

TESTES PRELIMINARES DE INOCULAÇÃO CRUZADA EM LEGUMINOSAS ARBÓREAS DO CEARÁ *

RAIMUNDO NONATO DE ASSIS JÚNIOR*
ROGÉRIO TAVARES DE ALMEIDA***
ILO VASCONCELOS***

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi testar a habilidade de nove estirpes de *Rhizobium* sp., da rizobioteca do Departamento de Ciências do Solo, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal, isoladas do sabiá, *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., em nodular diversas essências florestais do Ceará, da subfamília Mimosoideae.

Os testes preliminares de inoculação cruzada foram conduzidos sob condições de laboratório, em câmara de crescimento, utilizando-se tubos de cultura contendo solução agarizada de Norris, modificada. A cada 15 dias processava-se a adubação, colocando-se 10ml/tubo da solução de Norris. O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 3 repetições.

Quatro espécies de leguminosas — algaroba, *Prosopis juliflora* DC; jurema preta, *Mimosa acutistipula* Benth.; jurema branca, *Pithecellobium dumosum* Benth. e ébano oriental, *Albizzia lebbek* (L.) Benth. — nodularam com estirpes de rizóbio de sabiá. No entanto, apenas a estirpe UFC-838.35 mostrou-se promissora na fixação com jurema preta.

* Trabalho extraído da tese de Mestrado do primeiro autor, desenvolvido no Departamento de Ciências do Solo do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará e financiado em parte pelo PDCT/CE 17 — Manejo e Conservação do Solo.

** Eng.º Agr.º, Técnico do referido Projeto

*** Professores do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará e Pesquisadores do CNPq.

SUMMARY

PRELIMINARY CROSS-INOCULATION TEST IN LEGUMES TREES OF THE STATE OF CEARÁ, BRAZIL.

The purpose of this work was to observe the ability of nine strains of *Rhizobium* belonging to the Collection of the Universidade Federal do Ceará, Brazil, isolated from sabiá, *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., to nodulate several forest trees of the Ceará State, Brazil.

Preliminary cross-inoculation tests were conducted under laboratory conditions, in a growth chamber, using culture tubes with modified agar-Norris-solution. Each fifteen days the plants were irrigated with 10ml/tube of Norris solution, without nitrogen. It was adopted in this experiment a completely randomized design, with ten treatments and three replications.

Four legumes species — algaroba, *Prosopis juliflora* DC; jurema preta, *Mimosa acutistipula* Benth.; jurema branca, *Pithecellobium dumosum* Benth. and ébano oriental, *Albizzia lebbek* (L.) Benth. — nodulated with rhizobia strains of sabiá. However, only the strain UFC-

838.35 showed to be promising in the nitrogen fixation of jurema preta.

Palavras-Chave: Inoculação Cruzada, Leguminosas Arbóreas.

INTRODUÇÃO

Segundo ALEXANDER¹, mais de 20 grupos de inoculação cruzada têm sido estabelecidos, mas somente 6 são suficientemente bem delineados ao nível de espécie ou gênero.

Estudos de PETERS & ALEXANDER⁶ mostraram que somente algumas das muitas estirpes de rizóbio infectam e nodulam dada espécie de leguminosa, essa especificidade servindo como base para agrupamento de inoculação cruzada.

CAMPELO & DÖBEREINER⁵ fizeram vários testes de inoculação cruzada com sabiá e outras leguminosas arbóreas, concluindo haver alta especificidade desta planta que só nodulou quando inoculada com rizóbio isolado dela mesma.

CAMPELO⁴ inoculou 11 espécies de leguminosas arbóreas, entre as quais o sabiá, leucena e ébano oriental, observando que o sabiá só nodulou com estirpes de rizóbio isoladas de seus próprios nódulos, de nódulos de angico e de quebra-foice — Mimosoideae —, enquanto a leucena e o ébano oriental formaram nódulos quando inoculados com duas estirpes isoladas do sabiá.

Ainda hoje o conceito de inoculação cruzada é muito controvertido. Mesmo para soja — leguminosa das mais estudadas com relação à simbiose com o rizóbio — os resultados são contraditórios relativamente à sua especificidade. Apesar da soja ser reconhecida como altamente incompatível com rizóbio de crescimento lento do tipo caupi, SEAR & CARROL⁷ demonstraram que alguns de seus primeiros cultivares introduzidos nos Estados Unidos da América foram capazes de nodular com estirpes isoladas de nódulos de caupi, *Vigna unguiculata* (L) Walp.

WILSON⁸ mostrou não haver nenhuma clara distinção entre o rizóbio que nodula a soja e os membros do grupo caupi de inoculação cruzada. Ele concluiu que a promiscuidade existe e recomendou o abandono do conceito de grupos de inoculação cruzada.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido em laboratório, em câmara de crescimento, utilizando-se tubos de ensaio contendo a solução nutritiva de Norris para plantas.

Foram testadas 9 estirpes de rizóbio isoladas de nódulos de sabiá, objetivando-se verificar a sua capacidade de nodulação em outras plantas leguminosas da subfamília Mimosoideae. O cultivo das estirpes de rizóbio foi feito em meio sólido de extrato de levedura-manitol-agar (ALLEN²) com azul de bromotimol. O inóculo constituiu-se de uma suspensão bacteriana em água destilada e esterilizada. Cada tubo continha uma planta e recebeu 0,5 ml da suspensão.

As sementes foram escarificadas quimicamente com ácido sulfúrico 65-66° Bé por 10 minutos, esterilizadas com hipoclorito de sódio e lavadas com água destilada esterilizada. O semeio foi feito em placa de Petri esterilizada e, após a germinação, transplantadas assepticamente para tubos que continham solução nutritiva de Norris, agarizada. A cada 15 dias efetuava-se a colocação de 10ml da solução, por tubo.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e uma testemunha, em três repetições. Cada estirpe constituiu-se em um tratamento, assim denominado:

- 1) UFC-798.35
- 2) UFC-838.35
- 3) UFC-839.35
- 4) UFC-841.35
- 5) UFC-901.35
- 6) UFC-903.35
- 7) UFC-904.35
- 8) UFC-911.35
- 9) UFC-1013.35
- 10) Testemunha

As plantas utilizadas são todas leguminosas arbóreas pertencentes à subfamília Mimosoideae, exceto o calopogônio que pertence à subfamília Papilionoideae e é herbácea, usada para fins comparativos. As plantas, bem como suas utilidades, são mostradas na Tabela 1. Foram tomados o peso seco e a altura das plantas de todos os tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à nodulação são mostrados na Tabela 2. O sabiá foi usado apenas para teste de viabilidade das estirpes de rizóbio.

Observando-se a Tabela 2, nota-se a presença de nodulação em quatro espécies de leguminosas Mimosoideae — ébano oriental, jurema preta, jurema branca e algaroba —, noduladas por 5, 6, 4 e 9 estirpes de rizóbio isoladas de nódulos de sabiá, respectivamente.

A análise estatística, feita por comparação de médias pelo teste de Tukey, com nível de probabilidade de 5%, para

peso seco e tamanho da parte aérea das quatro espécies noduladas, não revelou diferenças significativas em três dessas espécies — jurema branca, ébano oriental e algaroba — com relação à testemunha não inoculada.

A jurema preta (Tabela 3) nodulou com 5 estirpes de rizóbio e apresentou diferença significativa em relação à testemunha quanto ao parâmetro peso seco da parte aérea, porém não o fazendo com relação ao tamanho da planta. A diferença no peso seco só ocorreu significativamente quando comparadas as médias da estirpe UFC-838.35 versus testemunha não inoculada. A nodulação promovida pelas quatro outras estirpes de rizóbio não foi, estatisticamente, diferente da testemunha.

A ausência da nodulação em diversos hospedeiros pode ser atribuída ao fato de que existe uma seletividade promovida pelos exsudatos das raízes das leguminosas, os quais contêm fatores de crescimento estimulando seletivamente os organismos capazes de penetrar nos tecidos radiculares e induzir a nodulação.

TABELA 1

Espécie de Leguminosas Usadas no Experimento de Inoculação Cruzada, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1984.

NOME COMUM	NOME CIENTÍFICO	SUBFAMÍLIA	UTILIDADES *
Algaroba	<i>Prosopis juliflora</i> DC.	M	Forrageira, lenha e carvão
Calopogônio	<i>Calopogonio mucunoides</i> Desv.	P	Forrageira herbácea
Canafístula de boi	<i>Pithecellobium multiforme</i> Benth.	M	Forrageira, lenha e madeira para obras
Carolina	<i>Anadenathera pavonina</i> L.	M	Arborização de parques e jardins, madeira para marcenaria de luxo
Catanduba	<i>Piptadenia moniliformis</i> Benth.	M	Carvão
Ébano Oriental	<i>Albizzia lebbek</i> (L.) Benth.	M	Ornamental, lenha e madeira
Jurema Branca	<i>Pithecellobium dumosum</i> Benth.	M	Carvão e lenha
Jurema Preta	<i>Mimosa acutistipula</i> Benth.	M	Carvão e lenha
Leucena	<i>Leucena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	M	Forrageira, lenha, carvão e madeira
Sabiá	<i>Mimosa caesalpiniafolia</i> Benth.	M	Lenha, carvão, forrageira, madeira para mourões e cercas
Timbaúba	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	M	Madeira para caixotaria, gamelas e colchos; forrageira e fabricação de carvão.

*BRAGA 3

TABELA 2

Teste de Inoculação Cruzada Entre 9 Estirpes de Rizóbio Isoladas de Sabiá e 10 Plantas Leguminosas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1984.

ESPÉCIES	ESTIRPES									X ₁ (exótica)
	UFC-838.35	UFC-839.35	UFC-841.35	UFC-901.35	UFC-903.35	UFC-904.35	UFC-911.35	UFC-1013.35		
	SUBFAMILIA									
Sabiá	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Canafístula de Boi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ébano Oriental	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
Jurema Preta	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Algaroba	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leucena	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catanduba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Timbaúba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jurema Branca	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Carolina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calopogônio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Presença de nódulo em, pelo menos, uma das repetições

- Ausência de nódulo.

TABELA 3

Médias e Percentagem ao Peso Seco e Tamanho de Plantas de Jurema Preta no Teste de Inoculação Cruzada. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1984.

TRATAMENTOS	PESO SECO (g)	PERCENTUAL RELATIVO	ALTURA DAS PLANTAS (cm)	PERCENTUAL RELATIVO
UFC-838.35	0,033 ^a	253,84	9,13	182,60
UFC-839.35	0,030 ^{ab}	230,76	9,16	183,20
UFC-841.35	0,030 ^{ab}	230,76	8,30	166,00
UFC-901.35	0,030 ^{ab}	230,76	9,16	183,20
UFC-903.35	0,030 ^{ab}	230,76	8,83	176,60
UFC-904.35	0,010 ^c	76,92	6,53	130,60
UFC-911.35	0,010 ^c	76,92	6,16	123,20
UFC-1013.35	0,030 ^{ab}	230,76	8,50	170,00
X ₁ (exótica)	0,023 ^{abc}	176,92	9,00	180,00
Testemunha	0,013 ^{bc}	100,00	5,00	100,00

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidades, pelo teste de Tukey.

CONCLUSÕES

- 1 — Nem todas as estirpes de rizóbio de sabiá são específicas apenas para esta planta, podendo, algumas delas, nodular também outras plantas da subfamília Mimosoideae, como observado no presente trabalho, onde todas as estirpes testadas nodularam a algaroba, seis delas nodularam a jurema preta, quatro nodularam a jurema branca e cinco nodularam o ébano oriental, e
- 2 — Embora tenha havido nodulação de quatro espécies leguminosas Mimosoideae com rizóbio de sabiá, apenas a estirpe UFC-838.35 mostrou-se promissora na fixação do N₂ atmosférico pela jurema preta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEXANDER, M. *Introduction to Soil Microbiology*. 2 nd. New York. John Wiley & Sons. 1977, 467 p.

2. ALLEN, O.N. *Experiments in Soil Bacteriology*. 3 ed. Minneapolis. Burgess Publ. Co. 1957, 177 p.
3. BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará*. 2.^a ed. Fortaleza, Imprensa Oficial, 1960, 540 p.
4. CAMPELO, A.B. *Caracterização e Especificidade de Rhizobium spp. de Leguminosas Florestais*. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1976, 11 p. (Tese de Mestrado)
5. CAMPELO, A. & DÖBEREINER, J. Estudo sobre a inoculação cruzada de algumas leguminosas florestais. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Centro-Sul. Bol. tec. n.º 8, 6 p., 1969.
6. PETERS, R. J. & ALEXANDER, M. Effect of legume exudates on the root nodules bacteria. *Soil Sci.* 102: 380-387, 1966.
7. SEAR, O. H. & CARROL, W. R. Cross-inoculation with cowpea and soybean nodule bacteria. *Soil Sci.* 24: 413-419, 1972.
8. WILSON, J. K. Over hundred reasons for abandoning the cross inoculation groups of the legumes. *Soil Sci.* 58: 61-69, 1944.