

SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *RHIZOBIUM* SPP PARA AMENDOIM (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) E GALÁXIA (*GALACTIA STRIATA* (JACQ.) URBAN.) (1). ELI S. LOPES (2), L. A. C. LOVADINI (2), S. MIYASAKA (2), T. IGUE (2) e ANTONIO R. GIARDINI (3). Embora o amendoim seja uma cultura de expressão econômica no Estado de São Paulo, poucas são as informações existentes sobre a fixação do nitrogênio atmosférico por essa leguminosa. Lopes e outros (4), em ensaios preliminares, observaram boa nodulação espontânea com *Rhizobium* spp autóctone, em latossolo roxo.

A galáxia é uma leguminosa nativa, que apresenta alta potencialidade para fins forrageiros, como demonstram alguns ensaios em andamento no Centro de Nutrição Animal e Pastagens, Nova Odessa, Instituto de Zootecnia, e no Instituto Agronômico. Mattos (5) observou, em ensaio de inoculação, que essa leguminosa pode beneficiar-se dessa prática.

Os trabalhos de seleção de estirpes, visando à capacidade de fixação do N₂ devem preceder outros estudos sobre a simbiose. É desejável que sejam feitas coletas de nódulos e isolamentos da espécie de leguminosa para a qual se pretenda realizar os trabalhos de seleção. No caso das leguminosas tropicais, bastante promíscuas, existem possibilidades, como já foi observado por Döbereiner (6), de se encontrarem *Rhizobia* eficientes para uma determinada espécie de leguminosa, mesmo com estirpes isoladas de leguminosas tropicais distintas.

O presente ensaio foi conduzido com objetivo de verificar a eficiência de estirpes de *Rhizobium* spp, isoladas de algumas leguminosas tropicais, em amendoim e galáxia.

(1) Recebida para publicação em 11 de junho de 1974.

(2) Com bolsa de suplementação do CNPq.

(3) Engenheiro-agrônomo, estagiário na Seção de Microbiologia do Solo.

(4) LOPES, E. S.; TELLA, R.; ROCHA, J. L. V. & IGUE, T. Inoculação de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). *Bragantia* 31:XXVII-XXXIV, 1972. Nota 6.

(5) MATTOS, H. B. Estudo da nodulação em *Galactia striata*. In: Reunião Latinoamericana de *Rhizobium*, 5., IPEACS, Rio de Janeiro, 1970. Anais. p.221-225.

(6) DÖBEREINER, J. Inoculação cruzada e eficiência na simbiose de leguminosas tropicais. In: DÖBEREINER, J.; EIRA, P. A.; FRANCO, A. A. & CAMPELO, A. B. As leguminosas na agricultura tropical. Rio de Janeiro, IPEACS, 1970. p.181-192.

Material e método — Foram utilizados vasos de Leonard com solução nutritiva isenta de nitrogênio, seguindo-se a técnica recomendada por Norris (¹), para o seu preparo.

As estirpes, bem como as leguminosas de origem, empregadas neste trabalho estão indicadas abaixo.

Espécie de leguminosa de origem	N.º SMS das estirpes
<i>Arachis hypogaea</i> L.	69 (=SA/RS n.º 602)
<i>Centrosema pubescens</i> Benth.	163 (=C100a, IPEACS, RJ)
<i>Desmodium adscendens</i> (Sw.) DC.	53,306
" <i>barbatum</i> (L.) Benth.	13*,33
" <i>canum</i> (Gmel.) Schinz et Thell	192
" <i>cuneatum</i> H. et A.	16*
" <i>intortum</i> (Mill) Urb.	138* (=CB-627)
" <i>pabulare</i> (Hochne) Malme	11
" sp.	126
" <i>tortuosum</i> (Sw.) DC.	10*
" <i>uncinatum</i> (Jacq.) DC.	2*, 3, 193
<i>Dolichus africanus</i> Brenan et Wilczek ...	139* (=CB756)
<i>Glycine wightii</i> (R. Grah., Wight et Arn.)	137* (=CB453), 176* (D=176,
Verdc.	Checoslováquia) (⁸), 291
	(=P105a, IPEACS, RJ)
<i>Phaseolus atropurpureus</i> Moc. et Sesse ...	298
<i>Stylosanthes</i> sp.	55, 119

A pureza de cada uma das estirpes foi previamente constatada por riscagem em caixa de petri com meio de manitol, água de levedura (YM) e vermelho-congo. Essas estirpes encontram-se preservadas em coleção, na Seção de Microbiologia do Solo, IAC (⁹).

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo que cada parcela consistiu de dois vasos.

Para controle de solução nutritiva, e de possíveis contaminações, foram incluídos dois tratamentos extras, sem inoculação, dos quais um sem adição de nitrogênio e outro com adição desse nutriente. O nitro-

(*) Empregadas no ensaio com amendoim.

(¹) NORRIS, D. O. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: Some concepts and methods in subtropical pasture research. Farnham Royal, Com. Agric. Bur., 1964. Bull. 47. p.186-198.

(⁸) Cultura introduzida em 1965, através do INTA, Buenos Aires, Argentina, onde está catalogada sob o n.º E-60.

(⁹) LOPES, E. S. Coleção de estirpes de *Rhizobium* spp. do Instituto Agrônomico. Campinas, Instituto Agrônomico, 1972. 12p. (Circular 11)

gênio foi adicionado na base de 10 ml, por vaso, de solução esterilizada de $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$ a 1%, tanto para o amendoim como para a galáxia.

A galáxia (variedade I-44.870) foi semeada em 27/7/71, à razão de 10 sementes por vaso. Para o plantio do amendoim (em 13/8/71) foram utilizadas seis sementes da variedade tatu, por vaso. As sementes de ambas as espécies foram previamente esterilizadas com uma solução acidificada de H_2Cl_2 1:1000, durante 10 minutos, e lavadas seis vezes em água esterilizada.

A germinação ocorreu aos cinco e seis dias após o plantio, para a galáxia e amendoim, respectivamente; o desbaste da galáxia foi feito em 30/7, e o do amendoim em 23/8, deixando-se de cada espécie duas plantas por vaso. A inoculação das duas espécies foi feita no dia do desbaste correspondente, adicionando-se em cada vaso 2 ml de caldo de cultivo com bom crescimento das estirpes em teste. Os inóculos, em ambos os ensaios, contavam cerca de 10 dias de incubação a 28°C, no momento da inoculação. A adição de nitrogênio no tratamento extra que levou esse nutriente foi feita no mesmo dia da inoculação. Outras adições de nitrogênio foram efetuadas, quando julgadas necessárias.

A queda dos cotilédones da galáxia ocorreu aos 17 dias após o plantio; os do amendoim foram cortados aos 17 dias após o plantio. No decorrer do ensaio foram feitas pulverizações para controle de ácaros.

Após 55 e 76 dias do plantio do amendoim e da galáxia, respectivamente, as plantas foram removidas dos vasos, para as observações. Com o emprego de jato d'água nos vasos mantidos em posição invertida foi possível remover o sistema radicular intacto.

Os nódulos foram separados, secos (60-70°C), pesados e contados. Determinou-se também o peso seco (60-70°C) total das plantas.

Resultados e discussão — a) Ensaio com *Galactia striata*. No quadro 1 estão indicadas as médias do peso seco das plantas, dos nódulos, e o número de nódulos observados em cada estirpe inoculada em galáxia.

As estirpes SMS 10, 16, 33, 53, 169, 176, 192, 193 e 306, embora incluídas nos ensaios, não foram consideradas na análise estatística, e foram omitidas do quadro 1. As estirpes SMS 33, 169 e 176 foram

omitidas por não terem induzido a formação de nódulos em galáxia. As demais apresentaram variâncias individuais muito elevadas (CV acima de 30%), e foram omitidas com o objetivo de obter um teste mais preciso das restantes (¹⁰).

QUADRO 1. — Peso seco (60-70°C) das plantas e dos nódulos e número de nódulos observados aos 76 dias após o plantio em duas plantas de galáxia, cultivadas em solução nutritiva sem nitrogênio, em vasos de Leonard, inoculadas com as estirpes indicadas

Estirpe	Peso seco das plantas	Nódulos	
		Peso seco	Número (**)
	g	g	
SMS-2	2,75 a	191,5 a	89,0 a
SMS-11	2,39 ab	120,3 abc	82,2 a
SMS-291	2,04 abc	112,6 abcd	30,5 bc
SMS-138	2,03 abc	139,9 abc	30,2 bc
SMS-126	1,75 bcd	95,8 abcd	27,8 bc
SMS-163	1,64 bcd	173,5 ab	50,8 ab
SMS-119	1,61 bcd	96,4 abcd	78,8 a
SMS-3	1,43 cd	91,5 bcd	31,2 bc
SMS-298	1,37 cd	105,6 abcd	68,0 ab
SMS-139	1,19 cd	60,3 cd	17,0 bc
SMS-137	1,07 d	51,0 cd	30,8 bc
SMS-55	0,89 d	48,0 cd	57,8 ab
SMS-13	0,86 d	19,0 d	11,5 bc
Testemunha sem nitrogênio (g) *	0,63	0	0
Testemunha com nitrogênio (g) *	3,28	0	0
C.V. %	22,6	38,0	18,6
d.m.s.	0,992	96,95	3,03

(*) Tratamentos extras, não considerados na análise estatística.

(**) Para a análise estatística foram considerados os valores de $\sqrt{x + 1}$

A comparação das médias de peso seco das plantas (quadro 1), pelo teste de Tukey ao nível de 5%, revelou que as estirpes SMS-2, SMS-11, SMS-291 e SMS-138, que apresentaram as maiores produções de massa, não diferem entre si. As estirpes SMS-126, SMS-163 e SMS-119 não diferem de SMS-11, SMS-291 e SMS-138, porém são inferiores à SMS-2.

(¹⁰) STEEL, R. G. D. & TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics. New York, MacGraw-Hill, 1960. 471p.

De modo geral, as estirpes que apresentaram maiores produções de massa também apresentaram maiores produções de nódulos. Não se observaram, entretanto, diferenças significativas entre as oito estirpes que apresentaram maiores valores absolutos para peso seco de nódulos. Observação semelhante pode ser feita para número de nódulos.

É interessante notar que a estirpe SMS-2 se destacou, em valores absolutos, para peso seco das plantas, dos nódulos e número de nódulos. Nessa estirpe, o início da fixação de nitrogênio (plantas inoculadas ficam mais verdes em relação ao tratamento sem adição de nitrogênio) verificou-se aos 28 dias após a inoculação, ao passo que para outras estirpes tal fato só foi observado aos 31 dias após a inoculação.

Com base nessas observações recomenda-se que a estirpe SMS-2 seja empregada para ensaios de inoculação em condições de campo, como padrão para testes futuros de seleção, ou para outros experimentos sobre a fixação de nitrogênio em *Galactia striata*.

b) Ensaio com *Arachis hypogaea* — No quadro 2 estão indicadas as médias do peso seco das plantas e dos nódulos e o número de nódulos observados no ensaio com amendoim.

Os dados apresentados no quadro 2 não foram submetidos à análise estatística, uma vez que, em sua maioria, as estirpes testadas não nodularam o amendoim.

Nessa leguminosa formaram nódulos apenas as estirpes SMS-2, SMS-139 e SMS-176, sendo que a estirpe SMS-2 se destacou, em valores absolutos, para peso seco das plantas, dos nódulos e número de nódulos. O início da fixação de nitrogênio pela estirpe SMS-2 verificou-se aos 25 dias após a inoculação; para as outras estirpes tal fato foi observado aos 27 dias após a inoculação.

É interessante notar que a estirpe SMS-137 (=CB453), isolada de *Glycine wightii*, não nodulou o amendoim, ao passo que a estirpe SMS-139, também isolada dessa leguminosa, nodulou o amendoim.

O fato de não se ter obtido nódulos em amendoim inoculado com várias estirpes de *Rhizobium* tipo "cow-pea" causa certa surpresa. Entretanto, fato semelhante foi observado com essa leguminosa, que também não formou nódulos com algumas estirpes isoladas de "cow-pea" (*Vigna sinensis* (L.) Savi), segundo comunicação de Day⁽¹⁾.

(1) DAY, J. Rothamstead Experimental Station. 2 Lyndhurst Drive. Harpenden, Inglaterra.

QUADRO 2. — Peso seco (60-70°C) das plantas e dos nódulos e número de nódulos observados aos 55 dias após o plantio em duas plantas de amendoim da variedade Tatu, cultivadas em solução nutritiva sem nitrogênio, em vasos de Leonard, inoculadas com as estirpes indicadas

Estirpe	Peso seco das plantas	Nódulos	
		Peso seco	Número
	g	g	
SMS-2	8,54	179,32	206,75
SMS-10	5,87	0	0
SMS-13	6,00	0	0
SMS-16	5,58	0	0
SMS-137	5,44	0	0
SMS-138	5,73	0	0
SMS-139	7,40	167,50	124,75
SMS-176	7,99	140,80	102,25
SMS-192	5,22	0	0
Testemunha sem nitrogênio *	5,39	0	0
Testemunha com nitrogênio *	9,00	0	0

(*) Tratamento extra, não considerado na análise estatística.

Em vista de a estirpe SMS-2, isolada de *Desmodium uncinatum*, ter sido a mais eficiente em amendoim e galáxia, ficou comprovado que para as leguminosas tropicais não há necessidade de se restringir às leguminosas de origem, nos programas de seleção de estirpes eficientes. Seria interessante, entretanto, comparar a eficiência de estirpes isoladas de amendoim e galáxia com a estirpe SMS-2. SEÇÃO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, SEÇÃO DE LEGUMINOSAS E SEÇÃO DE TÉCNICA EXPERIMENTAL E CÁLCULO, INSTITUTO AGRÔNOMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

SELECTION OF RHIZOBIUM SPP STRAINS FOR PEANUTS (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) AND *GALACTIA STRIATA* (JACQ.) URBAN.

SUMMARY

Leonard jar trials have been carried out in order to compare the nitrogen fixation capacity of *Rhizobium* spp strains, isolated from some tropical legumes, on peanuts and *Galactia striata*. Nine strains were tested on peanuts and 22 on *Galactia*.

A strain (SMS-2) isolated from *Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC proved to be effective on both legume species. Some of the strains nodulated *Galactia* but not peanuts.