

EFEITOS DO FÓSFORO E FUNGO MVA NA NUTRIÇÃO DE DOIS PORTA-ENXERTOS DE CITROS¹

ELDA BONILHA ASSIS FONSECA², ELIZABETH DE OLIVEIRA³, MAURÍCIO DE SOUZA⁴ e JANICE GUEDES DE CARVALHO⁵

RESUMO - Avaliaram-se os efeitos do fósforo e de fungo MVA sobre a nutrição de porta-enxertos em "citrus-pot", até a fase de enxertia. O delineamento foi o de blocos ao acaso em fatorial 4 x 2 x 2, com três repetições e dez vasos por parcela. Os tratamentos foram quatro doses de P₂O₅ (0, 320, 640 e 1.280 g de P₂O₅/m³), dois porta-enxertos cítricos limoeiro: 'Cravo' (*Citrus limonia* L. Osbeck) e tangerineira 'Cleopatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) e a presença e ausência do fungo MVA, *Glomus clarum*. As doses crescentes de fosfato proporcionaram maiores teores de P e Ca, menores teores de Cu e Zn e maiores e menores teores de B na matéria seca da parte aérea dos limoeiros 'Cravo' e tangerineiras 'Cleopatra' respectivamente. A inoculação reduziu os teores de K na matéria seca nos dois porta-enxertos. Já os teores de S foram inferiores nos limoeiros 'Cravo', e superiores nas tangerineiras 'Cleopatra', infectadas. A inoculação de MVA não influenciou os teores de micronutrientes na matéria seca das plantas.

Termos para indexação: *Glomus clarum*, *Citrus limonia*, *Citrus reshni*, inoculação, limoeiro 'Cravo', tangerineira 'Cleopatra', superfosfato simples

EFFECTS OF PHOSPHORUS AND INOCULATION OF VAM FUNGUS, ON NUTRITION OF TWO CITRUS ROOTSTOCKS

ABSTRACT - This study was carried out to evaluate the effects of phosphorus and inoculation with the VAM fungus, *Glomus clarum*, on nutrition of orange rootstocks, planted in plastic containers until the grafting period. A factorial design (4 x 2 x 2) with four phosphorus doses (0, 320, 640 and 1280 g of P₂O₅/m³), two orange rootstocks [Rangpur lime (*Citrus limonia* L. Osbeck) and Cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.)] with and without inoculation of *Glomus clarum* was used. Increased dosages of phosphate resulted in higher amounts of P and Ca, lower amounts of Cu and Zn, higher amounts of B in dry matter of Rangpur lime and lower amounts of B in dry matter of Cleopatra mandarin. The inoculation of VAM decreased the amounts of K in dry matter in both plants. Rangpur lime when inoculated had lower amounts of S. Cleopatra mandarins when inoculated had higher amounts of S. The amounts of micronutrients in dry matter wasn't influenced by the inoculation.

Index terms: Rangpur lime, *Glomus clarum*, *Citrus limonia*, *Citrus reshni*, Cleopatra mandarin, simple superphosphate, inoculation.

INTRODUÇÃO

O limoeiro (*Citrus limonia* (L.) Osbeck cv Cravo) é o principal porta-enxerto da citricultura brasileira, estimando-se que 90% dos pomares en-

contram-se enxertados sobre ele. A utilização de um único porta-enxerto determina um ponto de vulnerabilidade da cultura. A tangerineira (*Citrus reshni* Hort. ex Tan. cv Cleopatra) é uma cultivar que vem-se destacando no contexto atual de diversificação do uso de porta-enxertos, principalmente por causa de sua tolerância ao declínio dos citros (Beretta & Lefèvre, 1986).

A adubação fosfática está diretamente relacionada com o crescimento de porta-enxertos cítricos (Carvalho, 1987; Camargo, 1989), principalmente nos primeiros estádios de crescimento das plantas. Segundo Barber (1977), as raízes de plantas jo-

¹ Aceito para publicação em 16 de setembro de 1994.

Extraído da Dissertação apresentada pela primeira autora para obtenção do grau de Mestre.

² Enga. Agra., M.Sc., EMPAER, MT, Caixa Postal 124, CEP 78 550-000 Sinop, MT.

³ Bióloga, M.Sc., Dep. Fitos., ESAL

⁴ Eng. Agr., Dr., Dep. Agric., ESAL.

⁵ Enga. Agra., Dra. Dep. Ciência do Solo, ESAL.

vens absorvem fosfato mais rapidamente do que raízes de plantas mais velhas.

A aplicação de 1.280 g de P_2O_5/m^3 em solo (Silva, 1981; Nicoli, 1982) e em substrato comercial (Camargo, 1989), proporcionou taxas máximas de crescimento de limoeiro 'Cravo'. A Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (1989) recomenda a dose de 1.300 g de P_2O_5/m^3 de solo de sementeira. Entretanto, o maior crescimento dos limoeiros 'Cravo' foi alcançado com doses de superfosfato simples, acima da média recomendada (Lira, 1990; Rezende, 1991). Taxas máximas de crescimento neste porta-enxerto foram verificadas com aplicação de 3.724 g de P_2O_5/m^3 de solo (Carvalho, 1987).

Os citros são dependentes das associações micorrízicas, por causa do número reduzido de radículas que possuem (Platt & Optiz, 1973). O favorecimento na absorção e na utilização de nutrientes, principalmente do fósforo, é o efeito mais consistente e de maior interesse prático promovido pela associação (Siqueira & Franco, 1988).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de doses crescentes de fósforo e da inoculação do fungo micorrízico, *Glomus clarum* (Nicolson & Schenk), na nutrição dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Cleopatra', em vasos de plástico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em casa de vegetação com cobertura plástica e nebulização, na Escola Superior de Agricultura de Lavras (MG), entre 30/10/89 a 30/11/90. As plantas foram conduzidas em "citrus-pots" destinados à produção de mudas cítricas. O substrato utilizado foi uma mistura de Latossolo Vermelho-Amarelo, bagaço de cana curtido, areia grossa lavada e vermiculita, numa proporção de 2:1:1:1, desinfestado com brometo de metila na base de 150 cc/m³.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em fatorial 4 x 2 x 2, com três repetições. Os tratamentos foram quatro doses de P_2O_5 (0, 320, 640 e 1.280 g P_2O_5/m^3 de substrato) na forma de superfosfato simples (SS), dois porta-enxertos, limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Cleopatra', e a presença e ausência do fungo micorrízico vesicular-arbuscular (MVA), *Glomus clarum*. A inoculação foi feita através de 10 ml de uma suspensão aquosa contendo aproximadamente 530 esporos do fungo sobre as seis sementes distribuídas em

cada "citrus-pot". Esta suspensão foi obtida através de peneiramento via úmida de um solo de vasos, onde foi multiplicado o fungo MVA. Os tratamentos não infectados receberam 10 ml de um filtrado da solução de esporos (sem esporos) para uniformização da população de outros microorganismos.

Após dois desbastes, deixou-se uma planta por vaso, sendo que o primeiro foi aos 50 dias, e o segundo, quando 80% das plantas da parcela atingiram 12 cm de altura.

Aos 105, 116, 151 e 210 dias realizaram-se adubações nitrogenadas e potássicas através de solução de nitrato de potássio (13% de N e 46% de K) a 0,02%, e uma solução a 20% de um fertilizante foliar para citros contendo cerca de 10% de N, 3% de Zn, 3% de S; 2% de Mn, 1% de Mg e 0,5% de B, aplicados alternadamente no substrato. A partir de 220 dias iniciaram-se adubações foliares semanais, utilizando-se o último fertilizante foliar numa concentração de 0,2%. A incidência de ácaros da gema (*Eriophyes sheldoni*) foi controlada com uma mistura de Enxofre pó molhável (0,002%) e Propargite (0,001%).

Aos treze meses, as plantas foram retiradas dos vasos, e lavadas em água corrente e destilada. A parte aérea das plantas foi levada para estufa a 70°C até adquirir peso constante. Determinaram-se os teores de macro e micronutrientes na matéria seca da parte aérea, segundo Sarruge & Haag (1974).

Para determinação da colonização micorrízica, retirou-se 1 g das raízes finas de cada uma das plantas, sendo estas conservadas em F.A.A. (13 ml de formalina + 200 ml de etanol 50% + 5 ml de ácido acético glacial). O descoramento e a coloração das raízes foi pelo método adotado por Phillips & Hayman (1970), e a porcentagem de colonização micorrízica, pelo método de placa quadriculada, segundo Giovanetti & Mosse (1980).

Os dados foram analisados de acordo com os modelos matemáticos apropriados para o delineamento de blocos ao acaso. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com níveis de significância de 5% e 1% para o teste F. No que respeita aos níveis de P_2O_5 , procedeu-se à análise de regressão, quando significativos pelo teste F, ajustando-se as equações a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de N, P, S e Cu foram iguais nos dois porta-enxertos. Já os teores de K, B, Mn e Zn foram maiores nos limoeiros 'Cravo', e os de Ca e Mg, maiores nas tangerineiras 'Cleopatra' (Tabela 1).

TABELA 1. Teores de macro e micronutrientes na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo'(CR) e Tangerineira 'Cleopatra' (CL) em função das doses de superfosfato simples (SS), aos treze meses da semeadura.

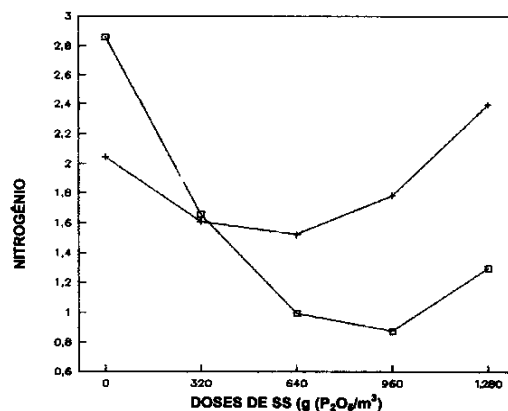
Porta-enxertos	Doses de SS (g de P ₂ O ₅ /m ³)				Médias
	0	320	640	1.280	
Nitrogênio (%)					
CR	2,97	1,36	1,20	1,23	1,69 A
CL	2,13	1,31	1,44	1,43	1,58 A
Fósforo (%)					
CR	0,06	0,13	0,14	0,15	0,12 A
CL	0,06	0,15	0,14	0,14	0,12 A
Potássio (%)					
CR	1,58	0,97	1,03	1,04	1,16 A
CL	1,23	0,96	0,89	0,84	0,98 B
Cálcio (%)					
CR	1,20	1,34	1,53	1,83	1,48 B
CL	1,55	1,79	1,98	2,51	1,96 A
Magnésio (%)					
CR	0,25	0,22	0,22	0,20	0,22 B
CL	0,31	0,33	0,34	0,33	0,33 A
Enxofre (%)					
CR	0,12	0,10	0,09	0,18	0,10 A
CL	0,10	0,09	0,10	0,13	0,10 A
Boro (ppm)					
CR	78	94	91	78	85 A
CL	101	64	74	67	77 B
Cobre (ppa)					
CR	16	13	10	9	12 A
CL	17	10	9	8	11 A
Manganês (ppa)					
CR	28	27	27	28	27 A
CL	28	22	24	25	25 B
Zinco (ppm)					
CR	49	48	36	34	42 A
CL	43	30	29	27	32 B

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se efeito significativo da interação porta-enxertos x doses para os teores da N na matéria seca da parte aérea. As equações de regressão (Fig. 1) indicaram redução de N na matéria seca, à medida que doses de P₂O₅ foram aumentadas. Observações semelhantes foram feitas por Nicolí (1982) e Fontanezzi (1989), e atribuídas ao efeito de diluição.

Os teores de P e Ca foram estatisticamente diferentes, por causa das doses de SS. Os acréscimos

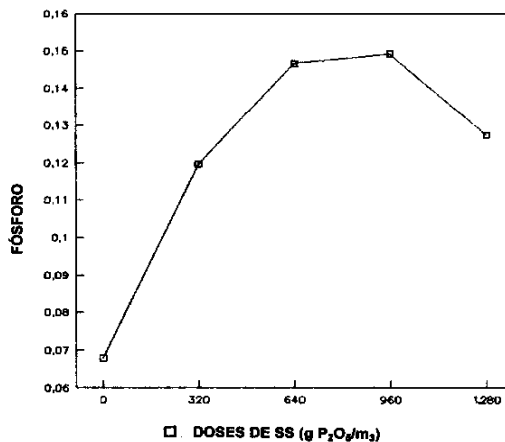
de P (Fig.2) podem ser atribuídos à maior disponibilidade de P no substrato, o que concorda com os resultados de Fortes (1991) e Rezende (1991). Já o teor médio de P foi de 0,17%, na matéria seca



$$\text{CR} : Y = 2,8694 - 0,0046.X + 0,00000264.X^2 \quad r^2 = 0,93$$

$$\text{CL} : Y = 2,0426 - 0,0019.X + 0,0000017.X^2 \quad r^2 = 0,80$$

FIG. 1. Equações de regressão relativas aos teores de N na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' (CR), e tangerineira 'Cleopatra' (CL), aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de superfosfato simples (SS).



$$Y = 0,0679 + 0,0002.X - 0,00000012.X^2 \quad r^2 = 0,90$$

FIG. 2. Equação de regressão relativa aos teores de P na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos cítricos, em função das doses de superfosfato simples (SS).

da parte aérea das plantas. Este valor foi inferior ao verificado por Camargo (1989) e Rezende, (1991) que estudaram o efeito de doses crescentes de P no crescimento e nutrição do limoeiro 'Cravo' até os pontos de repicagem e de enxertia, respectivamente. Tais diferenças podem ser atribuídas às características do ambiente, além do crescimento e idade das plantas.

Os acréscimos nos teores de Ca na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos (Fig. 3) podem ser atribuídos também à concentração e solubilidade do Ca presente no SS adicionado. Segundo Malavolta (1980), o SS fornece 20% de Ca.

A representação das equações de regressão referentes aos teores de K em relação aos porta-enxertos, doses de SS e inoculação, encontram-se na Fig. 4. As reduções observadas nos teores de K, causadas por doses crescentes de SS podem ser atribuídas às maiores taxas de crescimento das plantas em função do P fornecido, ocasionando o efeito diluição do K na matéria seca das plantas, o que confirma os resultados de Carvalho (1987). O aumento da concentração de Ca no substrato, através das doses crescentes de SS, também pode ter contribuído para tais reduções. Segundo Malavolta (1980), íons Ca^{+2} em altas concentrações interagem com íons K^{+} numa inibição competitiva. As reduções nos teores de K na matéria seca de porta-enxertos cítricos infectados com o fungo MVA podem ser atribuídas ao maior acúmulo de matéria seca, causado pelo aumento dos níveis de P, em relação à absorção de K, caracterizando o efeito diluição. Resultados semelhantes foram encontrados por Kleinschmidt & Gerdemann (1972) e Menge et al. (1978).

Neste trabalho não se verificou efeito das doses de SS sobre teores de Mg na matéria seca da parte aérea das plantas, o que concorda com os resultados obtidos por Carvalho (1987) e Camargo (1989).

Os teores de S na matéria seca não foram influenciados pelas doses de SS. O alto conteúdo de matéria orgânica do substrato utilizado (3,1%) pode ter proporcionado quantidades suficientes de S, fornecidas às plantas de forma gradual à medida em que foi mineralizada (Biederbeck, 1978); as diversas pulverizações efetuadas durante o período experimental visando ao controle de ácaros,

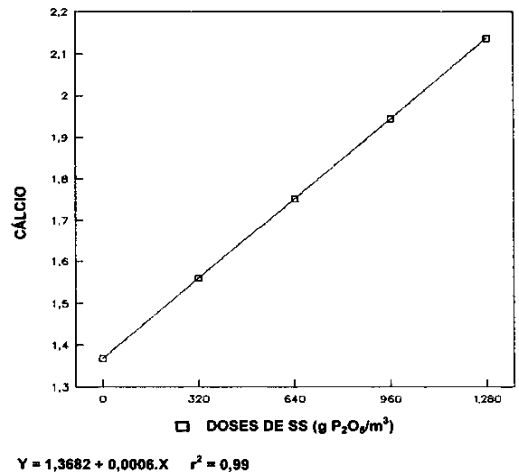


FIG. 3. Equação de regressão relativa aos teores de Ca na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos cítricos, aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de super-fosfato simples (SS).

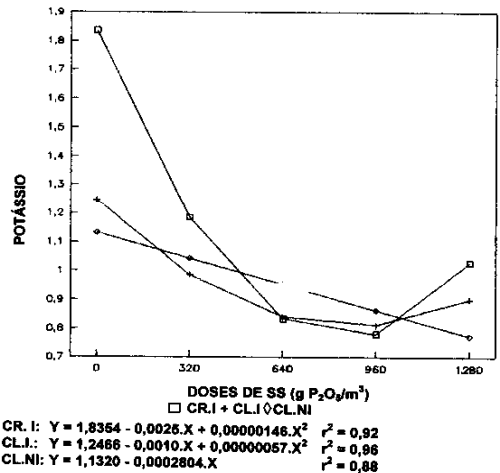


FIG. 4. Equações de regressão relativas aos teores de K na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' (CR), e tangerineira 'Cleopatra' (CL), aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de super-fosfato simples (SS) e da inoculação (I) ou não inoculação (NI) fúngica.

utilizando enxofre pó molhável, também pode justificar este resultado. Já as reduções no teor de S na matéria seca da parte aérea dos limoeiros 'Cravo' infectados (Fig. 5) podem ser atribuídas às maiores taxas de crescimento das plantas, por causa do fornecimento de SS, que causa o efeito diluição. A tendência a acréscimos no teor de S a partir de 974 g de P_2O_5/m^3 pode ser atribuída ao aumento da concentração deste nutriente no substrato, através de doses crescentes de P_2O_5 . Os aumentos no teor de S na matéria seca da parte aérea das tangerineiras 'Cleopatra' infectadas com *Glomus clarum* podem ser atribuídos ao aumento da disponibilidade de S no substrato, fornecido através das doses crescentes de SS.

Verificou-se efeito significativo das interações porta-enxerto x doses e porta-enxerto x inoculação nos teores de B e Mn, respectivamente, em relação à matéria seca da parte aérea. As equações de regressão para os teores de B em relação às doses de P_2O_5 e porta-enxertos encontra-se na Fig. 6. Os aumentos dos teores de B na matéria seca da parte aérea dos limoeiros 'Cravo' em função das doses de SS ter sido causados pelo alto teor de matéria orgânica do substrato (3,1%). As reduções verificadas nos teores de B na matéria seca da parte aérea das tangerineiras 'Cleopatra' foram causadas, talvez, pelo rápido crescimento inicial proporcionado pelo SS, em detrimento da absorção de B. O comportamento diferenciado dos dois porta-enxertos no que se refere aos teores de B determinados na matéria seca da sua parte aérea pode ser explicado pelo maior desenvolvimento do sistema radicular dos limoeiros 'Cravo', o que pode ser visto pela produção da matéria seca da raiz (Tabela 2).

Não se verificou relação entre os teores de Mn na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos e as doses de SS, e nem com a infecção das plantas. Este resultado pode ser atribuído a um alto teor de Mn no substrato ou às diversas pulverizações foliares efetuadas com um fertilizante contendo cerca de 2% do elemento. A infecção não teve efeito sobre o teor de Mn na matéria seca da parte aérea das tangerineiras 'Cleopatra', embora tenha-se observado maior peso de matéria seca da parte aérea das plantas 'Cleopatra' infectadas (Tabela 2). Acredita-se que este resultado se deva à quantidade

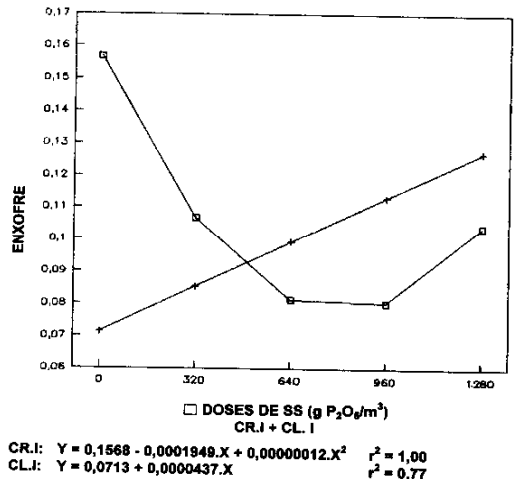


FIG. 5. Equações de regressão relativas aos teores de S na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' (CR), e tangerineira 'Cleopatra' (CL), aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de superfosfato simples (SS).

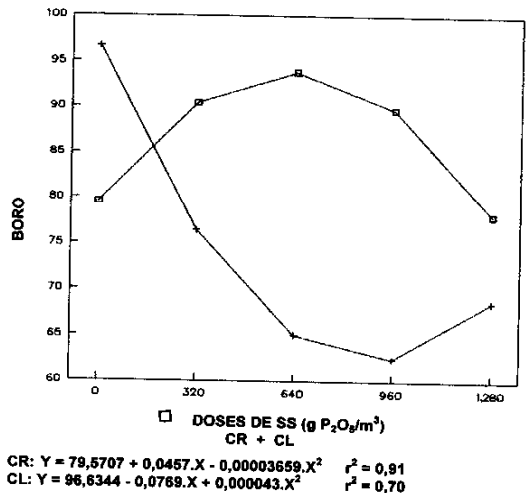


FIG. 6. Equações de regressão relativas aos teores de B na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' (CR) e tangerineira 'Cleopatra' (CL), aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de superfosfato simples (SS).

TABELA 2. Peso da matéria seca da parte aérea e das raízes dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' (CR) e tangerineira 'Cleopatra' (CL) infectados (I) e não infectados (NI) com fungo MVA, em função das doses de superfosfato simples (SS).

Porta-enxertos	Doses de SS (g de P ₂ O ₅ /m ³)				Médias
	0	320	640	1.280	
Peso da matéria seca da parte aérea (g)					
CR/I	3,05	12,37	23,59	38,53	19,39 A
CR/NI	1,17	16,97	26,06	26,29	17,62 A
CL/I	4,45	17,40	20,92	19,43	15,55 A
CL/NI	2,22	7,33	15,51	18,44	10,38 B
Peso da matéria seca das raízes (g)					
CR/I	2,73	7,46	12,98	20,42	10,90 A
CR/NI	1,28	9,59	12,87	13,65	9,35 A
CL/I	3,08	7,30	8,01	7,43	6,46 A
CL/NI	3,57	3,03	5,00	8,94	5,14 A

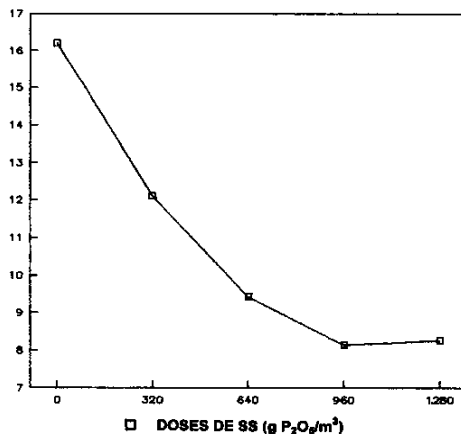
Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

de de Mn retirada pelas plantas. Apesar de não terem sido verificadas diferenças significativas entre os pesos de matéria seca de plantas 'Cravo' e 'Cleopatra', infectadas com *G. clarum*, observou-se maior teor de Mn na matéria seca da parte aérea dos limoeiros 'Cravo', em relação às tangerineiras 'Cleopatra'. Acredita-se que os teores de Mn na matéria seca da parte aérea dos limoeiros 'Cravo' e das tangerineiras 'Cleopatra', ambos não infectados, tenham sido iguais significativamente, em face da diluição deste nutriente nos tecidos das plantas 'Cravo' não infectadas, pois estas apresentaram maior peso de matéria seca da parte aérea (Tabela 2).

Os teores de Cu foram estatisticamente diferentes, por causa das doses de SS, e os teores de Zn diferiram estatisticamente de acordo com os porta-enxertos e as doses de SS. O peso da matéria seca das plantas em função dos tratamentos, encontra-se na Tabela 2. Os teores de Cu foram reduzidos por causa das doses de SS (Fig. 7). Tal redução pode ser explicada pela redução do processo de absorção do Cu, que interage com o P numa inibição competitiva (Malavolta, 1980). Segundo Spencer (1960), a redução do Cu absorvido pode

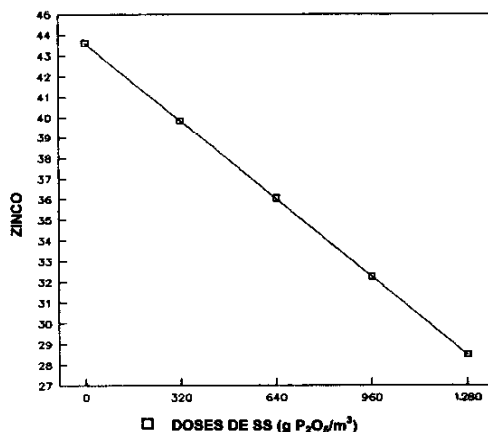
também ser atribuído a uma maior precipitação do elemento no solo.

As reduções nos teores de Zn na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos fertilizados com doses crescentes de P (Fig. 8) poderiam ser expli-



$$Y = 16,2155 - 0,0150.X + 0,00000887.X^2 \quad r^2 = 0,98$$

FIG. 7. Equação de regressão relativa aos teores de Cu na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos cítricos, aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de superfosfato simples (SS).



$$Y = 43,8065 - 0,0118.X \quad r^2 = 0,93$$

FIG. 8. Equação de regressão relativa aos teores de Zn na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos cítricos, aos treze meses pós-semeadura, em função das doses de superfosfato simples (SS).

cadadas pela interação P-Zn no solo formando $Zn_3(PO_4)_2$ insolúvel reduzindo sua disponibilidade, como sugere Olsen et al. (1977), ou através do efeito de diluição do Zn na planta em função do maior crescimento.

CONCLUSÕES

1. O superfosfato simples influenciou os teores de N, P, K, Ca, B, Cu e Zn na matéria seca da parte aérea dos porta-enxertos.

2. A inoculação do fungo MVA, *Glomus clarum* não influenciou os teores de micronutrientes na matéria seca dos porta-enxertos de citros.

3. A inoculação de *Glomus clarum* reduziu os teores de K na matéria seca dos porta-enxertos de citros; os limoeiros 'Cravo' e as tangerineiras 'Cleopatra' infectados apresentaram menores e maiores teores de S, respectivamente, quando comparados com plantas não infectadas.

REFERÊNCIAS

- BARBER, S. A. Application of phosphate fertilizers: methods, rates and time of application in relation to the phosphorus status of soils. **Phosphorus in Agriculture**, Paris, v.31, n.70, p.109-115, 1977.
- BERETTA, M.J.G.; LEFÈVRE, A.F.V. Declínio: resistência de variedades e pesquisas recentes. **Laranja**, Cordciorópolis, v.1, n.7, p.71-96, 1986.
- BIEDERBECK, V.O. Soil organic sulfur and fertility. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. (Eds.). **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1978. p. 273-310.
- CAMARGO, I.P. de. **Efeitos de doses, fontes de fósforo e de fungos micorrízicos sobre o limoeiro 'Cravo' até a repicagem**. Lavras: ESAL, 1989. 104p. Tese de Mestrado.
- CARVALHO, S.A. de. **Métodos de aplicação do superfosfato simples e do calcário dolomítico no limoeiro 'Cravo' em sementeira**. Lavras: ESAL, 1987. 124p. Tese de Mestrado.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 4ª aproximação. Lavras: CFSEMG, 1989. 159p.
- FONTANEZZI, G.B.S. **Efeitos de fósforo e de micorriza vesicular-arbuscular sobre o crescimento e nutrição de três porta-enxertos de citros**. Lavras: ESAL, 1989. 95p. Tese de Mestrado.
- FORTES, L. de A. **Processos de produção do porta-enxerto limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo) em vasos**. Lavras: ESAL, 1991. 96p. Tese de Mestrado.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, London, v.84, n.3, p.489-500, 1980.
- KLEINSCHMIDT, G.D. GERDEMANN, J.W. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizal. **Phytopathology**, St. Paul, v.62, p.1447-1453, 1972.
- LIRA, L.M. **Efeito de substratos e do superfosfato simples no limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo) até a repicagem**. Lavras: ESAL, 1990. 86p. Tese de Mestrado.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Ceres, 1980. 251p.
- MENGE, J.A.; LABANAUSKAS, C.K.; JOHNSON, E.L.V.; PLATT, R.G. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in greenhouse culture of citrus. **Soil Science**, Madison, v.42, n.6, p.926-930, 1978.
- NICOLI, A.M. **Influência de fontes e níveis de fósforo no crescimento e nutrição mineral do limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) em vasos, até a repicagem**. Lavras: ESAL, 1982. 103 p. Tese de Mestrado.
- OLSEN, S.R.; BROWMAN, R.A.; WATANEBE, F.S. Behavior of phosphorus in the soil and interaction with other nutrients. **Phosphorus in Agriculture**, Paris, v.31, n.70, p.31-46, June 1977.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.55, n.1, p.58-61, Aug./Sept. 1970.
- PLATT, R.G.; OPTIZ, K.W. Propagation of citrus. **The citrus industry**, Berkeley, v.3, n.1, p.1-47, 1973.

- REZENDE, L. de P. **Efeito do volume de substrato e do superfosfato simples na formação de porta-enxertos de citros.** Lavras: ESAL, 1991. 97p. Tese de Mestrado.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análise química em plantas.** Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.
- SILVA, J.U.B. **Efeitos do superfosfato simples e de seus nutrientes principais no crescimento do limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) em va-**
- SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Micorrizas.** In: SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas.** Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988. cap. 5, p.125-177.
- SPENCER, W. F. **Effects of heavy application of phosphate and lime on nutrient uptake, growth, freeze injury and root distribution of grapefruit tree.** *Soil Science*, Baltimore, v.89, p.311-318, 1960.

VARIABILITY IN INDIVIDUAL NODULE ACTIVITY OF SINGLE STRAINS OF *RHIZOBIUM ETLI* AND *R. TROPICI* IN SYMBIOSIS WITH *PHASEOLUS VULGARIS*¹

NADJA M. HORTA DE SÁ², IVANILDO EVÓDIO MARRIEL³ e AVÍLIO A. FRANCO⁴

ABSTRACT - A green-house experiment in Leonard jars was conducted to study the variability of nitrogenase activity (acetylene reduction) of individual nodules of *Phaseolus* beans inoculated separately with 19 strains of *Rhizobium tropici* and 6 strains of *R. etli*. Both species showed a wide range of activities with a C.V.=80% for *R. tropici* and C.V.=70% for *R. etli*. These data indicate that *Rhizobium* species with reiterated *nif* genes may present similar variability of single nodule activity as *Rhizobium* species containing a single copy of *nif* gene and that the use of either *R. tropici* or *R. etli* may be used for inoculant production with precaution for loss of effectiveness.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, leonard jars, nitrogenase, acetylene

VARIABILIDADE NA ATIVIDADE DE NÓDULOS INDIVIDUAIS FORMADOS POR ESTIRPES DE *RHIZOBIUM ETLI* E *R. TROPICI* EM SIMBIOSE COM O FEIJOEIRO

RESUMO - Foi conduzido, em casa de vegetação, em vasos-de-leonard, um experimento para estudar a variabilidade da atividade da nitrogenase (redução de acetileno) de nódulos individuais de feijão (*Phaseolus vulgaris*), infectados separadamente com 19 estirpes de *Rhizobium tropici* e 6 estirpes de *R. etli*. As 2 espécies mostraram grande variabilidade nas atividades, com um C.V.=80% para *R. tropici* e C.V.=70% para *R. etli*. Estes dados indicam que espécies de *Rhizobium* com "gens *nif*" repetidos podem apresentar variabilidade similar na atividade de nódulos individuais em relação às espécies de *Rhizobium* que contêm uma única cópia dos "gens *nif*"; indicam, também, que a utilização tanto de *R. tropici* como *R. etli* na produção de inoculante deve ser criteriosa, em face da perda de efetividade.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, vasos-de-leonard, nitrogenase, acetileno.

INTRODUCTION

Biological nitrogen fixation in *Phaseolus* beans has frequently been used as an example of poor response of a legume crop to inoculation. The presence of large population of rhizobia able to nodulate and fix nitrogen with this crop, its short cycle, the sensitivity of the host to environmental stresses and the genetic instability of the symbiont may be responsible, under different cropping systems, to the lack of response of *Phaseolus* bean to inoculation (Franco, 1977).

Rhizobia genetic instability in laboratory manipulation, resulting in loss or decreased ability of the symbiont to nodulate or fix nitrogen in symbiosis with the host, have been registered for a long time. These alterations may be a result of mutagenic agents such as acridines, UV-light, SDS, several types of radiation, etc. (Zurkowski et al., 1973, Mathis et al., 1985 and Barbur & Elkan, 1989). The alterations have also been observed to occur under stress of high temperature (Djordjevic et al., 1983, Weaver & Wright, 1987) or even spontaneously during the routine sub-cultivation (Weaver & Frederick, 1982). Franco (1974) observed large variation in colony morphology and symbiotic effectiveness of several *Bradyrhizobium* spp. strains grown and stored in yeast mannitol agar under oil at room temperature. Herridge & Roughley (1975) tested 17 stock cul-

¹ Accepted for publication on September 20, 1994.

² Bióloga, Ph.D., Dep. Botânica - ICB/UFMG CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG.

³ Eng.-Agr., M.Sc. CNPMS/EMBRAPA, CEP 35700-000, Sete Lagoas, MG.

⁴ Eng.-Agr., Ph.D., CNPBS/EMBRAPA, CEP 23851-970, Seropédica, RJ