras positivas, embora a bactéria tenha ocorrido desde pH 4,5 até 6,5;

c) o tipo de cobertura vegetal pouco ou nada influuiu, uma vez que amostras de solos sem vegetação ou com as mais diversas plantas continham a bactéria; contudo foi obtido maior número de colônias em inóculos de pedaços de raízes do que nos de porções de solo;

d) o número de solos que contêm a bactéria poderá ser bem maior do que o estimado neste trabalho (36%), levando-se em consideração que os métodos para o isolamento, embora melhorados, ainda não foram perfeitos.

REFERÊNCIAS

- Campêlo, A.B. & Döbereiner, J. 1969. Methods for the isolation of *Derrtia*. *Int. News Bull. Soil Biol.* (No prelo)
- Chakravorty, S.C. & Das, N.B. 1965. Studies on nitrogen fixation and respiratory activity of *Derrtia gummosa*. *Indian J. Expt. Biol.* 3:234-239.
- Döbereiner, J. & Alvahydo, R. 1959. Influência da umidade do solo na população de bactérias do gênero *Beijerinckia* *Derrtia*. *Ciência e Cultura* 11:208-218.
- Döbereiner, J. 1966. *Azotobacter paspali* sp. n. uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. *Pesq. agropec. bras.* 1:357-367.
- Döbereiner, J. 1968. Non-symbiotic nitrogen fixation in tropical soils. *Pesq. agropec. bras.* 3:1-6.
- Jensen, H.L., Peterson, E.J., De, P.K. & Bhattacharya, R. 1960. A new nitrogen fixing bacterium: *Derrtia gummosa* nov. gen. nov. sp. *Arch. Mikrobiol.* 36:182-195.
- Jensen, H.L. 1965. Non-symbiotic nitrogen fixation. In Bartholomew, W.V. & Clark, F.E. (ed.), *Soil Nitrogen*. Am. Soc. Agron. Inc. Publ., Madison, Wis.
- Parker, C.A. 1954. Effect of oxygen on the fixation of nitrogen by *Azotobacter*. *Nature, Lond.*, 173:780.
- Roy, A.B. 1962. A New species of *Derrtia*. *Nature, Lond.*, 194:604-605.
- Schmidt-Lorenz, W. & Rippel-Baldes, A. 1937. Wirkung des Sauerstoff-Partialdrucks auf Wachstum und Stickstoffbindung von *Azotobacter chroococcum* Beij. *Arch. Mikrobiol.* 28:45-68.
- Tschapek, M. & Giambiagi, N. 1955. Nitrogen fixation of *Azotobacter* in soil - Its inhibition by oxygen. *Arch. Mikrobiol.* 21:376-390.

OCCURRENCE OF *Derxia* sp. IN SOME BRAZILIAN SOILS*Abstract*

Derxia occurrence was studied in 100 soil samples collected in the States of São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco and Pará.

Soil bacteria were isolated on a nitrogen free agar media containing starch as a carbon source and added sodium bicarbonate. Plates were inoculated by placing bits of root material or soil granules directly on the surface of the media.

The bacteria was found in soils from the States of Pará and Rio de Janeiro but not in the dry soils of São Paulo and Pernambuco. Of the total number of soil samples 36% were positive. Soil humidity apparently favored *Derxia* development, 77% of the flooded soils, 36% of the humid soils and only 13% of the dry collected soils contained the bacteria. Its occurrence appeared to be more frequent on plates inoculated by roots (33%) than on those inoculated with portions (26%).

Derxia sp. was found in soils of a pH range between pH 4.5 and 6.5, the largest occurrence being observed between a pH 5.1 and 5.5.