

## OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO EM PROFUNDIDADE DE *Azotobacter* E *Beijerinckia* EM ALGUNS PERFIS DE SOLO DA ZONA ÚMIDA DE PERNAMBUCO<sup>1</sup>

ADALIS BEZERRA CAMPELO<sup>2</sup> e LUIZ BEZERRA DE OLIVEIRA<sup>3</sup>

### Sinopse

Em 12 perfis de solo da Zona úmida de Pernambuco, foram coletadas amostras de 0 a 50 cm de profundidade, para se verificar a ocorrência e distribuição de bactérias fixadoras de nitrogênio, dos gêneros *Azotobacter* e *Beijerinckia*.

Ditos perfis são representativos de solos podzolizados (7), latossólicos (2), aluvial (1), aluvial hidromórfico (1) e podzol hidromórfico (1).

Pelos resultados obtidos constatou-se que:

a) tanto o *Azotobacter* como o *Beijerinckia* foram encontrados até a profundidade de 50 cm;  
b) a quantidade de *Azotobacter* manteve-se constante, ou até aumentou com a profundidade, nos perfis que apresentavam camadas de textura leve. Nos perfis de camadas de textura média a pesada, a maior ocorrência se deu na superficial, ou na subsequente, diminuindo rapidamente com a profundidade;

c) o *Beijerinckia*, na maioria dos perfis, foi mais abundante na segunda camada (10-20 cm), diminuindo com a profundidade;

d) nas áreas com vegetação de cana-de-açúcar, em 3 dos 9 perfis estudados, não foi verificada a presença do *Beijerinckia*;

e) o *Azotobacter* esteve presente conjuntamente com o *Beijerinckia*, em áreas com cana-de-açúcar, chegando o número do primeiro a superar o do segundo em alguns perfis;

f) o *Azotobacter* ocorreu em várias camadas de solos com pH bastante ácido (4,2), fato este discutido na literatura.

Pelo exposto, sugere-se que nos estudos de microbiologia do solo, as amostragens sejam feitas até 50 cm ou mais, de profundidade.

### INTRODUÇÃO

Sendo o nitrogênio um dos elementos limitantes da produção é de muita importância o estudo da ocorrência das bactérias assimbióticas fixadoras de nitrogênio.

A presença de *Azotobacter* e *Beijerinckia*, em solos do Nordeste (Ruschel 1959, Döbereiner 1959a) vinha sendo observada, apenas, em amostras coletadas na camada superficial. Neste estudo, procurou-se determinar a ocorrência de microorganismos não só na camada superficial, como também em profundidade.

O assunto tem despertado a atenção de um grande número de estudiosos. Tschapek e Garboski (1953) estudaram perfis de solos pantanosos e inundados, contendo um horizonte glei, típico, e verificaram que a presença de *Azotobacter* era mais abundante nesse horizonte do que nos superiores, bem mais arejados, e que em solos e subsolos sob pavimentação, de diversos lugares de Buenos Aires, o *Azotobacter* ocorreu até a profundidade de 2,70 m. Batista (1965) realizou prospeções microbiológicas, em solos de várias regiões do país, com o fim de determinar os fatores que influenciam a ocorrência dessas bactérias fixadoras de nitrogênio.

Os estudos de Tschapek *et al.* (1954) com *Azotobacter*, realizados em tubos de ensaio com soluções de concentrações variadas de glucose, para verificação da exigência da bactéria no que diz respeito ao potencial de óxido-redução, indicaram que as películas das colônias da bactéria formavam-se tanto mais próximas da superfície quanto mais concentrada era a solução.

<sup>1</sup> Recebido em 28 de junho de 1968 e aceito para publicação em 3 de julho de 1968.

Realizado nos Setores de Microbiologia e Física do Solo, da Seção de Solos do IPEANE, em 1968. Apresentado no XI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Brasília, 1967.

Boletim Técnico n.º 18 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Nordeste (IPEANE).

<sup>2</sup> Eng.º Agrônomo do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26, ex-Chefe do Setor de Microbiologia do Solo, da Seção de Solos do IPEANE e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

<sup>3</sup> Químico Especializado em Solos, Chefe da Seção de Solos do IPEANE, Belém, Pará e bolsista do CNPq.

O ensaio foi repetido com *Beijerinckia*, por Döbereiner e Alvahydo (1960), com resultados semelhantes.

O caráter estritamente aeróbio dos gêneros *Azotobacter* e *Beijerinckia* ainda é bastante discutido, conforme a literatura consultada (Tschapek & Giambiagi 1955, Döbereiner & Alvahydo 1960). Apenas Breed *et al.* (1957) os consideram como tal. Segundo Tschapek e Giambiagi (1955), o *Azotobacter* não cresce na ausência de oxigênio, razão pela qual não pode pertencer ao grupo dos organismos anaeróbios facultativos, embora o comportamento seja, sob certos aspectos, semelhante. Há, portanto, uma concepção de que é *microaerófilo*.

No Brasil, não se tem conhecimento de outros trabalhos publicados sobre o assunto.

Baseados nessas informações, os autores, em 1963, deram início ao presente trabalho, em solos do Nordeste, tendo em vista que o conhecimento da microflora do solo e subsolo das áreas experimentais poderia fornecer dados importantes para a interpretação dos resultados obtidos no campo.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 12 perfis de solo, sendo 7 classificados como podzolizados, com horizonte B

textural, 2 com horizonte B latossólico, 1 aluvial, 1 aluvial hidromórfico e 1 podzol hidromórfico.

As amostras foram coletadas nesses perfis, recentemente abertos para caracterização físico-hídrica nas profundidades de 0-10; 10-20; 20-30; 30-40 e 40-50 cm. Em cada perfil, foram coletadas amostras uma só vez, excetuando-se os perfis do Engenho Ubu e da Estação Experimental do Curado, nos quais foram feitas 3 e 2 amostragens, respectivamente.

As amostras foram homogeneizadas no laboratório e analisadas com duas repetições. Para a contagem das colônias foram empregadas: placas de sílica-gel de Winogradsky (1948), com pH 6,8; glicose como fonte energética e inoculação com 100 mg de solo seco ao ar, passado em peneira com malha de 1 mm de diâmetro. Já no 2.º dia de incubação a 28°C, as placas apresentavam, quase sempre, colônias típicas de *Azotobacter*, isto é, circulares, bordos lisos, meio transparentes, e sem viscosidade, as quais eram marcadas e contadas. A partir do 8.º dia de incubação, foram marcadas e contadas as colônias de *Beijerinckia*. Essa contagem diferencial, pelo tempo de aparecimento das colônias, em sílica-gel, foi proposta por Döbereiner e Ruschel (1964).

A determinação de pH foi feita, em tôdas as amostras, pelo método potenciométrico, usando-se a relação água-solo de 1:1.

QUADRO 1. Principais características dos solos estudados

Unidade	Localidade	Perfil n.º	Situação topográfica		Classificação	Material originário
			Posição	Declive		
Ubu	Eng.º Ubu, Igarapu, Pe.	1	Encosta	5-10%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Ubu	Eng.º Ubu, Igarapu, Pe.	2	Encosta	5-10%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Ubu	Eng.º Ubu, Igarapu, Pe.	3	Alto	0-3%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Itaboraí	Eng.º Itaboraí, Pau d'Alho, Pe.	1	Alto	0-3%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Itapirema	E. Exp. Itapirema, Goiana, Pe.	1	Alto	0-3%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
São José	Eng.º D'Água, Igarapu, Pe.	1	Alto	0-3%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Recife	E. Exp. Curado, Recife, Pe.	1	Alto	0-3%	B Textural	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Mussurepe	Eng.º Mussurepe, Pau d'Alho, Pe.	1	Alto	0-3%	B Latossólico	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Eng.º D'Água	Eng.º D'Água, Igarapu, Pe.	1	Alto	0-3%	B Latossólico	Sedimentos argilo-arenosos da Formação Barreiras
Bom Jesus	E. Exp. Prod. Açúcar Pernambuco, Cabo, Pe.	1	Várzea	0-3%	Solo Aluvial	Sedimentos areno-argilosos depositados pelo Rio Gurjau
Iaman	E. Exp. Prod. Açúcar Pernambuco, Cabo, Pe.	1	Várzea	0-3%	Aluvial hidromórfico	Sedimentos argilosos depositados pelo Rio Gurjau
Arcial	E. Exp. Itapirema, Goiana, Pe.	1	Alto	0-3%	Podzol hidromórfico	Sedimentos arenosos da Formação Barreiras

A denominação da classe textural foi feita segundo o triângulo de classificação americano, após análise granulométrica, segundo Oliveira, (1966) realizada no Setor de Física do Solo, da Seção de Solos do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Nordeste (IPEANE), utilizando-se o hidróxido de sódio, como dispersante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 apresenta algumas características dos perfis de solos estudados. As Fig. 1 a 18 mostram os valores correspondentes aos números de microcolônias de *Azotobacter* e de *Beijerinckia*, pH de cada camada, seqüência dos horizontes e a classe textural à qual cada um pertence.

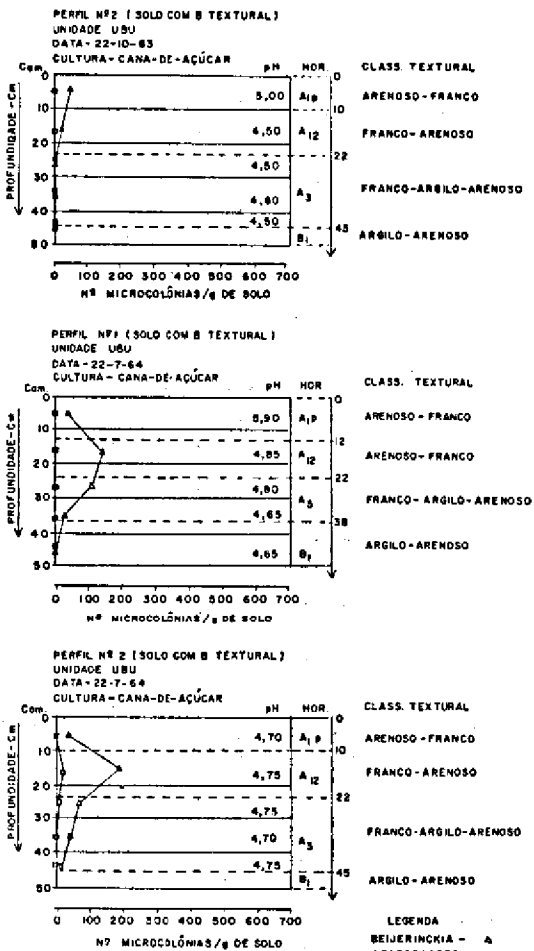
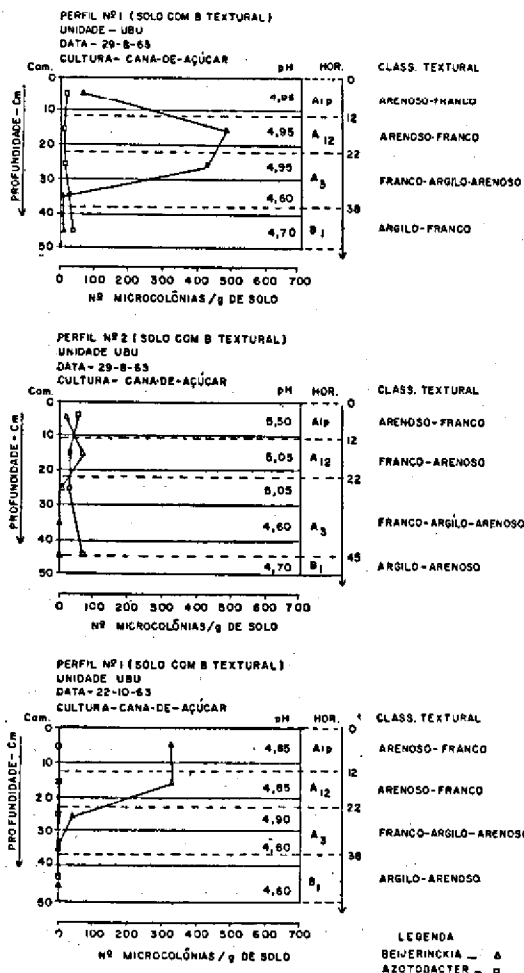


FIG. 4, 5, 6. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em dois perfis de solos da Untd. Ubu. P<sub>1</sub> em 22-7-63 e P<sub>2</sub> em 22-10-63 e em 22-7-63.

O estudo das Fig. permite observar a ocorrência e distribuição dessas bactérias, em profundidade, uma vez que não é somente na camada de solo arável (10-20 cm) que elas ocorrem e nem é sempre nessa camada que se verifica a maior ocorrência.

A presença de *Azotobacter* foi constatada em 10 dos 12 perfis analisados, enquanto o *Beijerinckia* ocorreu em 7 perfis.

Com relação à profundidade foi encontrado *Azotobacter*, em 8 perfis, até 50 cm (Fig. 1, 2, 7, 9, 10, 11, 12 e 15), às vezes aí ocorrendo maior número (Fig. 1, 2 e 15), enquanto que o *Beijerinckia* a essa profundidade ocorreu apenas em 3 perfis (Fig. 1, 6 e 12).

Em alguns perfis cujas camadas se apresentavam com boa porosidade (textura leve), o *Azotobacter*

FIG. 1, 2, 3. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em amostras coletadas em dois perfis da Unidade Ubu. P<sub>1</sub> em 29-8-63 e em 22-10-63 e P<sub>2</sub> em 29-8-63.

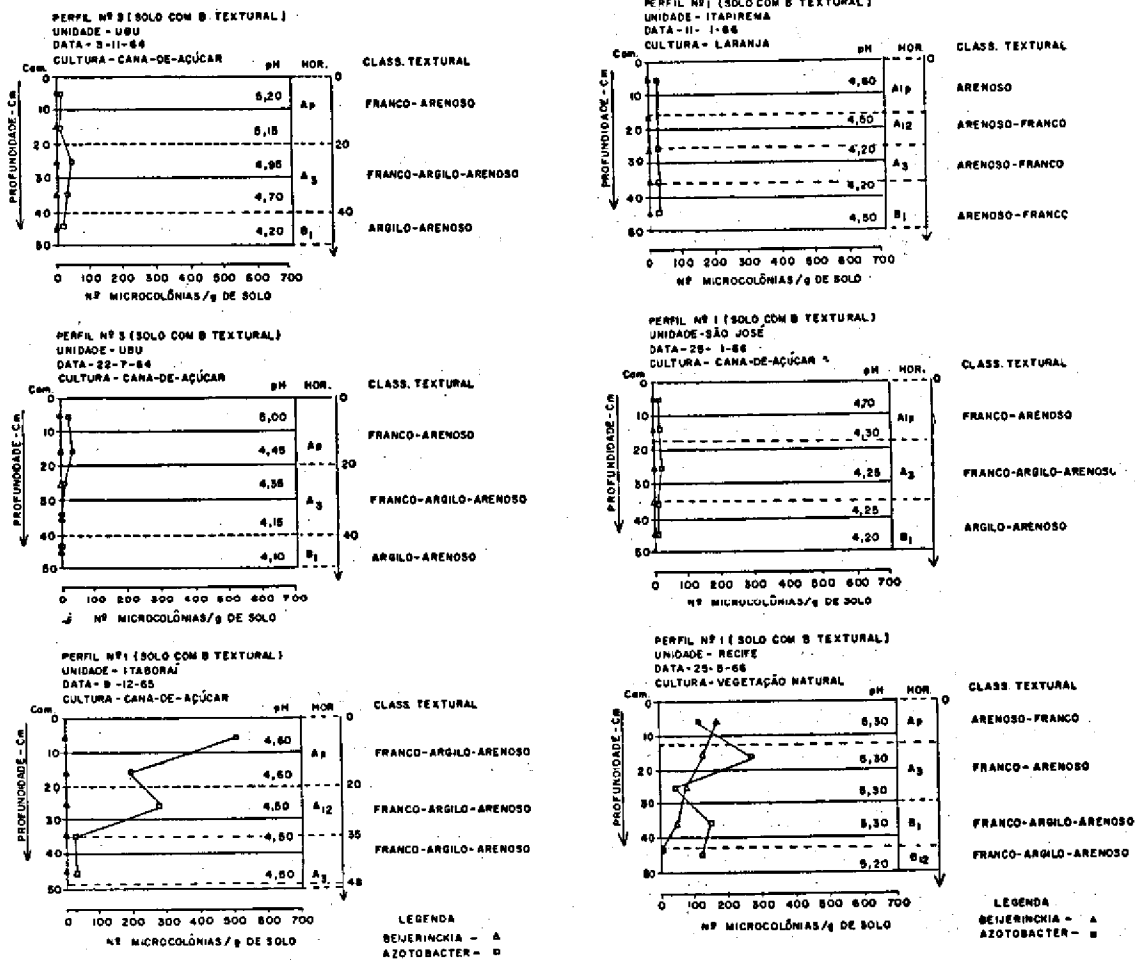


FIG. 7, 8, 9. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em dois perfis da Unid. Ubu  $P_1$  em 22-7-64 e em 3-11-64 e  $P_1$  em 9-12-65.

FIG. 10, 11, 12. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em três perfis. Unid. Itapirema ( $P_1$ ) em 11-1-66, Unid. S. José ( $P_1$ ) em 25-1-66 e Unid. Recife ( $P_1$ ) em 25-5-66.

estava presente, (Fig. 1, 2, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 15 e 16) o que não ocorreu em outros perfis, também com camadas de boa porosidade (Fig. 3, 4, 5 e 18).

Nos perfis (Fig. 9, 13, 14) de camadas de menor porosidade (aceração), o *Azotobacter* era abundante na camada superficial, diminuindo rapidamente nas camadas seguintes, ou não estava presente. Em alguns casos (Fig. 1, 2 e 7), nas camadas de menor porosidade, ocorreu o maior número. Isto poderá confirmar o caráter microaerófilo dessa bactéria.

Com relação à ocorrência de *Beijerinckia*, observou-se, mesmo nas camadas de menor porosidade (Fig. 1, 2, 5, 6, 13 e 14), uma incidência mais pronunciada dessa bactéria nas camadas de 10-20 ou 20-30 cm, o que nos leva a sugerir que, nos estudos de ocorrência microbiológica no solo, a amostragem não se restrinja às camadas superficiais.

Geralmente, em presença de *Azotobacter*, não ocorre *Beijerinckia*, e vice-versa; no entanto, nos perfis representados pelas Fig. 1, 2, 6, 12, 13, 14 e 16, os dois ocorreram conjuntamente.

Döbereiner (1959b) observou em amostras superficiais que em 95% dos solos de canavial, analisados, ocorria *Beijerinckia* e que apenas 65% dos solos com outra vegetação continha essa bactéria, mostrando assim, a preferência da mesma pelas gramíneas, e especialmente pela cana-de-açúcar. Em um perfil (Fig. 12 e 16) de solo sem cultura, apenas com a vegetação nativa (gramíneas, ciperáceas, leguminosas, etc.), ocorreram *Azotobacter* e *Beijerinckia*. No entanto, não foi encontrado *Beijerinckia* em três perfis (Fig. 7, 8, 9 e 11) de solos de canavial (de 9 analisados) e em um (Fig. 15) com cultura de capim elefante *Pennisetum purpureum* Schum.

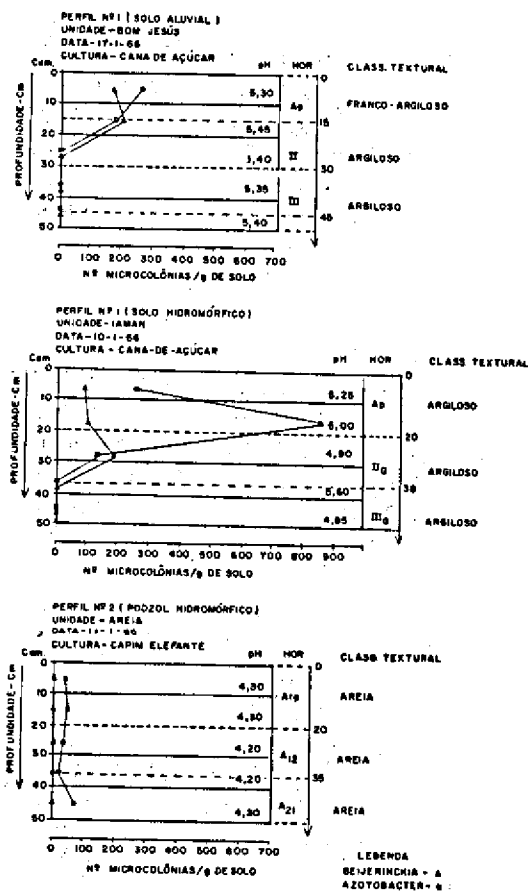


FIG. 13, 14, 15. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em três perfis. Unid. Bom Jesus (P<sub>1</sub>) em 17-1-66, Unid. Iaman (P<sub>1</sub>) em 10-1-66 e Unid. Areia (P<sub>2</sub>) em 11-1-66.

Nos perfis (Fig. 7, 9, 10, 11 e 15, por ex.) com variação de pH de 4,20 a 5,50, foi encontrado *Azotobacter*, muito embora a bibliografia consultada (Galli 1956, Ruschel & Döbereiner 1966, Döbereiner 1959b) só faça referência à presença dessa bactéria em solos com pH elevado, acima de 5,7. Galli (1956) diz que a incidência de *Azotobacter* aumenta com o pH do solo até o neutro. Nossa constatação está de acordo com Altson (1936) e Jensen (1955) que encontraram *Azotobacter* em solos ácidos (pH 4,5-5,3) da Malaia. Tal fato merece mais estudos, pois supõe-se que o *Azotobacter* encontrado no presente trabalho representa uma nova espécie, porque as já conhecidas desse gênero são todas sensíveis ao pH baixo.

O *Beijerinckia*, como se sabe, é mais tolerante à acidez, sendo, no entanto, nesse trabalho, pH 4,50 o mínimo em que ele ocorreu (Fig. 4). Amostras coletadas na Unidade Itaboraí mostraram grande

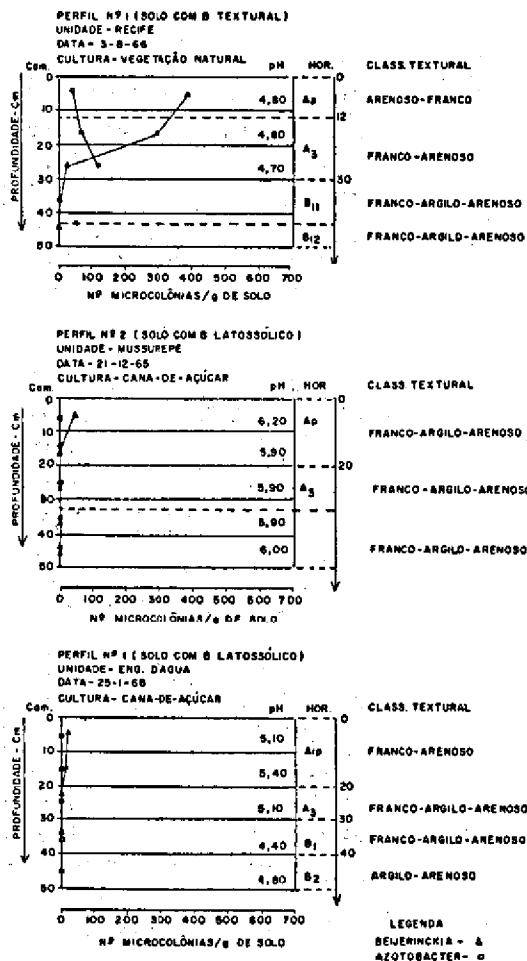


FIG. 16, 17, 18. Ocorrência de *Azotobacter* e *Beijerinckia* em três perfis. Unid. Recife (P<sub>1</sub>) em 3-8-66, Unid. Mussurepe (P<sub>2</sub>) em 21-12-65 e Unid. Eng. D'Água (P<sub>1</sub>) em 25-1-66.

quantidade de *Azotobacter* e ausência de *Beijerinckia*, constituindo surpresa, uma vez que era solo de canavial e com pH 4,50. Por vezes, encontrou-se apenas *Beijerinckia* em solos com pH muito baixo, outras vezes, os dois gêneros e em alguns casos, apenas *Azotobacter*.

### CONCLUSÕES

Pelo exposto concluímos que:

- 1) As amostras devem ser feitas até 50 cm ou mais, uma vez que *Azotobacter* e *Beijerinckia* foram encontrados até essa profundidade, nem sempre ocorrendo o maior número nas camadas superficiais.
- 2) O *Azotobacter* ocorreu em solos com pH bastante ácido, causando surpresa, pois esse gênero é bem mais sensível à acidez que o *Beijerinckia*.

3) Em alguns perfis com cana-de-açúcar não foi verificada a presença de *Beijerinckia*, como se esperava, chegando às vezes o número de *Azotobacter* a superar o de *Beijerinckia*, nas áreas em que apareceram conjuntamente.

### AGRADECIMENTOS

Tornamos público os nossos agradecimentos à Diretoria do IPEANE, pelo apoio ao nosso trabalho; aos auxiliares dos Setores de Física, Microbiologia e Fertilidade de Solos do IPEANE, pela colaboração nas determinações; ao Conselho Nacional de Pesquisas, pelo apoio e subvenção ao nosso plano de pesquisas; à colega Johanna Döbereiner, pela valiosa orientação.

### REFERÊNCIAS

- Alton, R.A. 1936 Studies on *Azotobacter* in Malayan soils. J. agric. Sci., Camb., 26:268-280.
- Batista, A.C. 1965. Comunicação pessoal.
- Breed, R.S., Murray, E.G.D. & Smith, N.R. 1957. Bergey's manual of determinative bacteriology. 7th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Döbereiner, J. 1959a. Sobre a ocorrência de *Beijerinckia* em alguns estados do Brasil. Revta bras. Biol. 19:151-160.
- Döbereiner, J. 1959b. Influência da cana-de-açúcar na população da *Beijerinckia* no solo. Revta bras. Biol. 19: 251-258.
- Döbereiner, J. & Alvahydo, R. 1960. Influência da umidade do solo na população das bactérias do gênero *Beijerinckia* Derr. Revta bras. Microb. 2:1-11.
- Döbereiner, J. & Ruschel, A.P. 1964. Methods for the study of *Beijerinckia*. Soil Biol. int. News Bull. 1:3-5.
- Galli, F. 1956. Ocorrência de *Azotobacter chroococcum* em alguns solos de Piracicaba. Revta Agric. Piracicaba 31: 145-156.
- Jensen, H.L. 1955. *Azotobacter macrocytogenes* n. sp., a nitrogen fixing bacterium resistant to acid reaction. Acta Agric. scand. 5:2-3.
- Oliveira, L.B. de 1966. Modificação do "Cilindro de Koettinge" utilizado na análise mecânica do solo. Pesq. agropec. bras. 1:239-241.
- Ruschel, A.P. 1959. A presença e a capacidade de fixação das bactérias do gênero *Beijerinckia* em alguns solos do Nordeste. VII Congr. bras. Ciênc. Solo, Piracicaba.
- Ruschel, A.P. & Döbereiner, J. 1965. Bactérias assimbióticas fixadoras de nitrogênio na rizosfera de gramíneas forrageiras. XI Congr. int. Pastagens, São Paulo, Brasil.
- Tschapek, M. & Garbosky, A. 1953. Condiciones de suelo y profundidades favorables al *Azotobacter*. Revta IDIA, B. Aires, 61:2-4.
- Tschapek, M. & Giambiagi, N. 1955. Nitrogen fixation of *Azotobacter* in soil. Its inhibition by oxygen. Arch. Mikrobiol. 21:376-390.
- Tschapek, M., Garbosky, A. & Giambiagi, N. 1954. Determination of the sum of substances available in the soil for *Azotobacter*. V Int. Congr. Soil Sci. 3:93-96.
- Winogradsky, S. 1948. Microbiologie du sol. Masson et Cie., Paris.

### OCCURRENCE AND VERTICAL DISTRIBUTION OF *Azotobacter* AND *Beijerinckia* IN SOME SOIL PROFILES OF THE HUMID ZONE OF PERNAMBUCO

#### Abstract

In 12 soil profiles of the humid zone of the Brazilian North East, soil samples were taken between 0 and 50 cm of depth to study the occurrence of *Azotobacter* and *Beijerinckia*. Seven podzolized soils, two latosolic soils, one alluvial soil, one alluvial hydromorphic podzol were analysed. From the results the following conclusions were drawn:

- Azotobacter* as well as *Beijerinckia* were found down to 50 cm of depth.
- Azotobacter* numbers in the light textured soils remained unchanged or even increased with depth. In the profiles with heavier texture the highest numbers were found in the first or second layer, decreasing rapidly with increasing depth.
- Beijerinckia* occurrence was generally more abundant in the second soil layer decreasing in the lower layers.
- Three out of 9 soils under sugar cane did not contain *Beijerinckia*.
- Simultaneous occurrence of *Azotobacter* and *Beijerinckia* was observed in some profiles, in sugar cane areas *Azotobacter* occurred in higher numbers than *Beijerinckia*.
- Azotobacter* occurred in several soils and layers with quite low pH levels (pH 4.2).

It was suggested that soil samples for microbiological studies should be taken until 50 cm of depth.