

**COMPETIÇÃO DE ESTIRPES DE *Rhizobium* sp. E FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO MOLECULAR EM *Leucaena leucocephala* (LAM.) DE WIT., CULTIVADA EM SOLUÇÃO NUTRITIVA. NOTA PRÉVIA**

**LUIZ GONZAGA DA PAZ**

Prof. Adjunto do Dep. de Zootecnia da UFRPE.  
Pesquisador do Acordo UFRPE/IPA.

**NEWTON PEREIRA STANFORD**

Prof. Adjunto do Dep. de Agronomia da UFRPE.

**ARNÓBIO GONÇALVES DE ANDRADE**

Prof. Adjunto do Dep. de Química da UFRPE.

**MARTA MARIA V. LIMA MATOS**

Prof. Colaborador do Dep. de Zootecnia da UFRPE.

**ODEMAR VICENTE DOS REIS**

Pesquisador da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).

*Em trabalho conduzido em Casa-de-Vegetação, com vasos de "Leonard", foram comparadas 10 estirpes de *Rhizobium* sp. com relação à seleção de estirpes e a fixação de  $N_2$  em *Leucaena leucocephala* (LAM.) de Wit. As estirpes estudadas foram C-101 (CENA), S-5 (UFRRJ), C-107 (CENA), 5000(Roth. Sta.), CB. 756(AUSTRÁLIA), LC - 1, LC - 2, LC - 3, LC - 4 e LC - 5, isoladas na UFRPE, e a colheita ocorreu aos 90 dias de crescimento vegetativo. Os resultados mostraram que a estirpe C-107 foi a mais eficiente para a leguminosa estudada. Com referência ao  $N_2$  fixado foi encontrada uma relação linear entre o nitrogênio total das plantas e a massa nodular formada, confirmando resultados obtidos por outros autores, em outras leguminosas.*

## **INTRODUÇÃO**

A peculiaridade que as Leguminosas apresentam, de viverem em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, que formam nódulos em suas raízes, possibilitando a fixação do  $N_2$  livre existente na atmosfera, cujos níveis alcançam 87.000 t/ha, segundo ALLEN, citado por HUGHES<sup>6</sup> et alii(1966), tem encorajado a maioria dos pesquisadores que buscam manter o equilíbrio do sistema SOLO/PLANTA/ANIMAL.

Entre as leguminosas forrageiras estudadas nos trópicos, a *Leucaena* vem merecendo a atenção dos pesquisadores, devido, principalmente, aos elevados níveis de fixação de nitrogênio ( $N_2$ ) alcançados na Austrália. Apresenta teores de proteínas em torno de 34% (MEULEN<sup>10</sup> et alii, 1979), com níveis de aminoácidos em proporções bem balanceadas, semelhantes à alfafa e comparáveis à torta de soja e de pescado (HEGARTY<sup>5</sup>, 1977). Esta leguminosa responde bem à inoculação, quando feita com estirpes de elevada especificidade (JONES<sup>7</sup>, 1972), cresce bem em solos pobres e ácidos, apresenta alto valor nutritivo, boa palatabilidade, persistência, dispersão rápida e natural, além de utilização alternativa para corte e pastejo (SEMPLE<sup>15</sup>, 1970).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, com vasos de "Leonard", tendo como substrato, areia lavada esterilizada, e usando-se a solução nutritiva de NORRIS, modificada por DOBEREINER, descrita e citada por STANFORD<sup>16</sup> (1978). O isolamento de *Rhizobium* de nódulos de *Leucaena*, o preparo do meio de cultura e a inoculação, processaram-se de acordo com as recomendações de VINCENT, descrita e citada por PAZ<sup>13</sup> (1978). A fim de reduzir a impermeabilidade do tegumento, todas as sementes foram submetidas antes do plantio à escarificação térmica através da imersão em água quente a 85°C durante 5 minutos (FERRARIS<sup>2</sup>, 1979). Foram plantadas 5 sementes/vaso, e após a primeira semana, seguindo-se à emergência dos cotilédones, foi feito o desbaste, mantendo-se apenas duas plantas/vaso. Usando o delineamento inteiramente casualizado, foram comparadas 10 estirpes de *Rhizobium* sp., com 3 repetições, além de Testemunha; T<sub>2</sub>, C-101 (CENA), isolada de *Centrosema*; T<sub>3</sub>, S - 5 (Km 47 UFRRJ), isolada de *Stylosanthes*; T<sub>4</sub>, C-107 (CENA), isolada de *Leucaena*; T<sub>5</sub>, 5000 (ROTH, Station), isolada de *Vigna*; T<sub>6</sub>, CB - 756 (AUSTRÁLIA), isolada de *Dolichos*; T<sub>7</sub>, T<sub>8</sub>, T<sub>9</sub>, T<sub>10</sub> e T<sub>11</sub> (UFRPE), isoladas de *Leucaena*, classificadas neste trabalho como LC-1, LC-2, LC-3, LC-4 e LC-5. A colheita foi feita aos 90 dias de crescimento vegetativo, a matéria seca da parte aérea foi determinada após secagem em estufa a 105°C, e a análise de nitrogênio foi feita pelo método semimicro (Kjeldahl), usando óxido de mercúrio como catalizador. Utilizando os valores de N total contra o peso da matéria seca dos nódulos foi avaliado o nitrogênio fixado (DOBEREINER<sup>1</sup> et alii, 1966).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência de simbiose *Rhizobium*-leguminosa tem sido habitualmente avaliada pela quantidade de N total fixado, independente do número ou peso dos nódulos, ou pela correlação por vezes encontrada entre matéria seca dos nódulos, e o N total fixado (DOBEREINER<sup>1</sup> et alii, 1966; JONES<sup>7</sup>, 1972). Segundo outros autores (LOPES<sup>8</sup> et alii, 1974), o peso de matéria seca e o número de nódulos não são critérios satisfatórios, de per si, para caracterização da eficiência de estirpes. Como se sabe, a inoculação de leguminosas forrageiras tropicais, é um problema bastante controvertido, e, nem na Austrália, nem no Brasil, foi possível elaborar um inoculante satisfatório (NORRIS, citado por STAMMER<sup>17</sup>, 1974). Tal fato tem levado vários pesquisadores à prática da peletização (NORRIS<sup>12</sup>, 1966), visando preservar a bactéria em torno das sementes, e à inoculação com mistura de estirpes (STAMMER<sup>17</sup>, 1974), embora o efeito sinérgico

possa ou não ocorrer. Verifica-se através do quadro 1, que houve diferenças bastante acentuadas entre as estirpes de *Rhizobium* sp. estudadas, tanto em relação à massa nodular formada, como também, em maior evidência, pela quantidade de nitrogênio total fixado, a par da variabilidade ser elevada. Alguns relatos feitos por diferentes pesquisadores relacionados como a especificidade da *Leucaena* (JONES<sup>7</sup>, 1972), efetividade da associação hospedeiro-*Rhizobium* e competitividade da estirpe efetiva em formar nódulos quando comparada com a inefetiva (FRANCO (& VINCENT<sup>4</sup> (1974), necessidade de dose "starter" de Nitrogênio (MUNNS<sup>11</sup>, 1968; PAZ<sup>13</sup>, 1978), localização dos nódulos (HUGHES<sup>6</sup> et alii, 1966) e sintomas visuais de deficiência de N (MALAVOLTA<sup>9</sup> et alii, 1974) foram comprovados no experimento. A estirpe CB-756, isolada de Dolichos, na Austrália, apresentou valores superiores às estirpes isoladas de *Leucaena*, na UFRPE o que pode ser justificado em parte, pela qualidade do material do qual foram feitos os isolamentos entre estirpe e hospedeiros.

Resultados obtidos por outros pesquisadores (DOBEREINER<sup>1</sup> et alii, 1966; FRANÇA & CARVALHO<sup>3</sup>, 1970; LOPES<sup>8</sup> et alii, 1974; PAZ<sup>13</sup>, 1978; PAZ<sup>14</sup> et alii, 1980) em diferentes leguminosas, o gráfico 1, representando a regressão típica, demonstra que o N fixado depende do tecido nodular formado, podendo-se, a partir da equação  $Y = a + bX$ , onde  $Y = \log N$  total da planta, e  $X = M.S.$  nodular, obter-se o referido valor.

Quadro 1 — Médias do peso da matéria seca nodular e do N fixado, observadas em 10 estirpes de *Rhizobium* sp. inoculadas em *Leucaena* cultivada em vasos de Leonard.

ESTIRPE	Peso da M.S. dos nódulos (mg x planta <sup>-1</sup> )	Matéria seca/ unidade de N fixado (mg)	N fixado	
			Total <sup>++</sup> (mg. pl <sup>-1</sup> )	mg(pl. dia) <sup>-1</sup>
C - 107	238,6	3,7	65,2	0,7
CB - 756	78,9	2,9	27,0	0,3
LC - 3	68,8	2,8	21,0	0,26
LC - 1	63,5	3,0	21,6	0,23
S - 5	39,0	2,2	17,9	0,2
LC - 2	33,3	2,0	16,7	0,18
LC - 5	28,4	1,8	15,4	0,17
5000	19,9	1,4	14,0	0,15
LC - 4	16,6	1,3	12,3	0,14
C - 101	1,3	0,1	11,2	0,12
Testemunha	0,0	—	7,3*	0,08*

\* Valor considerado como absorvido

\*\* Após o debate, manteve-se 2 pl/vaso, daí porque os valores de N total fixado e absorvido estão divididos por 2.

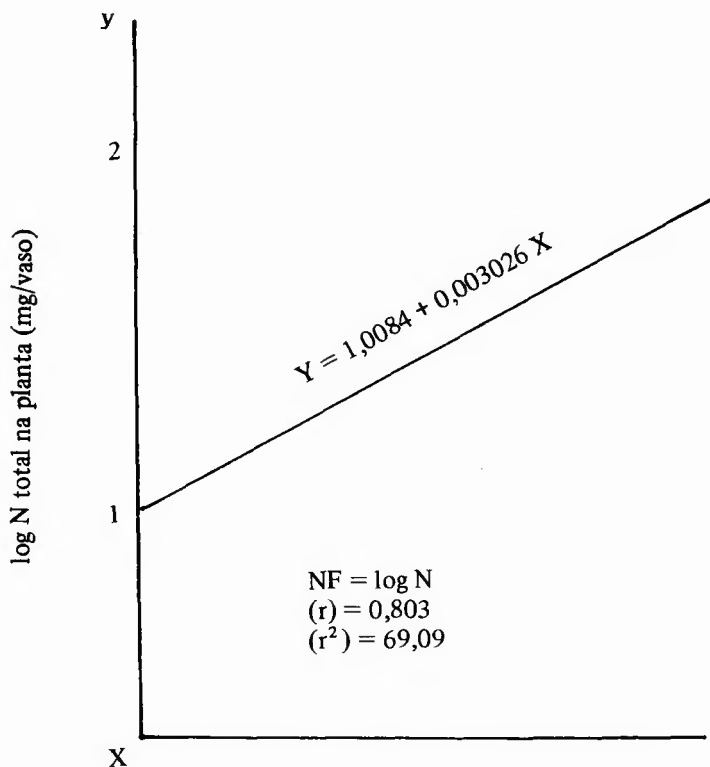


Gráfico 1 – Matéria seca nodular (mg/planta). Fixação de nitrogênio em *L. leucocephala*

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos podemos tirar as seguintes conclusões:

- a *Leucaena leucocephala* apresenta especificidade, com relação a inoculação da espécie com *Rhizobium* sp.;
- a quantidade de N fixado mostrou-se como função direta da massa nodular formada;
- a estirpe C-107 foi a que apresentou melhores resultados para a variedade usada.

## ABSTRACT

In a work conducted under greenhouse conditions, using Leonard pots, 10 strains of *Rhizobium* sp. were tested aiming to study the N<sub>2</sub> fixation in *Leucaena leu-*

*cocephala* (Lam.) de Wit, and select *Rhizobium* strains for efficiency. The strains studied were C-100 (CENA), S-5 (UFRRJ), C-107 (CENA), 500 (Roth. Sta.), CB-756 (AUSTRALIA), LC-1, LC-2, LC-3, LC-4 and LC-5, isolated at UFRPE, and the harvesting occurred within 90 days of the vegetative growth. The results showed that C-107 was the most efficient strain. Regarding to the fixed  $N_2$ , it was found a linear relation between the total N of the plants and the nodular mass formed, confirming the results obtained by other authors, for other leguminous plants.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – DOBEREINER, J.; ARRUDA, N. B.; PENTEADO, A. F. Avaliação da fixação do nitrogênio, em leguminosas, pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, 1:233-7, 1966.
- 2 – FERRARIS, R. L. Productivity of *Leucaena leucocephala* in the wet tropics of North Queensland. *Tropical Grasslands*, Queensland, 13 (1):20-7, 1979.
- 3 – FRANÇA, G. E. & CARVALHO, M. M. Ensaio exploratório de fertilização de cinco leguminosas tropicais em um solo de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, 5:147-53, 1970.
- 4 – FRANCO, A. A. & VINCENT, J. M. Competição entre estirpes de *Rhizobium* sp. na nodulação de duas leguminosas forrageiras tropicais. In: REUNION LATINOAMERICANA SOBRE *Rhizobium*, 7., Resistencia, 1974. *Actas . . . Resistencia*, Instituto Agrotécnico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste, 1975. p. 110-23.
- 5 – HEGARTY, M. P. *Leucaena. Promising forage and the tree crop for the tropics*. Washington, Ed. Ruskin, 1977. 31 p.
- 6 – HUGHES, D. H.; HEATH, M. E.; METCALFE, S. La inoculation de las leguminosas. In: —; —; —. *Forrajes*. México, Ed. Continental, 1966. p. 144-50.
- 7 – JONES, R. J. *The place of legumes in tropical pastures*. Queensland, Aspac Food & Fertilizer, 1972. 69 p. (CSIRO. Technical Bulletin, 9).
- 8 – LOPES, E. S.; GIARDINI, A.R.; KIIHL, R.; IGUE, T. Especificidade hospedeira e pré-seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* para as variedades Santa Rosa, Vicoja e IAC-2 de Soja (*Glycine max* (L) Merrill). In: REUNION LATINOAMERICANA SOBRE *Rhizobium*, 7., Resistencia, 1974. *Actas . . . Resistencia*, Instituto Agrotécnico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste, 1975. p. 182-95.

- 9 – MALAVAOLTA, E.; HAAG, H. P.; MELLO, F. A. F.; BRASIL SOBR<sup>o</sup>, M. O. C. *Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas*. São Paulo, Pioneira, 1974. 727 p.
- 10 – MEULEN, U. Ter; STRUCK, S.; SCHULE, E.; EL HARITH, E. A. Revison sobre el valor nutritivo y aspectos toxicos de la *Leucaena leucocephala*. *Producción Animal Tropical*, Westgermany, 4:112-26, 1979.
- 11 – MUNNS, D. N. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. II. Compensating effects of nitrate and of prior nodulation. *Plant and Soil*, The Hague, 28(2):246-57, 1968.
- 12 – NORRIS, D. O. The legumes and their associated *Rhizobium*. In: DAVIES, W. & SKIDMORE, C. L., eds. *Tropical pastures*. London, Faber, 1966. p. 89-105.
- 13 – PAZ, L. G. *Influência do pH e da nutrição mineral na nodulação e fixação de nitrogênio molecular pelo feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*, cultivado em solução nutritiva. Piracicaba, 1978. 186 p. Doutorado-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo.
- 14 – —; LIMA MATOS, M. M. V.; MALAVAOLTA, E. Effect of pH and variety on the nitrogenase (C<sub>2</sub> H<sub>4</sub>) activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grow in nutrient solutin. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, 4., 1980. Canberra, Australian Academic of Science, 1980. Abstract, 188.
- 15 – SEMPLE, A. T. *Grassland improvement. V. Forage from trees and shrubs*. London, Ed. L. H. Books, 1970. 400 p.
- 16 – STAMFORD, N. P. *Efeito de estirpes de Rhizobium sp., do nitrogênio, fósforo e enxofre na avaliação da fixação do N<sub>2</sub>, crescimento e absorção de nutrientes em cultivares de Vigna unguiculata(L.) Walp.* Piracicaba, 1978. 151 p. Doutorado-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo.
- 17 – STAMMER, E. E. Seleção de estirpes de *Rhizobium* sp. inoculadas em soja perene (*Glycine javanica* L.). In: REUNION LATINOAMERICANA SOBRE *Rhizobium*, 7., Resistencia, 1974. *Actas . . .* Resistencia, Instituto Agro-técnico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidade Nacional del Nordeste, 1955. p. 315-25.
- 18 – THOMAS, D. Nitrogen from tropical pasture legumes on the African Continent. *Herbage Abstracts*, Farnham Royal, 43(2):33-9, 1973.