

SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RHIZOBIUM PARA ESPÉCIES LEGUMINOSAS FLORESTAIS

SERGIO MIANA DE FARIA¹, V.C.G. MOREIRA¹ e AVILIO A. FRANCO²

RESUMO - Avaliou-se, através de experimentos de seleções em vasos esterelizados, a eficiência das estirpes de *Rhizobium* nas espécies florestais: *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth, *Mimosa scabrella* Benth, *Dimorphandra exaltata* Schott, *Albizia falcataria* (L.) Bacher, *Bowdichia virgilioides* HBK e *Dalbergia nigra* Fr. Allen e, também, em solo para *Mimosa scabrella*. Estudou-se, também, a vantagem de se pré-selecionar os nódulos através da atividade da nitrogenase (redução de acetileno), antes do isolamento do *Rhizobium* dos mesmos.

Para todas as espécies florestais estudadas, foram encontradas estirpes eficientes que proporcionaram plantas bem noduladas e com desenvolvimento satisfatório das mudas.

O isolamento de estirpes dos nódulos, com maior atividade da nitrogenase (redução de acetileno), resultou na obtenção das estirpes mais eficientes.

Termos para indexação: simbiose, fixação de N₂.

SELECTION OF RHIZOBIUM STRAINS FOR FOREST LEGUMES

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate different strains of *Rhizobium* in sterile pots for the following forest species: *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth, *Mimosa scabrella* Benth, *Dimorphandra exaltata* Schott, *Albizia falcataria* (L.) Bacher, *Bowdichia virgilioides* HBK and *Dalbergia nigra* Fr. Allen and test the nodules using the acetylene reduction assay before the isolation of *Rhizobium*. An experiment was also performed to select strains for *Mimosa scabrella* Benth, using pots with soil.

For all the species studied efficient *Rhizobium* strains were found, which gave well nodulated plants and good development of the aerial tissue.

Isolation of *Rhizobium* from the most active nodules as selected by the acetylene reduction assay of individual nodules produced the most efficient strains.

Index terms: symbiosis, N₂ fixation.

¹ Eng. Florestal - FINEP - EMBRAPA/UAPNPBS - km 47, Seropédica - 23460 Rio de Janeiro, RJ.

² Pesquisador da EMBRAPA/UAPNPBS, km 47, Seropédica, 23460 Rio de Janeiro, RJ.

INTRODUÇÃO

São muitas as leguminosas arbóreas no Brasil de interesse para a produção de madeira, visando vários produtos (Brewbaker et al. 1982, Silva & Döbereiner 1982; Magalhães et al. 1982). Entre as espécies de leguminosas arbóreas, a *Acacia mearnsii*, *Mimosa scabrella*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, *Prosopis juliflora*, *Dalbergia nigra*, *Parapiptadenia rigida* e outras são de grande valor econômico e silvicultural (Brewbaker et al. 1982; Döbereiner 1967; Loureiro et al. 1979). Silva & Döbereiner (1982) e National Academy of Science (1980) salientam a importância das leguminosas nos reflorestamentos, visando a produção de lenha, carvão, polpa para indústria de papéis e outros fins. No entanto, além de pouco exploradas economicamente, não se conhece a contribuição da simbiose Leguminosa/*Rhizobium*, e desconhece-se a eficiência das estirpes junto às espécies florestais.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de diferentes estirpes de *Rhizobium* em vasos esterilizados, para as seguintes espécies florestais: *Leucaena leucocephala* (Lam) de Witt var. K-72, *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth, *Mimosa scabrella* Benth, *Dimorphandra exaltata* Schot, *Albizia falcataria* (L) Bacher, *Bowdichia virgilioides* HBK, e testar a validade de pré-selecionar nódulos através da redução de acetileno, antes dos isolamentos de *Rhizobium* dos mesmos. Para *Mimosa scabrella* Benth, foi feito também um experimento de seleção de estirpes em vasos com solo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção de estirpes de *Rhizobium* em vasos esterilizados

Os experimentos de seleção de estirpes foram dispostos em blocos casualizados com quatro repetições para *Leucaena leucocephala* var. K-72, e com três repetições para as seguintes espécies: *Mimosa scabrella*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, *Dalbergia nigra*, *Bowdichia virgilioides*, *Dimorphandra exaltata*. O experimento com *Albizia falcataria* tinha inicialmente 4 repetições, algumas morreram por contaminação com *Fusarium* sp., sendo apresentado na Fig. 1 médias das plantas sobreviventes. Os experimentos foram instalados em casa de vegetação com temperatura entre 25 e 30°C, em vasos de "Leonard" com areia e vermiculita 2:1 p/p esterilizadas. A solução nutritiva usada (400 ml) foi, segundo Norris, modificada por Guzman & Döbereiner (1968) e trocada de 40 em 40 dias, intercalando-se com água destilada e deionizada.

Plantou-se cinco sementes por vaso, e, após germinadas, fez-se o desbaste deixando-se apenas duas plantas por vaso. A inoculação com as respectivas estirpes foi realizada no ato do plantio. As bactérias cresceram em meio 79 (Fred & Waksman 1928). Na primeira semana, após a germinação das sementes, todos os tratamentos receberam 10 mg de N na forma de NH_4NO_3 , na segunda semana foi aplicada 10 mg N/planta na testemunha nitrogenada (TN). A partir da terceira semana foi aplicado 20 mg N/planta/semana na TN. Também, usou-se um tratamento testemunha (T), sem adubação nitrogenada e sem inoculação com *Rhizobium*. As colheitas foram realizadas quando as plantas apresentavam altura adequada para o plantio em campo. Em todos os experimentos foram realizadas as seguintes análises: atividade da nitrogenase pela redução de acetileno, número e peso seco dos nódulos, peso seco e nitrogênio total de parte aérea.

Seleção de estirpes de *Rhizobium* em vasos com solo

Plantou-se cinco sementes de *Mimosa scabrella* em vasos com 2,5 kg de solo Podzólico Vermelho-

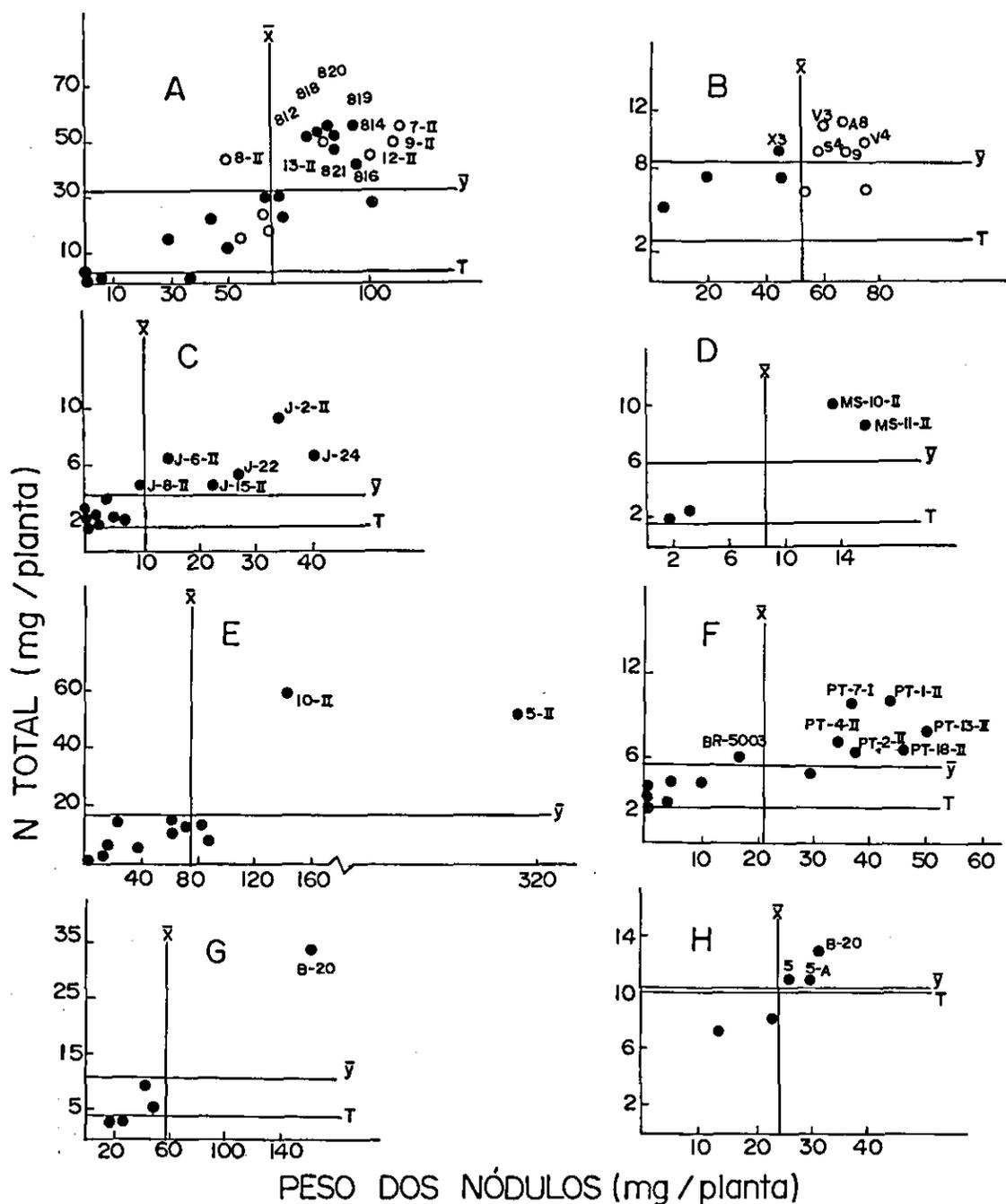


FIG. 1. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para leguminosas arbóreas em vasos esterilizados: (A) *Leucaena leucocephala* var. K-72, (B) *Mimosa caesalpiniaefolia*, (C) *Dalbergia nigra*, (D) *Bowdichia virgilioides*, (E) *Albizia falcataria*, (F) *Dimorphandra exaltata* e (G) *Mimosa scabrella* e em vasos com solo (H) *Mimosa scabrella*; \bar{X} - Média do peso seco dos nódulos; \bar{Y} - média do nitrogênio total da planta; T - tratamento controle; o - estirpes isoladas de nódulos sem pré-seleção; o - estirpes isoladas dos nódulos mais ativos na redução de acetileno.

-Amarelo da série Itaguaí, cuja análise química revelou 0,0 me/100 g de Al^{+++} , 5,4 me/100 g de Ca^{++} + Mg^{++} , 120 ppm de K^+ , 2 ppm de P e pH 6,1. Fez-se adubação em todos os vasos com 80 kg de P_2O_5 na forma de superfosfato simples. Os tratamentos contidos neste experimento foram idênticos aos realizados em vasos de "Leonard" para a mesma espécie. A inoculação, o desbaste, a aplicação de nitrogênio mineral e as análises, foram feitas conforme experimentos em vasos de "Leonard".

RESULTADOS

Para todas as espécies estudadas, foram obtidas estirpes eficientes, com produção de mudas bem noduladas e com desenvolvimento da parte aérea satisfatórios.

A melhor estirpe MS-10-II, para *Bowdichia virgilioides*, atingiu 25% do nitrogênio total da TN, quando esta recebeu 370 mg de N (\cong 740 kg de N/ha), parceladamente. Resultados melhores foram observados em *Dalbergia nigra*, *Dimorphandra exaltata*, *Mimosa caesalpiniaefolia*, *Leucaena leucocephala* e *Albizia falcata*, onde, as melhores estirpes fixaram nesta ordem o equivalente a 50, 33, 60, 41, 132 e 42% do nitrogênio total da testemunha com nitrogênio, que recebeu, respectivamente, 410, 450, 310, 310, 150 e 290 mg de N, parceladamente. As plantas, noduladas com as melhores estirpes, apresentaram N total de 1,3 a 13,7 vezes mais do que testemunha sem N. *Mimosa scabrella* não apresentou bom desenvolvimento em vasos esterilizados, e a melhor estirpe no solo só atingiu 20% da testemunha nitrogenada, que recebeu 285 kg de N/ha.

Apesar destes resultados promissores, o máximo de crescimento das plantas noduladas foi reduzido quando se compara com a planta sem restrições de nitrogênio, indicando que maior número de estirpes devam ser testadas, em *Dimorphandra exaltata*, *Dalbergia nigra*, *Bowdichia virgilioides* e principalmente em *Mimosa scabrella*. Os resultados da eficiência das estirpes de *Rhizobium*, para as diversas espécies florestais, nos experimentos de seleção de estirpes em vasos esterilizados, bem como em vasos com solos, são mostrados na Fig. 1. As estirpes que se colocaram no quadrante superior direito são superiores à população testada, enquanto, as que se colocaram no quadrante superior esquerdo, como, por exemplo, a (S-II de *Leucaena*), foram mais eficientes que as demais e merecem atenção especial.

Observou-se no experimento com *Leucaena leucocephala* var. K-72 que oito das estirpes isoladas de nódulos selecionados pelo teste de redução de acetileno, procedimento utilizado no Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado por J.R.R. Peres e M.A.T. Vargas (comunicação pessoal), cinco (63%) foram superiores à média, enquanto, dos 18 isolados pelo método tradicional, apenas sete (39%) ultrapassaram a média. O mesmo foi verificado com *Mimosa caesalpiniaefolia*: das sete estirpes isoladas dos nódulos mais ativos, quando testadas à atividade da nitrogenase, cinco (71%) ultrapassaram a média de todas as estirpes, e das quatro obtidas por isolamentos tradicionais, apenas uma ultrapassou a média.

Vale ressaltar que as estirpes isoladas pelo método tradicional já haviam sido testadas e selecionadas anteriormente, sendo algumas de utilização em vários países, como a NGR-8 (BR-817), indicada para *Leucaena leucocephala*.

O teste de redução de acetileno dos nódulos e o posterior isolamento dos mais ativos propiciaram um maior aproveitamento das estirpes e, conseqüentemente, menos trabalho nas seleções de *Rhizobium* com a planta hospedeira.

CONCLUSÕES

1. Existe *Rhizobium* eficiente para as diversas espécies florestais testadas, e a inoculação de *Rhizobium* propiciou mudas com desenvolvimentos satisfatórios.

2. Pré-selecionar nódulos através da redução de acetileno individual mostrou ser um método eficaz na obtenção de estirpes eficientes de *Rhizobium*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Eng.^o Florestal, Renato M. de Jesus (Reserva Florestal CVRD-Linhares-ES), pelo fornecimento das sementes e a Jair de Jesus Melo pela preparação das Figuras. Este trabalho foi financiado pela Comissão Nacional de Energia.

REFERÊNCIAS

- BREWBAKER, J.L.; BELT, R. van den & MACDICKEN, K. Nitrogen fixing tree resources: potentialities and limitations. In: GRAHAM, P.H. & HARRIS, S.C., eds. *Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture*. Cali, Colombia, 1982. p.413-25.
- DÖBEREINER, J. Efeito de inoculação de sementeiras de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) no estabelecimento das mudas no campo. *Pesq. agropec. bras.*, 2:301-5, 1967.
- FRED, F.B. & WAKSMAN, S.A. *Laboratory manual of general microbiology*. New York, McGraw-Hill Book Company, 1928. p.145.
- GUZMAN, I. & DÖBEREINER, J. Effectiveness and efficiency in the symbiosis of your cross inoculated tropical legumes. In: REUN. LAT. AM. INOC. LEGUM., 4, Porto Alegre, 1968.
- LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F. da & ALENCAR, J.C. *Essências madeiras da Amazônia*. Manaus, INPA, 1979. v.1 e 2.
- MAGALHÃES, F.M.M.; MAGALHÃES, L.M.S.; OLIVEIRA, L.A. & DÖBEREINER, J. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus. *Acta Amaz.*, 12(3):509-14, 1982.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, Washington, D.C. *Firewood crops; shrub and tree species for energy production*. Washington, D.C., 1980. p.237.
- SILVA, E.M.R. da & DÖBEREINER, J. O papel das leguminosas no reflorestamento. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: ASSOCIAÇÕES BIOLÓGICAS ENTRE ESPÉCIES FLORESTAIS E MICROORGANISMOS PARA O AUMENTO DA PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DE REFLORESTAMENTOS, 7. Anais ... Curitiba, EMBRAPA-URPFCS, 1982. p.33-52.