

COMPORTAMENTO DE ESTIRPES DE *RHIZOBIUM* SP., EM *LEUCAENA LEUCOCEPHALA* (LAM.) DE WIT. CULTIVADA EM SOLO COM DOIS NÍVEIS DE CALAGEM (1)

(Performance of *Rhizobium* sp. strains on *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. on soil under two liming levels)

JOSÉ EDUARDO DE ALMEIDA (2), MARIA JOSÉ VALARINI (2) e ELI SIDNEY LOPES (3)

RESUMO

Com o objetivo de estudar o comportamento de estirpes de *Rhizobium* sp. em leucena, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., conduziu-se um experimento (19/03 a 24/06 - 1980) em casa de vegetação, utilizando-se um solo de cerrado, com dois níveis de calagem. Foram utilizados vasos de alumínio com 7,0kg de solo, sendo que as dosagens de calcário dolomítico utilizadas foram 1,0 e 1,8g/kg de solo. Foram testadas as estirpes SMS-436 (NGR-8), SMS-448, SMS-459 (CIAT-1923) e SMS-461 (CIAT-1967), provenientes da Seção de Microbiologia do Solo do Instituto Agrônomo, Campinas. Na colheita, aos 104 dias do plantio, foram feitas determinações de peso seco da planta, dos nódulos e análise de nitrogênio na parte aérea. Os resultados mostraram que a maior calagem fez aumentar a produção de matéria seca. Não houve formação de nódulos por rizóbios autóctenes, sendo que a nodulação, induzida pelas estirpes SMS-436 (NGR-8), SMS-448 e SMS-461 (CIAT-1967), correspondeu a aumentos de produção e fixação de N nos dois níveis de calagem. A estirpe SMS-459 (CIAT-1923) induziu nodulação, sem, entretanto, aumentar a produção.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de pastagens nos trópicos tem dado especial atenção à introdução de novas espécies vegetais e ao melhoramento das existentes. No Estado de São Paulo, os maiores esforços têm-se concentrado na introdução de novas espécies, havendo, todavia, extensivo programa de coleta regional e avaliação de leguminosas nativas.

Com relação ao manejo das pastagens, a utilização de plantas de porte arbustivo, tais como o guandu, *Cajanus cajan* (L.)

Mills, e a leucena, *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., vem despertando interesse devido à sua compatibilidade com a altura que apresentam grande parte das gramíneas tropicais e, conseqüentemente, à maior probabilidade de sucesso na consociação (JACQUES⁵ e JONES⁶). Além disso, durante o período de inverno ou seca, as leguminosas arbustivas, pela sua maior resistência, podem ser importante fonte de nutrientes para herbívoros (VILELA & PEDREIRA¹⁰).

Sobre a leucena, parece existir poucas

(1) Versão em inglês apresentada pelo terceiro autor no "Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture-International Workshop", Cali, Colômbia, março de 1981.

(2) Da Seção de Agronomia de Plantas Forrageiras, Divisão de Nutrição Animal e Pastagens. Bolsista do CNPq.

(3) Do Instituto Agrônomo, Campinas. Bolsista do CNPq.

informações das suas exigências nutricionais (ANDREW & ROBINS¹), sabendo-se, entretanto, que os solos ácidos e de baixa fertilidade, como os que predominam em regiões tropicais, são desfavoráveis ao seu estabelecimento e desenvolvimento (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES²). Algumas tentativas de introdução de leucena em solos de baixa fertilidade, no Estado de São Paulo, não foram bem sucedidas (ABRAMIDES^{*}).

Dentre os vários fatores que podem

limitar a introdução de leucena, deve-se considerar o estabelecimento de um sistema simbiótico eficiente, principalmente quando se considera que ela apresenta acentuado grau de especificidade (NORRIS³, TRINICK⁴ e ALMEIDA & LOPES^{**}).

No intuito de verificar o comportamento de algumas estirpes introduzidas, em favorecer o estabelecimento de leucena em um solo típico de cerrado, conduziu-se o presente experimento.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, da Divisão de Nutrição Animal e Pastagens, na Estação Experimental Central de Nova Odessa (SP), durante o período de 19/03 a 24/06/1980.

O solo (areia quartzosa) foi coletado em área do Posto de Avicultura de Brotas, na profundidade de 0-20cm, após limpeza superficial do terreno. Foi seco ao ar, peneirado para remoção de raízes e colocado em vasos de alumínio (7,0kg por vaso), sendo efetuada a análise química (Quadro 1). Os dois tratamentos de calagem foram efetuados com calcário dolomítico em quantidades de 1,0 e 1,8kg de solo. O calcário foi homogeneamente misturado com o solo do vaso, tendo-se depois adicionado água até atingir a capacidade de campo, cobertos os vasos com plástico e deixados em casa de vegetação durante 30 dias para incubação.

Antes do plantio, foi feita uma adubação básica, adicionando-se em cada vaso 200ml de uma solução dos seguintes sais: Na₂SO₄.10H₂O (5,7mg de S/kg de solo), KH₂PO₄ (19,2mg de K e 15,2mg de P/kg de solo), CuSO₄.5H₂O (0,38mg de Cu/kg de solo), ZnSO₄.7H₂O (0,39mg de Zn/kg de solo), H₃BO₃ (0,10mg de B/kg de solo), Na₂MoO₄.2H₂O (0,05mg de Mo/kg de solo).

Para o plantio, as sementes de leucena (cultivar Cunningham) foram tratadas com ácido sulfúrico concentrado por cinco minutos e lavadas seis vezes em água esteril-

zada. Foram colocadas dez sementes por vaso, efetuando-se um desbaste posterior para duas plantas. Para os tratamentos de inoculação, foram utilizadas as estirpes SMS-436 (= NGR-8); SMS-448, SMS-459 (= CIAT-1923) e SMS-461 (= CIAT-1967), da coleção do Instituto Agronômico. A pureza de cada estirpe foi previamente comprovada, por riscagem em placas. A inoculação foi feita, utilizando-se 2,0ml de meio líquido de manitol e extrato de levedura, com denso crescimento de cada estirpe. No tratamento controle foi adicionada a mesma quantidade de meio esterilizado.

Durante a condução do experimento, os vasos foram mantidos de forma inteiramente casualizada na bancada da casa de vegetação, com cinco repetições para cada tratamento. A irrigação foi feita diariamente, tendo-se procurado controlar a quantidade de água adicionada, de forma a não promover acúmulo de água no fundo dos vasos, visto que estes foram mantidos sem orifício para drenagem.

Aos 104 dias do plantio fez-se a colheita. A parte aérea foi cortada, seca, pesada e moída para análise de nitrogênio. O nitrogênio foi determinado nos laboratórios do Instituto de Zootecnia, conforme descrito por BATAGLIA et alii². Para evitar perda de nódulos, o sistema radicular foi removido dos vasos, aplicando-se jatos de água ao solo. Os nódulos foram separados, lavados, secos e pesados. O sistema radicular também foi tratado de forma semelhante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento inicial das plântulas foi lento e, no final, embora o aspecto

das plantas fosse satisfatório, o enfolhamento não pode ser considerado vigoroso.

* ABRAMIDES, P. L. G. - Informação pessoal, 1979.

** ALMEIDA, J. E. & LOPES, E. S. - Informação pessoal, 1980.

QUADRO 1

Resultado das análises químicas de amostras do solo (areia quartzosa) utilizado para o cultivo de leucena, antes e depois dos tratamentos de calagem e adubação e por ocasião da colheita. Calagem I e II: 1,0 e 1,8g de calcário/kg de solo respectivamente

Componentes	Solo original	Solo no plantio		Solo na colheita	
		Calagem I	Calagem II	Calagem I	Calagem II
Mat. orgânica (%)	1,5	1,1	1,1	1,3	1,3
pH	4,5	5,5	5,5	6,3	6,3
Al ³⁺ (e.mg/100ml)	1,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Ca ²⁺ (e.mg/100ml)	0,2	0,8	1,2	1,1	1,1
Mg ²⁺	0,1	0,7	1,1	0,9	1,0
K ⁺ (ppm)	22,0	92,0	92,0	23,0	14,0
P (ppm)	2,0	21,0	26,0	7,2	6,7

A análise de solo, realizada por ocasião do plantio, revelou que os valores de pH nos dois tratamentos de calagem foram idênticos: 5,5. Por ocasião da colheita, verificou-se que o pH se elevou para 6,3, nos dois tratamentos de calagem. Outras alterações nos resultados de análise de solo poderão ser vistas no quadro 1.

Pelo quadro 2, que apresenta os dados de produção de matéria seca e nitrogênio na parte aérea e de nodulação, pode-se verificar que a calagem maior produziu aumento significativo na produção de matéria seca da parte aérea, sem influenciar, entretanto, a nodulação e a quantidade de nitrogênio. Como não foram constatadas diferenças nos valores de pH do solo nos dois tratamentos com doses diferentes de calagem, esse efeito não pode ser atribuído à corre-

ção da acidez. Os teores de cálcio e de magnésio, na parte aérea das plantas, para o nível 1 de calagem (1,24 e 0,55 respectivamente), foram semelhantes aos do nível 2 de calagem (1,28 e 0,56 respectivamente). Os teores de fósforo e particularmente de potássio no solo dos vasos após a colheita (Quadro 1), foram inferiores para as amostras do nível 2 de calagem, sugerindo que, no nível maior, houve também maior remoção desses nutrientes.

Três das estirpes de *Rhizobium* testadas, SMS-436 (=NGR-8), SMS-448 e SMS-461 (=CIAT-1967), promoveram aumentos significativos na produção de matéria seca, peso de nódulos e nitrogênio da parte aérea (Quadro 3). É necessário salientar que, aparentemente, as quantidades de fósforo e potássio utilizadas na adubação básica po-

QUADRO 2

Médias de produção de matéria seca e nitrogênio da parte aérea e de peso seco dos nódulos observados em leucena, aos 104 dias do plantio em solo sob cerrado (areia quartzosa) em dois níveis de calagem

Níveis de calagem	Matéria seca (g/vaso)	Nitrogênio (mg/vaso)	Peso de nódulos (mg/vaso)
Calagem I	8,22 b	220,7 a	431,6 a
Calagem II	9,59 a	207,7 a	437,3 a
CV (%)	21,7	21,6	49,3

(*) As calagens I e II correspondem a 1,0 e 1,8g de calcário dolomítico por quilo de solo seco, respectivamente. As médias foram obtidas com dados das cinco repetições de todos os tratamentos de inoculação.

QUADRO 3

Médias de produção de matéria seca e nitrogênio da parte aérea e de peso seco de nódulos observados em leucena cultivada em solo sob cerrado (areia quartzosa) e inoculada com quatro estirpes de *Rhizobium* sp.

Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Matéria seca (g/vaso)	Nitrogênio (mg/vaso)	Peso de nódulos (mg/vaso)
SMS-461	11,67 a	300,6 a	497,1 a
SMS-436	10,72 a	289,5 ab	729,8 a
SMS-448	9,61 a	228,9 b	607,6 a
SMS-459	6,60 b	146,2 c	337,8 a
Sem inoculação	5,95 b	102,6 c	—

(*) As médias foram obtidas com as cinco repetições de cada um dos tratamentos de calagem.

dem ter sido limitantes ao bom desenvolvimento da planta e à fixação do N₂. Os teores médios de fósforo na parte aérea da planta (caule + folhas) para os níveis 1 e 2 de calagem foram 0,14 e 0,11%. O teor menor de fósforo na parte aérea nas plantas mais desenvolvidas (nível 2), sugere um efeito de diluição, podendo provavelmente ser apontado como evidência de que o suprimento de nutrientes no solo esteve limitante. Não foram encontrados dados sobre teores de fósforo na parte aérea total da leucena, como foi aqui determinado, mas, de acordo com os resultados obtidos por HAAG & MITIDIERI³, para teores foliares, valores de 0,11% estão associados com plantas deficientes e valores de 0,14% com plantas normais.

A nodulação abundante induzida pela estirpe SMS-436 (= NGR-8) em solo com pH 5,5 ao início do experimento, foi de certa forma surpreendente, visto que NORRIS⁸ verificou em solo com pH 5,0 que essa estirpe não promoveu nodulação em plantas amostradas 60 dias após o plantio, a menos que a inoculação tivesse sido feita por peletização com calcário. Como o pH do solo no final do experimento, para os dois níveis de calagem, foi 6,3, bem maior, portanto, que o inicial, é possível que as

condições ideais para a infecção e fixação de nitrogênio tenham-se estabelecido no transcorrer do experimento, com alterações possivelmente provocadas por fatores como a continuação do efeito corretivo do calcário, ação alcalinizante de sais usados na adubação básica efetuada por ocasião do plantio, ou, ainda, por exsudatos radiculares da própria planta. Convém lembrar que o desenvolvimento inicial da planta foi lento, e os benefícios da inoculação tardaram a ser visualmente evidentes.

A estirpe SMS-459 (= CIAT-1923), embora tenha induzido boa nodulação, não foi eficiente fixadora de nitrogênio. Quando testada no mesmo cultivar de leucena em dois solos ácidos da Colômbia, induziu, entretanto, bom desenvolvimento, conforme avaliação efetuada pela altura da planta (HALLIDAY⁴). Por outro lado, a estirpe (= CIAT-1967) foi altamente eficiente nesse solo e nos dois da Colômbia.

A ausência de nódulos nos tratamentos não inoculados observada neste e nos outros ensaios conduzidos, sugere que a leucena é uma planta que se deve beneficiar sensivelmente da prática de inoculações específicas (HALLIDAY⁴, NORRIS⁸ e ALMEIDA & LOPES^{*}).

CONCLUSÕES

As seguintes conclusões são possíveis em face dos resultados obtidos no presente experimento:

a) A leucena beneficiou-se da inoculação artificial com estirpes previamente selecionadas;

b) A estirpe SMS-461 (= CIAT-1967) foi eficiente, podendo ser recomendada para uso em inoculantes;

c) A estirpe SMS-459 não foi eficiente.

* ALMEIDA, J. E. & LOPES, E. S. - Informação pessoal, 1980.

te em leucena no solo estudado, embora tenha induzido boa formação de nódulos;

d) O nível maior de calagem benefi-

ciou o desenvolvimento da planta, sem, entretanto, ter beneficiado a nodulação e fixação do nitrogênio, em relação ao nível menor.

SUMMARY

An experiment was carried out in glass-house, with two liming levels on a poor acid soil collected under "cerrado" vegetation to study the performance of rhizobia strains on leucaena (*L. leucocephala*). Liming levels of 1.0 and 1.8 g of dolomitic limestone/kg of soil were used. Each aluminum pot contained 7.0 kg of soil. Strains maintained at the Instituto Agrônômico with nº SMS-436 (= NGR-8), SMS-448, SMS-459 (= CIAT-1923), and SMS-461 (= CIAT-1967), were tested. The aerial part of the plant and nodule dry weight and

nitrogen analysis were made on harvesting 104 days after planting.

Results have shown that the higher level of lime increased dry matter, but not nodulation or nitrogen fixation. There has been no nodule formation on not inoculated treatments. Nodulation induced by strains SMS-436, SMS-448 and SMS-461, corresponded to increases in dry matter production at both liming levels. Strain SMS-459 was not effective in this experiment, since it nodulated but caused no response in plant growth.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1— ANDREW, C. S. & ROBINS, M. F. The effect of phosphorus on the growth and chemical composition of some tropical pasture legumes. *Aust. J. agric. Res.* Melbourne, Vic, 20(4):665-74, 1961.
- 2— BATAGLIA, O. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; FURLANI, A. M. C. *Análise química de plantas*. Campinas, Instituto Agrônômico, 1978. 31 p. (Circular, 87).
- 3— HAAG, H. P. & MITIDIERI, J. Malnutrition symptom on *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Leucaena Newsl.*, Honolulu, 1:6, 1980.
- 4— HALLIDAY, J. *La fijación biológica de nitrógeno como una agrotecnia transferible en el tropico*. Paia, La Universidad de Hawaii, 1980. 17 p. Mimeo. Trabajo presentado en la X Reunion Latino Americana sobre *Rhizobium*, Maracay, Venezuela, 16-19 septiembre, 1980.
- 5— JACQUES, A. V. A. Consorciação de gramíneas e leguminosas forrageiras. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 3., Piracicaba, SP, 1976. *Anais.* . . Piracicaba, Fundação Cargill, 1976. p. 191-211.
- 6— JONES, R. J. Proposta de zoneamento de plantas forrageiras para o Estado de São Paulo. *Zootecnia*, Nova Odessa, SP, 12 (3):177-90, 1974.
- 7— NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. *Leucaena - promising forage and tree crop for the tropics*. Washington, D.C. 1977. 115 p.
- 8— NORRIS, D. O. Seed pelleting to improve nodulation of tropical and sub-tropical legumes. 5. The contrasting response to lime pelleting of two *Rhizobium* strains on *Leucaena leucocephala*. *Aust. J. exp. Agric. Anim.*, Melbourne, Vic, 13(60): 98-101, 1973.
- 9— TRINICK, M. J. Nodulation of tropical legumes. 1 - Specificity in the *Rhizobium* symbiosis of *Leucaena leucocephala*. *Exp. Agric.*, London, 4:243-53, 1968.
- 10— VILELA, E. & PEDREIRA, J. V. S. Efeitos de densidade de sementeira e níveis de adubação nitrogenada no estabelecimento de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *B. Indústr. anim.*, Nova Odessa, SP, 33 (2):251-80, 1976.