EFEITOS DA POPULAÇÃO NATURAL DE *RHIZOBIUM* SP, ESTIRPES
SELECIONADAS, E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO, NA
PRODUÇÃO DE AMENDOIM (*ARACHIS HYPOGAEA* L.)

ANTONIO ROBERTO GIARDINI

ORIENTADOR: PROF. DR. ANDRÉ MARTIN LOUIS NEPTUNE

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Solos e Nutrição de
Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro de 1980

A

Memória de meu Pai

A minha Mãe

A meus irmãos,

eu dedico.

A

Ana Lúcia, minha esposa

Eu ofereço.

Ricardo,

A você filho, peço desculpas

pelas minhas vaidades.

A você camponês,

a promessa de estar sempre a seu lado.

Esta página dedico a todos os imigrantes,
que aqui vieram construir esta nação.

Na pessoa de GIOVANI MUCHATTI, que no
seu primeiro dia de Brasil, plantou sua carne e irrigou
com suas lágrimas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof.Dr. André Martin Louis Neptune

Ao Pesq.Científico Eli Sidney Lopes

Aos funcionários e estagiários da Seção de Microbiologia do Solo, e aos funcionários do Centro Experimental de Campinas, Seções de Química Analítica, Oleaginosas e Tipografia do Instituto Agronômico de Campinas

A Jô, Eduarda, Zezé e Toshio Igue

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Ao Instituto Agronômico de Campinas

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

Graças a contribuição de cada um deles,
este trabalho pode ser executado.

"CURRICULUM VITAE"

Antonio Roberto Giardini, nasceu em Pinhal, Estado de São Paulo, no dia 12 de maio de 1945, tendo-se graduado Engenheiro Agrônomo na primeira turma de formandos da Faculdade de Agronomia e Zootecnia "Manoel Carlos Gonçalves", Pinhal, SP.

Ingressou no Instituto Agronômico de Campinas, através de concurso público, no dia 9 de maio de 1973, para desenvolver atividades de pesquisa na área de Fixação do Nitrogênio Atmosférico, na Seção de Microbiologia do Solo, onde encontra-se até esta data. Tem alguns trabalhos publicados nesta área e alguns apresentados em congressos nacionais e internacionais.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	1
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Associação <i>Rhizobium</i> -amendoim	5
2.2. Adubação do amendoim com nitrogênio	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1. Experimento em casa de vegetação	13
3.1.1. Seleção de estirpes de <i>Rhizobium</i> sp..	13
3.2. Experimento de campo	17
3.2.1. Solo	17
3.2.2. Preparo da área	18
3.2.3. Delineamento experimental e tratamen- to	19
3.2.4. Inoculação das sementes	20
3.2.5. Plantio	20
3.2.6. Tratos culturais	21
3.2.7. Amostragens	22
3.2.8. Análise de nitrogênio	22
3.2.9. Colheita	22

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Experimento em casa de vegetação para a seleção de estirpes	23
4.2. Experimento de campo	33
4.2.1. Nodulação	35
4.2.2. Produção de parte aérea (caule, hastes, folhas e frutos) e percentagens de nitrogênio total	41
4.2.3. Nitrogênio total acumulado	43
4.2.4. Produção	47
5. CONCLUSÕES	51
6. SUMMARY	53
7. LITERATURA CITADA	55

LISTA DE QUADROS

Página

1 - Médias do número e peso em mg, dos nódulos de 2 plantas de amendoim, cultivar tatu, desenvolvidas em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculadas com culturas puras de <i>Rhizobium</i> sp. e com solo de área cultivada com amendoim	27
2 - Médias do peso em grama, da parte aérea, N total em miligrama e N fixado em relação ao controle com nitrogênio, de 2 plantas de amendoim, cultivar <u>ta</u> tu, desenvolvidas em solução nutritiva e inoculadas com culturas puras de <i>Rhizobium</i> sp. e com solo de área cultivada com amendoim	31
3 - Médias de peso (mg), número e peso de 1 nódulo (mg) da nodulação formada em 5 plantas de amendoim, observados em amostras coletadas em 2 épocas do ciclo da planta, em condições de campo	34
4 - Médias dos dados de matéria seca (MS) em grama, da parte aérea (inclui: caule, folhas, hastes e frutos) e percentagem de N total, em 5 plantas de amendoim amostradas em 4 épocas do ciclo da planta, em condições de campo	36
5 - Médias dos dados de nitrogênio total, em mg, em 5 plantas coletadas em 4 épocas do ciclo do amendoim em condições de campo	37

6 - Teores médios do nitrogênio, em mg, acumulado na parte aérea (caule, hastes, folhas e frutos), nos períodos entre as amostragens.....	38
7 - Dados do peso, em grama, de sementes e vagens de 15 plantas de amendoim e percentagem de vagens chochas, produzidas em condições de campo	48

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a contribuição da fixação do dinitrogênio por rizóbios autóctones, que nodulam o amendoim, e por estirpes puras de eficácia comprovada, foram instalados dois ensaios. O primeiro serviu para selecionar as estirpes que deviam ser utilizadas no ensaio de campo. Utilizaram-se 35 estirpes de *Rhizobium* sp. isoladas de 15 espécies de leguminosas tropicais. A escolha dessas estirpes baseou-se em ensaios anteriores de seleção para várias leguminosas tropicais, escolhendo-se as mais eficazes, e na leguminosa de origem, escolhendo-se as estirpes isoladas de espécies da tribo Hedysareae. A seleção foi feita em casa de vegetação, com solução nutritiva. Das 35 estirpes, 12 formaram nódulos no cultivar tatu. Formou nódulos também, um tratamento extra, inoculado com solo de área cultivada com amendoim. Dos 13 tratamentos que nodularam, sete foram eficazes na fixação de nitrogênio. De 13 estirpes isoladas de plantas da tribo Hedysareae, sete nodularam e quatro foram efetivas. Os nódulos formados nas plantas

inoculadas com o solo, não foram efetivos. Para o ensaio de campo foram escolhidas três estirpes. No campo, os efeitos das três estirpes e da população natural de *Rhizobium sp.* foram comparadas separadamente, com tratamentos de aplicação de 30 kg/ha de N no plantio, e aos 24 dias, ou aos 45 dias após o plantio. Foram feitas 2 avaliações da nodulação. Os tratamentos não inoculados, nodularam com os rizóbios autóctones. A análise dos dados revelou que não houve diferença entre os tratamentos tanto para peso como para número de nódulos. Fizeram-se também quatro amostragens de plantas para avaliação do peso da matéria seca produzida, e análise de nitrogênio total nelas contidos. Houve aumento contínuo na produção de matéria seca até a última amostragem, aos 84 dias, e as diferenças entre os tratamentos não foram significativas. O acúmulo de nitrogênio total até 84 dias foi menor nos tratamentos sem inoculação sem nitrogênio ou com nitrogênio no plantio, e também nas plantas do tratamento inoculado com a estirpe SMS-2, que nos tratamentos com N em cobertura aos 24 ou aos 45 dias após o plantio, e nos tratamentos inoculados com as estirpes SMS-400 e SMS-319. A taxa de assimilação diária do nitrogênio aumentou a partir de 59 dias nos tratamentos sem inoculação, com nitrogênio aos 24 e aos 45 dias, e nos inoculados com as estirpes SMS-400 e SMS-319. A produção de sementes foi estatisticamente semelhante para todos os tratamentos.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim, faz parte do grupo de plantas privilegiadas da família das leguminosas, que é capaz de associar-se com bactérias do gênero *Rhizobium*. Nesta associação simbiótica, formam-se nódulos nas raízes da planta. Nestes nódulos, infectados pelas bactérias, o N_2 é reduzido a NH_4 e transferido para a planta, a qual pode conseqüentemente, desenvolver-se, independente do nitrogênio do solo. Essa característica tem sido explorada em várias leguminosas cultivadas.

Nos solos onde o amendoim é cultivado, normalmente existe uma população autóctone de *Rhizobium*, porém tem-se pouca informação da contribuição da nodulação espontânea dessa leguminosa, no suprimento de nitrogênio fixado para a planta.

Aparentemente, o sistema simbiótico *Rhizobium* - amendoim, supre as necessidades da planta com nitrogênio fixado, substituindo a aplicação de adubo nitrogenado. No trabalho

de RATNER *et alii* (1979), conduzido em condições favoráveis , que possibilitou uma produção de 7.000 kg de vagens/ha, 222 kg de N_2 /ha foram absorvidos do ar, representando 58,2 % do nitrogênio total acumulado na planta.

Os objetivos deste trabalho conduzido em casa de vegetação e no campo, com o cultivar tatu, foram:

- avaliação da eficácia de fixação do N_2 por estirpes de *Rhizobium* sp. do tipo "cow pea", isoladas de várias leguminosas tropicais;

- avaliar em condições de campo, a contribuição da fixação simbiótica do dinitrogênio, de plantas noduladas com rizóbios autóctones, e de plantas inoculadas com estirpes efetivas de *Rhizobium*, usando-se como tratamentos comparativos, a adubação com nitrogênio aplicado em 3 épocas distintas do ciclo da planta.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Associação *Rhizobium*-amendoim

GAUR *et alii* (1974), verificaram que rizóbios isolados de várias leguminosas, nodularam as raízes do amendoim e isolados de amendoim nodularam as raízes de várias espécies de leguminosas indígenas, demonstrando uma promiscuidade dupla na relação *Rhizobium*-amendoim. Entretanto, segundo WEAVER (1974), citado por BURTON (1976), a presença de nódulos no amendoim, não dá segurança de que o N_2 está sendo fixado suficientemente para suprir este elemento na planta. DADARWAL *et alii* (1974), testando rizóbios isolados de 5 espécies selvagens de *Arachis* e de uma espécie de *A. hypogaea*, no cultivar TMV-8 de amendoim, verificaram que os nódulos induzidos por isolados de *A. hypogaea*, *A. duranensis* e *A. prostrata* eram morfologicamente diferentes dos nódulos induzidos por rizóbios isolados das espécies *A. villosa*, *A. geoberata*, *A. marginata*. Os nódulos

los formados pelas bactérias do primeiro grupo, eram grandes e a maior parte estavam próximo ao colo, enquanto que os rizóbios isolados do segundo grupo de plantas, induziram um grande número de nódulos pequenos, esbranquiçados, tanto na raiz principal como nas secundárias. Além disso, os isolados de *A. duranensis* eram mais efetivos na fixação de nitrogênio que os das demais espécies.

BURTON (1952) verificou que o amendoim estabeleceu simbiose efetiva com duas entre 10 estirpes de *Rhizobium* testadas, sendo que as 8 restantes foram efetivas em outras leguminosas testadas neste mesmo ensaio. Uma das estirpes (3G6A1), isolada da *Erythrina indica*, que foi efetiva no amendoim, também o foi para a maioria das leguminosas testadas. BURTON (1976) observou ainda que os cultivares Comet e Starr, deram pequena resposta à inoculação, o cultivar Spantex, moderada resposta, e o Florunner, respondeu efetivamente aos 5 tratamentos de inoculação com diferentes estirpes. A estirpe 47A1, isolada de *Erythrina indica*, foi a mais efetiva.

LOPES et alii (1974) inocularam o amendoim com nove estirpes isoladas de oito espécies de leguminosas tropicais e verificaram que apenas três estirpes nodularam o cultivar tatu, enquanto que a *Galactia striata* formou nódulos com as mesmas estirpes.

Alguns trabalhos feitos em condições de campo , também mostram diferenças nas respostas de amendoim, quando inoculadas com diferentes estirpes de *Rhizobium* (SUNDARA RAO, 1971), CHOMCHALOW (1970).

LOPES *et alii* (1976) observaram nodulação expon-tânea, aparentemente eficaz, em 21 cultivares de amendoim, na região de Mariápolis, Estado de São Paulo.

WYNNE *et alii* (1978), sugerem que para incrementar o nitrogênio fixado em amendoim, é necessário selecionar estirpes e plantas eficientes, para obter-se uma associação adequada.

2.2. Adubação do amendoim com nitrogênio

O amendoim extrai grandes quantidades de N do solo, sendo os dados disponíveis, variáveis entre 80 a 380 kg de N/ha, para produções de 2.000 a 7.000 kg de vagens/ha. (SICHMANN *et alii*, 1970; YORK e COLDWELL, 1951; BEATTIE *et alii*, 1957; SAVY FILHO, 1979; RATNER *et alii*, 1979). Entretanto, muitos trabalhos mostram que não há resposta à aplicação desse nutriente em condições de campo (ACUNA e SANCHES, 1969; NAKAKAWA *et alii*, 1966; ARRUDA e BRITTO, 1971). BRITTO *et alii* (1973) em estudos de adubação no amendoim, conduzido durante 6 anos, em solos de baixa fertilidade, só obtiveram resposta à nitrogênio no 3º ano.

Há porém, trabalhos que mostram respostas a aplicação de nitrogênio. *TELLA et alii* (1970), em experimentos conduzidos em 3 localidades, sob solos arenosos do grupo Podzolizado de Lins e Marília, obtiveram respostas à aplicação desse nutriente. Na localidade que vinha sendo cultivado em anos anteriores, sem o uso de fertilizantes, o nitrogênio aumentou a produção de vagens quando aplicado na dose de 60 kg de N/ha. Com 30 kg de N/ha não houve aumento significativo na produção. Nesse local, a produção média do ensaio foi de 4.000 kg de vagen/ha. Na segunda localidade, o ensaio foi instalado em 2 anos consecutivos, sendo que a área já vinha sendo cultivada nos anos anteriores, com amendoim, sem fertilizantes. Neste local, não houve resposta a aplicação de N nas doses de 60 ou 30 kg de N/ha nos 2 anos, sendo que a produção do primeiro ano (3.600 kg de vagens/ha) foi superior a do segundo ano (1.400 kg de vagens/ha), que foi prejudicada por condições climáticas adversas. Na terceira localidade as condições climáticas também prejudicaram a cultura. O efeito do N não foi significativo e a produção média foi de 1.800 kg de vagens/ha.

Em solos com boa fertilidade natural, cultivado e adubado com NPK nos anos anteriores, *TELLA et alii* (1971) obtiveram aumento significativo na produção de amendoim devido a aplicação de nitrogênio no primeiro ano de ensaio. No segundo, não houve efeito do N aplicado e a produção do ensaio foi menor.

A falta de resposta a nitrogênio nas áreas de cultivos anteriores com amendoim, sugerem o desenvolvimento de uma população autoctone mais eficaz. Esse fato é comentado por CHESNEY (1975) e os dados obtidos em seu experimento, mostraram essa tendência depois de 3 cultivos consecutivos, em um solo pobre, que nunca havia sido cultivado com amendoim. DIATLOFF e LANGFORD (1975) compararam plantas noduladas com rizóbios nativos e plantas noduladas com estirpes efetivas, em dois solos da Austrália, sendo, um fértil, com pH 6,0 e com cobertura de gramíneas forrageiras e o outro menos fértil, com pH 5,5, já cultivado por duas vezes com amendoim. No solo menos fértil, o tratamento não inoculado produziu mais que os tratamentos inoculados. No solo de primeiro ano de plantio com amendoim, os tratamentos inoculados com a estirpe efetiva produziram mais vagens que o não inoculado. Os autores sugerem que as chances de sucesso com a inoculação das sementes de amendoim seria maior em áreas novas. Sugerem também que a população nativa ainda é efetiva.

LOPES et alii (1972 a) estudando a população autoctone de *Rhizobium* para soja perene (*Glycine wightii*) e siratro (*Macroptilium atropurpureum*) em quatro grande grupos de solos do estado de São Paulo, sob cultivo de soja perene e gramíneas, observaram que no Latossolo Roxo, o cultivo prévio de soja perene aumentou a população de rizóbios capazes de nodular a soja perene e o siratro. O efeito do cultivo de soja perene

nesse solo, foi observado também no aumento da capacidade de fixação do nitrogênio pelo siratro. Esse efeito não foi verificado no entanto, para a soja perene.

Vários trabalhos comentam também, que o amendoim responde bem a fertilidade residual (TELLA *et alii*, 1970; UNIVERSITY OF GEORGIA, 1979). Isso foi também demonstrado no trabalho de ROCHA *et alii* (1965).

Por outro lado, STURCHIE e BUCHANAN (1974) sugerem que a resposta a nitrogênio seria mascarada pela fixação simbiótica efetuada através da nodulação causada pelas estirpes autóctones. SICHMANN *et alii* (1970), em trabalho conduzido num solo de boa fertilidade natural, sem adubação, constataram uma extração de cerca de 343 kg de N/ha pelo cultivar tatu, e sugerem que a maior parte do nitrogênio contido nas plantas foi proveniente da atividade dos nódulos. ACUNA e SANCHES (1969) em um solo de savana pobre em nutrientes e em matéria orgânica, não obtiveram resposta na produção de vagens quando aplicaram até 80 kg de N/ha; os tratamentos sem nitrogênio estavam bem nodulados pela população autóctone.

VAN DER MERWE *et alii* (1974) não obtiveram resposta significativa na inoculação de sementes do amendoim com estirpes efetivas em 6 das 7 localidades da África do Sul, onde 3 experimentos foram conduzidos em anos consecutivos. A fal

ta de resposta à inoculação das sementes foi atribuída ao alto nível de efetividade da população autóctone, porém os autores comentaram no que diz respeito a tendência das plantas inoculadas em produzir mais do que as não inoculadas; citam ainda que num teste de campo, em várias localidades, a aplicação de 35 kg de N/ha não incrementou a produção do amendoim.

Aumentos de produção devido a inoculação de sementes com estirpes efetivas, foram obtidas em vários ensaios. AYALA e VELÁSQUEZ (1978) avaliando 11 estirpes de *Rhizobium* sp. em amendoim, em solos da Venezuela, obtiveram incrementos na produção de vagens/planta devido a inoculação. Esses aumentos foram na ordem de 28 a 108 %, em relação ao controle sem nitrogênio e sem inoculação. O tratamento controle nodulou com a população autóctone. No tratamento em que foi aplicado 140 kg de N/ha, obtiveram um aumento de 46 % na produção. Dez das estirpes renderam mais que 56 %, em relação ao tratamento sem nitrogênio.

RATNER et alii (1979) trabalhando em solo na zona semi-árida de Israel, onde o amendoim não nodula naturalmente, obtiveram resposta devido a inoculação das sementes, nos 3 anos de ensaio. A produção foi 18 % maior nos tratamentos com inoculação do que no tratamento adubado com 200 kg de N/ha. Nesse mesmo trabalho, os autores observaram que o tratamento que recebeu os 200 kg de N/ha, promoveu maior produção de massa verde, mas o inoculado promoveu maior produção de vagens.

PATIL e KALEKAR (1975) também obtiveram resposta na produção de vagens de amendoim, devido a inoculação das sementes. DUGGAR (1935) também obteve aumento devido a inoculação, em circunstâncias semelhantes.

LÓPES *et alii* (1972), testaram 3 estirpes de *Rhizobium* sp. na inoculação do amendoim, em Latossolo Roxo e não obtiveram diferença na nodulação nem na produção, comparadas com as plantas noduladas naturalmente e sugerem que ensaios comparativos entre inoculação e adubação nitrogenada sejam feitos.

SICHMANN *et alii* (1979), afirmam que os resultados de adubação do amendoim, não têm ainda consistência para uma larga aplicação e sugerem ajustes regionais para uma prática mais adequada. Informam também, que as respostas à fertilização são bastantes contraditórias e de um modo geral, as respostas são devidas principalmente à calagem e ao fósforo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Experimento em casa de vegetação

3.1.1. Seleção de estirpes de *Rhizobium* sp

O experimento foi conduzido em vasos de Leonard, em solução nutritiva isenta de nitrogênio, conforme a técnica recomendada por NORRIS (1964).

Os tratamentos foram os seguintes:

Inoculação com cada uma das estirpes	- 35 tratamentos
Inoculação com solo	- 1 tratamento
Sem inoculação, com nitrogênio	- 1 tratamento
Sem inoculação, sem nitrogênio	- 1 tratamento
Total	- 38 tratamentos

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 repetições cada tratamento.

Os primeiros 35 tratamentos correspondem a inoculação de 35 estirpes de *Rhizobium* sp. isoladas de 15 espécies de leguminosas tropicais, conforme relação abaixo:

<u>Leguminosa de Origem das Estirpes</u>	<u>Número da Estirpe</u>
<i>Aeschynomene paniculata</i> Willd	SMS-338
<i>Aeschynomene</i> sp	SMS-42
<i>Arachis hypogaea</i> L.	SMS-69 (=SEMIA 602, RS) SMS-124, SMS-400 (=411/MAR., Rodésia*)
<i>Desmodium uncinatum</i> (Jacq.) DC	SMS-2, SMS-3 e SMS-193
<i>Desmodium pabulare</i> (Hoechst) Malme	SMS-11
<i>Macrotyloma africanum</i> (Wilczek) Verdc.	SMS-139 (=CB 756, Austrália)
<i>Lablab purpureus</i> (L.) Sweet	SMS-311 (=Do 46, IPEACS, RJ)
<i>Dolichos</i> sp	SMS-110
<i>Glycine wightii</i> (R.Grah, Wight et Arn.) Verdc.	SMS-12, SMS-137 (=CB 453, Austrália), SMS-176 (=D 176, Checoslováquia), SMS-177 (=QA 422, Austrália), SMS-213, SMS-215, SMS-221, SMS-224, SMS-243, SMS-259, SMS-280
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC) Urban.	SMS-114, SMS-123, SMS-287, SMS-319, SMS-320
<i>Phaseolus caracalla</i> L.	SMS-118

* agora Zimbabwe

<u>Leguminosa de Origem das Estirpes</u>	<u>Número da Estirpe</u>
<i>Phaseolus erythroloma</i> Mart. ex. Benth	SMS-6
<i>Phaseolus</i> sp	SMS 19 e SMS-289
<i>Stylosanthes guianensis</i> (Aubl.) Sw.	SMS-312 (=H-8, IPEACS, RJ)
<i>Stylosanthes</i> sp.	SMS-55, SMS-330 (=S-5 IPEACS-RJ)

As estirpes da coleção do Instituto Agrônomo de Campinas, são caracterizadas pela sigla SMS (= Seção de Microbiologia do Solo) a qual deve preceder o número da estirpe.

Dos 3 tratamentos restantes, dois sem inoculação de bactérias, serviram de controle. Para o tratamento de inoculação do solo, utilizou-se 10 ml de uma suspensão de Latossolo Roxo a 10 % em água esterilizada. A amostra deste solo foi retirada de uma área da Fazenda Santa Eliza do Instituto Agrônomo de Campinas, já cultivada com amendoim.

O cultivar tatu, que é do grupo Valência, foi utilizada por ser o mais plantado no estado de São Paulo.

O plantio foi feito no dia 14/04/78. As sementes foram esterilizadas com solução de bicloreto de mercúrio 1:1000, por 3 minutos e lavadas 10 vezes com água esterilizada. Plantou-se 5 sementes por vaso e 6 dias após fez-se o desbaste, deixando-se 2 plantas por vaso.

No mesmo dia do plantio, as estirpes foram colocadas para multiplicação em frascos cônicos, tipo Erlenmeyer, contendo 50 ml de meio de cultura líquido (NORRIS, 1964). A inoculação nos frascos foi feita retirando-se inóculo de um tubo de ensaio com uma alça de platina, e transferindo-se para o Erlenmeyer. Ao mesmo tempo fez-se riscagem do inóculo do tubo, para constatação de pureza. Os frascos Erlenmeyer foram colocados no agitador por 7 dias. A inoculação das culturas puras de *Rhizobium*, foi feita um dia após o desbaste, com 2 ml/vaso de caldo de pureza comprovada, preparado como descrito acima, que apresentava bom crescimento das bactérias. Aos 10 dias após o plantio, fez-se a remoção dos cotilédones. Aos 14 dias, fez-se a primeira aplicação de nitrogênio no tratamento com adição da aquele nutriente, usando-se 10 ml/vaso de uma solução esterilizada de NH_4NO_3 a 1,42 %. As demais aplicações foram feitas aos 20, 28, 36, 42 e 54 dias após o plantio, totalizando-se 298 mg de nitrogênio por vaso, nas 6 aplicações.

Sempre que necessário, adicionou-se água fervida na parte inferior dos vasos tomando cuidado para que possíveis contaminações fossem evitadas.

Foram feitas pulverizações preventivas em toda a casa de vegetação para controle de ácaros, usando-se Ortho Hamidop 50 a 1 %, antes do plantio, Ethion a 0,12 % aos 20 dias e Ortho Hamidop 50 a 0,04 % aos 32 e 39 dias, após o plantio.

Durante os quarenta e cinco dias finais de condução do ensaio, registrou-se a temperatura em 2 vasos representativos, inserindo-se os terminais dos termôgrafos na areia a 7 cm de profundidade, utilizando-se um termôgrafo Fõxboro.

A colheita deu-se aos 60 dias (13/06) após o plantio separando-se as raízes da parte aérea e destacando-se os nódulos. O material seco a 60°C, foram pesados, obtendo-se assim o peso da parte aérea e dos nódulos. Os nódulos foram também contados. Sobre a parte aérea, seca e moída, determinou-se o nitrogênio total, utilizando-se o autoanalisador Technicon II, segundo o método descrito em BATAGLIA *et alii* (1978).

3.2. Experimento de Campo

3.2.1. Solo

O solo da área experimental era um Latossolo Roxo que encontrava-se em pousio há pelo menos 10 anos, e tinha como cobertura vegetal predominante os capim "napier", colonião, além de beldroega, guanxuma, picão e algumas leguminosas. Dentre estas foram notados alguns exemplares de *Zornia* sp e vários de *Indigofera* sp.

3.2.2. Preparo da área

A vegetação existente foi roçada com enxadão, sendo retirado todo o resíduo do local. Retiraram-se amostras compostas do solo, para análise química, nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm. Os resultados das análises efetuadas pela Seção de Fertilidade do Solo, IAC, foram os seguintes:

Profundidade cm	M.O. %	pH	e.mg/100 ml TFSA			ug/ml de TFSA	
			Al	Ca	Mg	K	P
0-20	3,3	5,4	0,2	0,7	0,4	28	1
20-40	2,7	5,2	0,4	0,4	0,3	15	0

Com base nesses resultados, fez-se uma adubação de recuperação e correção em toda área experimental, aos 2 meses antes da instalação do ensaio, conforme as recomendações do Boletim 209 do IAC, abaixo indicadas:

Na aração: o equivalente a 2 t de calcário dolomítico/ha.

Na gradeação: o equivalente a 2 t de calcário dolomítico/ha

o equivalente a 80 kg de P_2O_5 /ha, como superfosfato simples,

o equivalente a 20 kg de K_2O /ha, como cloreto de potássio.

Também foi colocado o equivalente a 20 kg/ha de Sulfato de Zinco na gradeação, por sugestão do Dr. Derly Machado de Souza, da Seção de Arroz e Cereais de Inverno, IAC, que constataria insuficiência de Zn no arroz, naquele mesmo solo, em cultivo conduzido próximo ao local do experimento.

3.2.3. Delineamento experimental e tratamento

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 6 repetições dos seguintes tratamentos:

Tratamentos

- A - Testemunha
- B - Nitrogênio aplicado no plantio
- C - Nitrogênio aplicado aos 24 dias do plantio
- D - Nitrogênio aplicado aos 45 dias do plantio
- E - Inoculação com a estirpe SMS-400
- F - Inoculação com a estirpe SMS-319
- G - Inoculação com a estirpe SMS-2.

O nitrogênio foi aplicado na base de 30 kg de N/ha na forma de uréia.

O experimento constou de 42 parcelas, com 5 metros de comprimento por 4,0 m de largura, com 8 linhas, no espaçamento de 0,5 m entre linhas. Das 8 linhas, 3 foram mantidas para colheita de vagens, 2 para amostragem de nodulação e parte aérea e 3 deixadas para bordadura.

3.2.4. Inoculação das sementes

A inoculação das sementes foi feita no dia do plantio, usando-se 4 g do inoculante turfoso por 1 kg de sementes e 5 ml de água para umedecimento da mesma quantidade de sementes e adesão do inoculante. Os inoculantes foram preparados no laboratório da Seção de Microbiologia do Solo, IAC, inoculando-se o caldo com bom crescimento das bactérias, em turfa esterilizada com raios gama (5,0 M. rad).

No dia da inoculação das sementes os inoculantes continham uma população de $1,9 \times 10^9$ bactérias/g da estirpe SMS-2, $1,5 \times 10^9$ bactérias/g, da estirpe SMS-319 e $1,6 \times 10^9$ bactérias/g da estirpe SMS-400. A Seção de Microbiologia do Solo recomenda o uso de turfa irradiada, para o preparo dos inoculantes, devido aos bons resultados de sobrevivência de rizóbios que esse tratamento de esterilização propicia (LOPES *et alli*, 1979).

3.2.5. Plantio

O plantio foi feito no dia 12 de março de 1979, que nas nossas condições corresponde ao período da seca. Se-meou-se 20 sementes por metro de linha, tendo-se plantado primeiro os tratamentos sem inoculação, depois os inoculados e tomando-se os cuidados necessários para evitar contaminações dos canteiros não inoculados, ou entre estirpes.

No sulco de plantio foi feita nova adubação básica, na mesma quantidade da adubação de correção. No tratamento B (com N no plantio) colocou-se também 16,75 g de uréia em cada 5 metros de linha. Nos tratamentos C e D as aplicações de nitrogênio foram feitas em cobertura aos 24 e 45 dias após o plantio, respectivamente, usando-se 16,75 g de uréia em cada 5 metros de linha.

3.2.6. Tratos culturais

Durante a condução do ensaio foram feitas 2 capinas, sendo que as enxadas foram desinfetadas e cada trabalhador capinou um tratamento para evitar contaminações. Foram também efetuadas três pulverizações com os inseticidas, Dimecron 50 na base de 15 cc por 12 litros de água, tendo-se gastado 70 litros da solução na área do experimento, aos 37 e 60 dias e Rodiatox 5 % (parathion etílico), na dosagem de 400 cc/alqueire, gastando-se 27 litros da solução, na área do ensaio. Aos 60 dias do plantio, fez-se a amontoa da terra no pé das plantas.

A geada ocorrida no dia 19 de junho de 1979 queimou a parte apical das plantas que, nesta época já estavam com vagens. Doze dias depois da geada os ramos queimados foram podados, para que as folhas inferiores pudessem aproveitar melhor a luz solar. A partir desta época, fez-se irrigações artificial, quando necessário, devido a falta de chuva.

3.2.7. Amostragens

Foram feitas quatro amostragens de plantas para determinação de matéria seca produzida, e análise de nitrogênio total, e duas amostragens de raízes para avaliação da nodulação; os nódulos foram destacados, contados, secos à 60°C e pesados. A parte aérea também foi seca à 60°C. Para essas amostragens foram coletadas cinco plantas de cada repetição.

3.2.8. Análise de nitrogênio

Da parte aérea moída, foi feita a análise de nitrogênio total, utilizando-se o autoanalisador Technicon II, segundo o método descrito em *BATAGLIA et alii (1978)*.

3.2.9. Colheita

A colheita deu-se em 16 de agosto de 1979, aos 157 dias após o plantio. Convém observar que a maturação dos frutos atrasou-se devido as condições climáticas pelas quais passou a cultura neste ano agrícola, nesta região.

Embora tenha sido seguido o esquema do canteiro apresentado, devido o "stand" ter sido prejudicado inicialmente pela morte de algumas plantas, e posteriormente pelo efeito da geada, fez-se uma padronização da colheita, para 15 plantas por canteiro. Essas plantas foram escolhidas, levando-se em consideração a sua representatividade no canteiro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento em casa de vegetação para a seleção de estirpes

A escolha das estirpes (veja-se 3.1) baseou-se em resultados de ensaios anteriores de seleção de estirpes para siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e soja perene (*Glycine wightii*) (LOPES, E.S., não publicado), galactia (*Galactia striata* (Jacc.) Urban.) e amendoim (*Arachis hypogaea* L.) LOPES et alii (1974), elegendo-se, preferivelmente, as mais eficazes daqueles ensaios, e incluindo-se todas as estirpes disponíveis na coleção da Seção de Microbiologia do Solo (LOPES, 1972 b) que fossem isoladas de plantas da tribo Hedysareae, na qual está incluído o gênero *Arachis*.

Cabe explicar que o "termo estirpe", não tem nenhuma conotação com respeito à taxonomia da bactéria e é usado para diferenciar culturas de *Rhizobium* sp., originárias de diferentes isolamentos" (LOPES, 1972 b).

As temperaturas médias horárias para os quarenta e cinco dias finais do experimento, bem como as temperaturas do dia de maior e menor amplitude de variação, estão apresentadas na Figura 1. Pode ser verificado pela curva das médias horárias que o experimento foi conduzido em condições amenas de temperatura. A máxima das médias ocorreu às 14:00 horas e foi de 28°C. A temperatura esteve acima de 25°C por um período de 8 horas entre às 11:00 horas e 19:00 horas, durante 10 dias, entre o 18º dia e o 32º dia após o plantio.

Segundo DOBEREINER e ARONOVICH (1966) a temperatura tem influência tanto na formação dos nódulos, que é retardada em condições abaixo de 15-18°C nas leguminosas tropicais, como na fixação do nitrogênio. Segundo GIBSON (1976) a atividade máxima da nitrogenase ocorre entre os 20-40°C, variando com a espécie de leguminosa tropical.

Aos 28 dias após o plantio foi observado um sintoma generalizado, não identificado, caracterizado por mancha marrom escuro, principalmente nas folhas mais velhas, possivelmente devido a fitotoxidez por acaricida, cujo prejuízo parece não ter comprometido os resultados.

A fixação de nitrogênio começou a ser observada em diferentes períodos, que serão adiante mencionados, através da diferenciação da tonalidade de verde das folhas, das

Figura 1. Temperaturas médias horárias para os quarenta e cinco dias finais do experimento e temperaturas dos dias de maior e menor amplitude de variação.

plantas inoculadas, em comparação com as plantas dos controles sem nitrogênio e com nitrogênio combinado.

O florescimento foi observado a partir dos 31 dias do plantio.

Os controles com e sem nitrogênio não nodularam, revelando que não houve contaminação.

Das 35 estirpes de *Rhizobium* sp. testadas neste experimento, apenas 12 formaram nódulos no cultivar tatu. O tratamento inoculado com solo da área cultivada com amendoim, também nodulou, mostrando a presença da população autóctone.

No Quadro 1 estão as médias de peso e número de nódulos, produzidos com 2 plantas e o peso de um nódulo, dos tratamentos que entraram na análise estatística. Considerou-se na análise estatística somente os tratamentos que nodularam, e os controles. Cada dado é média de 6 repetições.

A análise estatística mostrou diferenças significativas para peso e número de nódulos, porém esse critério não se revelou satisfatório para separar as estirpes efetivas, como observado anteriormente por GIARDINI e LOPES (não publicado) em feijão, feijão vagem e ervilha, e por LOPES *et alii* (1976) em soja. Os dados de nodulação obtidos nestes tipos de experi-

Quadro 1 - Médias do número e peso em mg, dos nódulos de 2 plantas de amendoim, cultivar tatu, desenvolvidas em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculadas com culturas puras de *Rhizobium* sp. e com solo de área cultivada com amendoim.

Tratamen- to	Nodulação(1)		
	Número	Peso (mg)	Peso de 1 nódulo (mg)
2	180 b (2)	115,9 b	0,63
42	301 a	135,8 b	0,45
55	221 ab	81,7 b	0,37
123	10 c	4,6 c	0,46
124	167 b	150,5 ab	0,90
139	186 b	137,0 b	0,74
176	223 ab	123,8 b	0,56
311	212 ab	207,7 a	0,98
312	251 ab	124,0 b	0,49
319	214 ab	169,5 ab	0,79
330	40 c	20,3 c	0,51
400	175 b	125,7 b	0,72
solo	34 c	84,2 b	2,48
Controle s/N	0	0	0
Controle c/N	0	0	0
C.V. %	14,8	13,4	-

(1) Para a análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{x}$

(2) Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

mentos (vasos de Leonard), quando interpretados em conjunto com peso do material vegetal seco, permite uma melhor avaliação do potencial de fixação de N_2 da associação simbiótica.

O número de nódulos produzidos pelas estirpes efetivas na fixação de nitrogênio, variou entre 175 e 301 nódulos/vaso para todas as estirpes, sendo os extremos correspondentes à nodulação das estirpes SMS-400 e SMS-42, respectivamente. Os pesos de nódulos dessas estirpes foram de 125,7 mg (0,72 mg/nódulo) para a primeira e 135,8 mg (0,45 mg/nódulo) para a segunda.

A maior produção em número de nódulos foi apresentada pela estirpe SMS-42 (301 nódulos/vaso) e os maiores nódulos entre as estirpes inoculadas, foram os formados pela SMS-311 (0,98 mg/nódulo), sendo esta estirpe pouco efetiva na fixação de nitrogênio.

Os nódulos formados pela população autóctone, eram pelo menos, duas vezes e meia maiores que os das estirpes inoculadas, mas o número de nódulos formados foi inexpressivo. A estirpe SMS-55, também ineficiente, apresentou elevado número de nódulos (110 nódulos/planta) sendo estes os de menor tamanho observado no ensaio, pesando em média 0,37 mg/nódulo.

A estirpe SMS-124, que em vasos de Leonard apresentaram nódulos ineficientes, de grande tamanho (LOPES, *informação pessoal*) e também em condições de campo (LOPES *et alii*, 1972), nos tratamentos com ela inoculados, neste experimento, apresentou nódulos ineficientes, entre os maiores deste ensaio, porém, não de tamanho anormal (0,90 mg/nódulo).

Sete das 13 estirpes isoladas de plantas da tribo Hedysareae a qual pertence o amendoim, nodularam as raízes do cultivar tatu. São elas, as estirpes SMS-2, SMS-42, SMS-312, SMS-400, SMS-55, SMS-124, SMS-330. A SMS-69 (=SEMIA-602, RS) isolada do amendoim, não nodulou as plantas, nas condições deste ensaio. Trata-se de uma bactéria com poucas referências, sabendo-se que foi testada por DARDARWAL *et alii* (1974) e nodulou as raízes do cultivar TMV-8.

Há necessidade de autenticação da cultura aqui utilizada, sendo que qualquer alteração em relação ao material original, deve ter ocorrido no laboratório da Seção de Microbiologia do Solo, IAC, já que a mesma estirpe nodulou outro cultivar (DARDARWAL *et alii*, 1974).

O fato de várias estirpes isoladas de leguminosas tropicais não ter nodulado o amendoim, já fora observado por LOPES *et alii* (1974), BURTON (1952), parecendo indicar certa especificidade.

Especificidade quanto a preferência por cultivares e espécies de *Arachis*, para formar uma simbiose efetiva na fixação de nitrogênio, já foi verificada por vários autores , BURTON (1952), DADARWAL *et alii* (1974) e BURTON (1976).

No Quadro 2 estão os dados de produção de parte aérea, por 2 plantas, quantidade de nitrogênio total e a quantidade de nitrogênio fixado pelas diferentes estirpes em relação à quantidade absorvida pelas plantas nutridas com N combinado.

Como no caso dos dados de nodulação, foram considerados para análise estatística somente os tratamentos que no dularam. Os dados referentes ao peso das plantas ou de nitrogê nio total avaliam igualmente os tratamentos, nas condições des te ensaio.

Para nitrogênio total e peso da parte aérea, somente 7 das 13 estirpes que nodularam foram estatisticamente semelhantes ao controle com nitrogênio.

O início da fixação para o conjunto das 7 estirpes mais efetivas foi observado, aos 12 dias após a inoculação, nas plantas inoculadas com a estirpe SMS-2; aos 17 dias, nas plantas com a SMS-42 e SMS-312; aos 20 dias, nas plantas com a SMS-319 e SMS-400 e aos 24 dias nas plantas com as estirpes

Quadro 2 - Médias do peso em grama, da parte aérea, N total em miligrama e N fixado em relação ao controle com nitrogênio, de 2 plantas de amendoim, cultivar tatu, desenvolvidas em solução nutritiva e inoculadas com culturas puras de *Rhizobium* sp. e com solo de áreas cultivada com amendoim.

Tratamentos	Peso (g)	N total (mg)	% de N fixado em relação ao incorporado pelo C-N (1)
2	4,35 ab (2)	164,8 ab	71,0
42	4,47 ab	167,8 ab	72,6
55	1,35 d	29,4 d	3,7
123	1,58 cd	32,3 d	5,0
124	1,45 d	29,4 d	3,5
139	4,50 ab	186,1 ab	81,7
176	4,65 ab	198,6 a	87,9
311	3,22 bc	125,2 bc	51,4
312	4,62 ab	171,0 ab	74,2
319	5,45 a	225,9 a	101,5
330	1,23 d	26,2 d	2,1
400	4,98 a	212,5 a	94,8
solo	1,88 cd	57,7 cd	17,8
Controle s/N	1,18 d	21,9 d	-
Controle c/N	5,58 a	222,9 a	100,0
C.V. %	24,5	27,0	-

(1) Este dado foi obtido subtraindo-se o nitrogênio da semente (21,9 mg) e calculando a % em relação ao controle com nitrogênio, que considerou-se como sendo 100.

(2) Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem significativamente pelo teste Tukey, ao nível 5 % de probabilidade.

SMS-176 e SMS-139. O tratamento de inoculação com solo, mostrou sinais de início de fixação somente aos 32 dias após a inoculação e não fixou nitrogênio suficiente para produções equivalentes as das melhores estirpes inoculadas.

A quantidade total de nitrogênio encontrada nas plantas inoculadas com as estirpes que se mostraram mais efetivas fixadoras de nitrogênio e estatisticamente semelhantes, variou entre 164,8 mg de N/vaso para a SMS-2, até 225,9 mg de N/vaso para a estirpe SMS-319.

As estirpes do solo também foram ineficazes. Para um critério arbitrário, que considerasse como efetivas as estirpes que fixassem, até 80 % do total assimilado ao tratamento com nitrogênio, seriam considerados efetivas apenas as estirpes SMS-319, SMS-400, SMS-176 e SMS-139, com quantidades de N fixado equivalente a 101,5 %, 94,8 %, 87,9 %, 81,7 % do que foi incorporado pelo tratamento com nitrogênio, respectivamente. Os nódulos produzidos por essas estirpes apresentam massa unitária média semelhante, ou seja, 0,79 mg, 0,72 mg, 0,56 mg e 0,74 mg por nódulo, respectivamente. Deste conjunto, as estirpes SMS-139 e SMS-176, juntamente com a estirpe SMS-2, haviam se mostrado efetivas em ensaio anteriormente conduzido por LOPES *et alii* (1974). Esses autores observaram que a estirpe SMS-2, em condições semelhantes ao deste experimento, produziu maior número de nódulos e nódulos maiores que os das estirpes

SMS-139 e SMS-176. Estas por sua vez formaram nódulos que tinham o dobro do tamanho dos formados neste experimento, mas em menor número por planta. Neste mesmo ensaio, a estirpe SMS-2 foi também efetiva na galactia (*Galactia striata*).

A estirpe SMS-176 (=176-Checoslovãquia), isolada de *Glycine wightii* merece ser investigada num ensaio em algumas leguminosas, pois já se verificou ser pouco eficaz em siratro, efetiva em soja perene (LOPES, E.S., dados não publicados) e não ter nodulado galactia (LOPES et alii, 1974). A estirpe SMS-139 (= CB-756), isolada de *Macrotiloma africanus* e recomendada para várias leguminosas tropicais (DIATLOFF e LANGFORD, 1975) foi ineficaz em soja perene (LOPES, E.S., dados não publicados) e galactia segundo LOPES et alii (1974).

Para o experimento de campo foram escolhidas as 2 estirpes que mais incorporaram nitrogênio, ou sejam, SMS-319 e SMS-400. A estirpe SMS-2, que não estava entre as 4 melhores deste experimento, foi também incluído por ter sido a mais eficiente em ensaio anteriormente conduzido por LOPES et alii (1974).

4.2. Experimento de campo

Durante a condução do experimento, foram obtidos os dados de nodulação de raízes amostras em 2 épocas (Quadro 3),

Quadro 3 - Médias de peso (mg), número e peso de 1 nódulo (mg) da nodulação formada em 5 plantas de amendoim, observados em amostras coletadas em 2 épocas do ciclo da planta, em condições de campo.

Tratamento	Épocas de amostragem					
	45 dias			84 dias		
	peso	número	peso/nódulo	peso	número	peso/nódulo
Sem inoculação						
Sem nitrogênio	165,1	692	0,24	483,2	1.868	0,26
Com N no plantio	99,2	518	0,19	375,8	1.632	0,23
Com N aos 24 dias	126,3	620	0,20	408,4	1.859	0,22
Com N aos 45 dias	(-)	(-)	(-)	397,7	1.656	0,24
Inoculação						
SMS-400	165,5	724	0,23	473,9	2.160	0,22
SMS-319	186,0	804	0,23	470,0	1.944	0,24
SMS-2	175,1	710	0,25	381,9	1.737	0,22
F	n.s.	n.s.	(-)	n.s.	n.s.	(-)
C.V.%	36	17(1)	(-)	27	13(1)	(-)

(-) não foi determinado.

(1) para a análise estatística os dados foram transformados em $\sqrt{x}$

peso e o teor de nitrogênio da parte aérea (Quadro 4) e calculado o nitrogênio total (Quadro 5) e nitrogênio acumulado (Quadro 6) na parte aérea das plantas, nos períodos entre 4 épocas de amostragens.

4.2.1. Nodulação

Os tratamentos não inoculados estavam bem nodulados. Esta nodulação, atribuída à população autóctone de rizóbios, foi estatisticamente semelhante à observada nos tratamentos inoculados com as estirpes em teste.

Devido ao coeficiente de variação ser alto, não foi possível separar os efeitos devidos aos tratamentos. Mas os dados, nos seus valores absolutos, mostram tendências de efeito dos tratamentos, particularmente no caso da aplicação de nitrogênio, onde as informações prévias da literatura mostram resultados semelhantes. Os valores absolutos dos dados de nodulação (Quadro 3) indicam uma tendência do nitrogênio aplicado na forma de uréia, em diminuir a nodulação induzida pela população autóctone. Efeito depressivo do nitrogênio na nodulação já foi observado em amendoim (ACUNA e SANCHES, 1969; CHESNEY, 1975) e em várias outras leguminosas (GIBSON, 1976).

O nitrogênio parece ter retardado a formação dos nódulos particularmente nas plantas que receberam o N no plan-

Quadro 4 - Médias dos dados de matéria seca (MS) em grama, da parte aérea (inclui: caule, folhas, hastes e frutos) e percentagem de N total, em 5 plantas de amendoeira amostradas em 4 épocas do ciclo da planta, em condições de campo.

Tratamento	Período da Amostragem							
	24 dias		45 dias		59 dias		84 dias	
	MS	N	MS	N	MS	N	MS	N
Sem inoculação								
Sem nitrogênio	4,1	4,77	29,3	4,06	60,1	4,02 a ⁽¹⁾	120,8	3,29 c
Com N no plantio	4,2	4,74	25,6	3,97	57,9	3,88 a	132,6	3,13 c
Com N aos 24 dias	(-)	(-)	22,5	3,88	55,4	3,83 a	110,6	4,28 a
Com N aos 45 dias	(-)	(-)	(-)	(-)	69,4	3,46 b	153,8	3,78 ab
Inoculado com								
SMS-400	3,9	4,62	28,2	3,95	58,4	3,34 b	135,3	3,68 b
SMS-319	4,2	4,46	28,7	3,87	63,4	3,39 b	149,7	3,61 b
SMS-2	3,8	4,47	32,1	3,85	58,9	3,31 b	113,9	3,58 b
F	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*
C.V. %	22	6	27	4	24	6	22	10

(-) não foi determinado.

(1) médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem significativamente pelo teste Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade.

* significativo ao nível de 5 %.

Quadro 5 - Médias dos dados de nitrogênio total, em mg, em 5 plantas coletadas em 4 épocas do ciclo do amendoim, em condições de campo.

Tratamento	Amostragem			
	24 dias	45 dias	59 dias	84 dias
Sem inoculação				
Sem nitrogênio	193,3	1.189,0	2.396,0	3.995,0 b(1)
Com N no plantio	198,9	998,0	2.245,0	4.114,0 b
Com N aos 24 dias	193,3(2)	879,0	2.122,0	4.794,0ab
Com N aos 45 dias	193,3(2)	1.189,0(2)	2.408,0	5.817,0a
Inoculado com				
SMS-400	181,3	1.116,0	1.943,0	4.987,0ab
SMS-319	187,7	1.108,0	2.164,0	5.443,0ab
SMS-2	172,6	1.243,0	1.945,0	4.098,0 b
F	n.s.	n.s.	n.s.	*
C.V. %	21	26	24	24

(1) Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem significativamente pelo teste Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

(2) Repetido os dados do tratamento sem inoculação/sem nitrogênio, ao qual correspondem.

* significativo ao nível de 5 %.

Quadro 6 - Teores médios do nitrogênio, em mg, acumulado na parte aérea (caule, hastes, folhas e frutos), nos períodos entre as amostragens.

Tratamento	Acúmulo de N no período entre			
	0 - 24 dias	24 - 45 dias	45 - 59 dias	59 - 84 dias
Sem inoculação				
Sem nitrogênio	193,3	996,0	1.207,0	1.599,0 c(2)
Com N no plantio	198,9	799,0	1.248,0	1.869,0 bc
Com N aos 24 dias	193,3(1)	686,0	1.243,0	2.672,0 abc
Com N aos 45 dias	193,3(1)	996,0(1)	1.219,0	3.409,0 a
Inoculado com				
SMS-400	181,3	935,0	827,0	3.044,0 abc
SMS-319	187,7	920,0	1.056,0	3.280,0 ab
SMS-2	172,6	1.071,0	702,0	2.153,0 abc
F	n.s.	n.s.	n.s.	*
C.V. %	21	32	50	23

(1) Repetido os dados do tratamento sem inoculação/sem nitrogênio, ao qual correspondem.

(2) Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

* Significativo ao nível de 5 %.

tio. O tratamento com nitrogênio no plantio produziu até aos 45 dias, 33,6 % menos nódulos que o tratamento sem nitrogênio e foi nessa amostragem que os nódulos se apresentavam com menor massa unitária, com um valor médio de 0,19 mg por nódulo, enquanto os produzidos pelas plantas sem nitrogênio pesavam em média 0,24 mg/nódulo. AYALA e VELÁSQUEZ, 1978, também verificaram a diminuição da nodulação devido a aplicação de N.

Na segunda amostragem, feita aos 84 dias, essa tendência diminuiu, tendo o tratamento com nitrogênio no plantio produzido 14,5 % menos nódulos que o tratamento sem N e os nódulos maiores do que os da primeira amostragem. No tratamento com aplicação de nitrogênio aos 24 dias após o plantio, observou-se menor número de nódulos na amostragem dos 45 dias (aos 21 após a aplicação do nitrogênio) porém, aos 84 dias a nodulação daquele tratamento foi semelhante à do controle. O tratamento com aplicação de nitrogênio aos 45 dias do plantio, só foi avaliado na amostragem feita aos 84 dias, quando também se observou diminuição na nodulação. Na primeira amostragem, este tratamento estava em condições semelhantes à do controle.

Os tratamentos inoculados com as estirpes efetivas, tiveram uma nodulação igual a provocada pela população autóctone, com valores absolutos ligeiramente maiores para a estirpe SMS-319 na amostragem dos 45 dias e para a estirpe SMS - 400 aos 84 dias. Não houve efeito dos tratamentos, ou épocas da amostragem, no tamanho dos nódulos.

A inoculação foi feita com inoculante de alta concentração ($1,5 \times 10^9$ bactérias/g, $1,6 \times 10^9$ bactérias/g e $1,9 \times 10^9$ bactérias/g, para as estirpes SMS-319, SMS-400 e SMS-2, respectivamente). Foram inoculadas portanto, mais de 3×10^6 bactérias viáveis por semente. Considerando uma perda de 90 %, devido a dessecação, o que pode ser esperado, segundo SALEMA *et alii* (1979), ter-se-ia ainda 300.000 bactérias/ semente. Segundo DATE (1970) esse número de bactérias dá uma boa vantagem competitiva da estirpe do inoculante, em relação à população autóctone. DIATLOFF e LANFORD (1975) afirmaram que é difícil superar a nodulação da população natural com estirpes introduzidas, mesmo em solos com baixo número de rizóbios. Segundo esses autores o sucesso da introdução de estirpes depende do método de inoculação e melhores resultados foram obtidos com métodos semelhante ao utilizado neste experimento, ou seja umedecimento superficial das sementes, seguido de mistura com a turfa contendo rizóbios, Somente que esses autores usaram para umedecimento das sementes, uma solução aquosa com 40% de goma arábica. Com esse método aqueles autores obtiveram 66% dos nódulos devido a estirpe do inoculante, sendo que esse inoculante possuía uma concentração de $2,5 \times 10^7$ bactérias/g.

Os diferentes acúmulos de N total na parte aérea observado neste experimento, conforme podem ser verificado no Quadro 6, sugere que as plantas estavam noduladas por diferen-

tes estirpes de *Rhizobium*. É interessante observar que a nodulação pode sofrer mudanças na proporção de nódulos induzidos pelas estirpes introduzidas pelo inoculante, em relação à população autóctone, entre duas amostragens, conforme verificado por LAW e STRIJDOM (1974) em amendoim; os referidos autores observaram uma maior porcentagem de nódulos da estirpe do inoculante nas amostragens aos 20 e 62 dias após o plantio, do que na amostragem dos 40 dias.

4.2.2. Produção de parte aérea (caule, hastes, folhas e frutos) e percentagem de nitrogênio total

Não houve diferença significativa no peso da parte aérea produzida pelos tratamentos usados, em nenhuma das 4 amostragens.

A percentagem de N total nas 2 primeiras épocas amostradas, mostraram-se semelhantes para todos os tratamentos, porém aos 59 e 84 dias, a análise estatística dos dados (Quadro 4) mostram que as plantas assimilaram diferentes teores de N, havendo, inclusive, inversão na eficácia de assimilação de nitrogênio, devido aos tratamentos, entre uma e outra amostragem.

Apesar de não haver diferença significativa na produção de matéria seca, pelos valores absolutos dos dados da

amostragem aos 84 dias, observa-se que o tratamento que recebeu N no florescimento (45 dias) produziu em média 27 % a mais de matéria seca que o tratamento sem nitrogênio, nodulado com a população autóctone. Nesta mesma amostragem, o tratamento inoculado com a estirpe SHS-319 produziu 24 % a mais de matéria seca que o sem nitrogênio.

Aos 59 dias o teor de nitrogênio dos tratamentos inoculados com as estirpes, e do tratamento que recebeu o adubo no florescimento, apresentavam teores de nitrogênio total, significativamente menores que os tratamentos nodulados com a população autóctone, sem nitrogênio e com os que receberam o nutriente no plantio ou após 24 dias.

Na amostragem realizada aos 84 dias, houve uma inversão dos tratamentos com teores maiores de N total, em relação a amostragem dos 59 dias, conforme mostram os dados do Quadro 4. Observa-se que os tratamentos sem nitrogênio ou com N no plantio tinham os teores menores de N. total nesta amostragem, enquanto que os 59 dias apresentavam os maiores valores, ambos os casos, estatisticamente significativos. O conjunto de tratamentos inoculados com as estirpes eficazes assimilaram N em quantidades estatisticamente maiores que os tratamentos sem nitrogênio ou com nitrogênio no plantio. Os tratamentos com nitrogênio aos 24 ou 45 dias, possuíam significativamente maiores teores de N total que os demais tratamentos.

Interessante notar que a produção de matéria seca do tratamento com aplicação de N aos 24 dias após o plantio, foi semelhante ao tratamento sem nitrogênio, mas o nitrogênio assimilado no mesmo período (84 dias) foi 30 % maior, estatisticamente significativo.

4.2.3. Nitrogênio total acumulado

No Quadro 5 estão apresentados os dados de nitrogênio total acumulado pelas plantas. A análise estatística dos dados revelou diferenças significativas somente na última amostragem, feita aos 84 dias após o plantio. Os tratamentos sem inoculação de bactérias, sem nitrogênio ou com nitrogênio no plantio, assim como o tratamento inoculado com a estirpe SMS-2, acumularam até aquela data teores menores que os demais tratamentos.

No Quadro 6 encontram-se os dados do nitrogênio acumulado entre os períodos correspondentes a cada amostragem. Estes dados foram obtidos a partir daqueles do Quadro 5, subtraindo os valores encontrados aos 24 dias daqueles encontrados aos 45 dias; os valores obtidos aos 45 daqueles obtidos aos 84 dias e assim por diante.

Nos períodos entre zero até 24 dias do plantio, o nitrogênio acumulado por cada tratamento foi estatisticamente

semelhante; no período de 24 até 45 dias, também não houve diferença significativa no total de nitrogênio acumulado por cada tratamento. No período correspondente de 45 até 59 dias, apesar de não haver diferença significativa, existe uma tendência do conjunto de tratamentos não inoculados de acumularem valores superiores aos do conjunto inoculado com as estirpes efetivas. No Quadro 4, a percentagem de nitrogênio mostram essas tendências. No período de 59 até 84 dias, as diferenças foram estatisticamente significativas e mostram que os tratamentos inoculados com as estirpes efetivas aumentaram sua eficiência na assimilação de nitrogênio durante esse período.

Na Figura 2, os dados de acúmulo durante 84 dias e os correspondentes a taxa média de absorção diária do nitrogênio, entre cada amostragem, mostram as tendências dos efeitos devido aos tratamentos utilizados neste experimento. Os dados da taxa média de absorção diária, foram obtidos a partir daqueles do Quadro 6, divididos pelo número de dias entre cada amostragem correspondente.

Na Figura 2 A, (gráfico de curvas) e B (gráfico de barras), estão os dados dos tratamentos sem inoculação. Para esse conjunto de tratamentos, as curvas da Figura 2 A mostram que o acúmulo de nitrogênio foi contínuo até os 84 dias. Porém a Figura 2 B sugere que os tratamentos sem nitro-

aquele com nitrogênio no plantio, mantiveram ou mesmo diminuíram a intensidade de assimilação de nitrogênio, a partir da amostragem feita aos 59 dias, enquanto os tratamentos com nitrogênio em cobertura a partir de 59 dias; aumentaram a taxa média de absorção diária.

Nas Figuras 2 C (gráfico de curvas) e D (gráfico de barras), estão os dados do conjunto de tratamentos inoculados com as estirpes efetivas, mais o tratamento testemunha, sem nitrogênio, nodulado com a população autóctone. Observa-se na Figura 2 C, que o acúmulo também foi constante até os 84 dias, para todos os tratamentos. Na Figura 2 D, enquanto a testemunha teve diminuição na taxa de assimilação diária a partir de 59 dias, as estirpes introduzidas intensificaram significativamente sua assimilação diária.

Esses dados corroboram as observações de *RATNER et alii* (1979) e *WYNNE et alii* (1978) a respeito da atividade da nitrogenase nesta leguminosa. Os citados autores observaram que a atividade máxima de fixação de nitrogênio em amendoim verificar-se-ia na fase final do ciclo e em época semelhante à amostragem efetuada a 84 dias, neste experimento.

Os dados sugerem também que as estirpes introduzidas infectaram as plantas, pois promoveram absorção de N em fases diferentes daquela promovida pelas plantas noduladas pela população autóctone.

FIGURA - 1 A ACÚMULO DE N DURANTE 84 DIAS, DOS TRATAMENTOS NÃO INOCULADOS - 1 B TAXA DE ABSORÇÃO DIÁRIA DE N DOS TRATAMENTOS NÃO INOCULADOS - 1 C ACÚMULO DE N DURANTE 84 DIAS, DOS TRATAMENTOS INOCULADOS, - 1 D TAXA MÉDIA DE ABSORÇÃO DIÁRIA DE N, DOS TRATAMENTOS INOCULADOS.

Também os trabalhos de COELHO *et alii* (1967 a) , (1967 b) e SICHMANN *et alii* (1970), mostram que os maiores teores de nitrogênio foram sendo obtidos do florescimento até a colheita. O primeiro trabalho citado foi conduzido no outono, de janeiro a maio, não passando por temperaturas mais frias como neste experimento, e teve seu ciclo completo em 108 dias. A maior média diária de absorção de nitrogênio naquele trabalho foi observada a partir do 35º dia, entre 35-42 dias, tendo-se verificado a incorporação de 1,5 kg de N/dia/ha. Essa taxa entretanto sofreu uma decaída, tendo-se elevado entre 49-56 dias novamente, para 1,3 kg de N/dia/ha. No segundo experimento citado, conduzido na primavera com ciclo de 112 dias, a taxa diária de máxima assimilação de nitrogênio foi de 2,7 kg de N/dia/ha, no período de 77 até 91 dias após a germinação.

4.2.4. Produção

A análise estatística dos dados de produção não revelou diferenças significativas entre os tratamentos, quer para vagens ou para sementes. As médias de produção de vagens e de sementes estão no Quadro 7.

Considerando-se os dados de produção de sementes, os tratamentos com nitrogênio no florescimento (45 dias) e inoculado com a estirpe SMS-2, produziram 20 % e 15 %, respectiva

Quadro 7 - Dados do peso, em grama, de sementes e vagens de 15 plantas de amendoim e percentagem de vagens chochas, produzidas em condições de campo.

Tratamento	PRODUÇÃO		
	Vagens	Sementes	% de vagens chochas
Sem inoculação			
Sem nitrogênio	278,0	192,0	21
Com N no plantio	278,0	196,0	20
Com N aos 24 dias	287,0	204,0	23
Com N aos 45 dias	328,0	231,0	23
Inoculado com			
SMS-400	268,0	187,0	26
SMS-319	290,0	204,0	18
SMS-2	312,0	221,0	21
F	n.s.	n.s.	n.s.
C.V. %	15	17	26

mente, a mais que o tratamento sem nitrogênio. Para os dados deste experimento e considerando-se a produção por plantas, para 166.000 plantas/ha as diferenças entre os tratamentos citados, seriam de 434 kg para o tratamento com nitrogênio no florescimento e 324 kg de amendoim descascado para as plantas inoculadas com a estirpe SMS-2. PATIL e KALEKAR (1975) obtiveram em solos da Índia, resposta estatisticamente significativa com 14 % de aumento do rendimento de amendoim, devido a inoculação das sementes. Porém as produções por eles obtidas foram inferiores às deste experimento. Por outro lado VAN DER MERWE *et alii* (1974), encontraram diferenças significativas na produção somente quando a diferença no rendimento foi de 45 %, com um coeficiente de variação de 21 %; no mesmo ensaio, uma diferença de 35 % de aumento no rendimento não foi significativa estatisticamente. As produções obtidas no ensaio daqueles autores foram superiores as deste experimento.

Interessante observar que o tratamento com a estirpe SMS-2 que até na época da última amostragem, aos 84 dias, havia acumulado igual quantidade de nitrogênio ao tratamento sem esse nutriente, produziu 15 % a mais de amêndoas que aquele tratamento, em termos de valor absoluto. Por outro lado as estirpes SMS-400 e SMS-319, haviam acumulado até os 84 dias, 25 e 36 %, respectivamente, mais nitrogênio que as plantas do tratamento sem nitrogênio, noduladas com a população autóctone, e essa superioridade não refletiu na produção.

Pelas observações de RATNER *et alii* (1979) e WYNNE *et alii* (1978) a atividade máxima da nitrogenase foi observada quase no final do ciclo. Como neste experimento o ciclo se prolongou até 157 dias, é possível que a atividade da nitrogenase dos rizóbios autóctones que nodularam as plantas do tratamento sem inoculação e sem nitrogênio, tenha recuperado sua atividade, após a última amostragem, apesar da tendência decrescente mostrada na Figura 2D. Os dados desta Figura, mostram entretanto, que a SMS-2 aumentou a taxa de assimilação diária entre o período de 59 a 84 dias e esse aumento pode ter continuado depois dos 84 dias.

Convém comentar também, que o solo contribuiu com algum nitrogênio, especialmente por estar sendo cultivado depois de 10 anos em pousio, e acusou um teor de matéria orgânica de 3 % e que esse nutriente, o nitrogênio não foi limitante na produção.

5. CONCLUSÕES

- O amendoim não é uma leguminosa de alta promiscuidade simbiótica pois, pelos resultados deste experimento, como em outros, não tem nodulado livremente com *Rhizobium* sp. tipo "cow-pea", como outras leguminosas tropicais.
- O peso da matéria seca e o nitrogênio total, foram critérios igualmente adequados para separar as estirpes SMS-400, SMS-319, SMS-176, SMS-312, SMS-139, SMS-42 e SMS-2, como as mais efetivas fixadoras de nitrogênio, entre as 35 escolhidas.
- Para as condições do experimento de campo, não houve benefícios da inoculação de sementes com nenhuma das três estirpes testadas e nem da aplicação de 30 kg de N/ha, nas diferentes épocas.

- Fatores externos não controlados, limitaram neste experimento a produção de tal forma que o nitrogênio necessário para a produção não foi fator limitante.

Effects of autochthonous population of *Rhizobium* sp. , selected strains and times of nitrogen application on the nodulation and yield of peanuts (*Arachis hypogaeae* L.)

6. SUMMARY

Two experiments were conducted to evaluate the contribution of dinitrogen fixation by autochthonous Rhizobia and the efficiency of strains which nodulate the peanuts roots.

In the first experiment carried out in greenhouse with peanuts plants cultivated in nutrient solution, it was made the selection of strains to be used in the field experiment. Thirty five strains of *Rhizobium* sp. were isolated from 15 species of tropical legumes and Hedysareae tribe. From these 35 strains, 12 of them nodulated the roots of cultivar tatu. Nodules were formed in the plants of the treatment of which the inoculated with the soil cultivated previously with peanuts.

From 13 treatments whose roots nodulated, seven showed and efficient nitrogen fixation. From 13 strains isolated from plants of Hedysareae tribe, seven nodulated and only 4 were efficient. The nodules formed in roots of the plants inoculated with soil were not efficient.

In the experiment conducted in field conditions, 3 strains were selected. The effect of these strains and the indigenous soil *Rhizobium* sp, population were compared, in presence of the application of 30 kg N/ha at planting time, 24 and 45 days after planting time.

It was observed that the non-inoculated plants nodulated with the native Rhizobia. The analysis of the data showed no difference between treatments in respect of weight and number of nodules.

There was a continuous increase of the dry matter yield in the four samplings, but the differences between treatments were not significant.

The total nitrogen accumulation in the fourth sampling is less in the non-inoculated plants of the treatments to which nitrogen was applied or not and in the inoculated plants with strain SMS-2, than the plants of the treatments which receive nitrogen in surface and those inoculated with strains SMS-400 or SMS-319. The daily assimilation rate of nitrogen increased on and after 59 days in the non inoculated plants of the treatments to which nitrogen was applied at 24 and 45 days after planting and in the inoculated plants.

7. LITERATURA CITADA

- ACUNA, J, e P.C. SANCHES, 1969. Resposta do amendoim a aplicação de Nitrogênio, Fósforo e Potássio, no solo franco-arenoso de savana no Estado de Monaga. Fertilidade 35: 3-9.
- ARRUDA, N.B. e D.P.P.S. BRITTO, 1971. Adubação mineral do amendoim. I. Ensaio em solos das Séries Itaguaí e Ecologia. Pesq. agropec. bras., Sér. Agron., 6: 143-148.
- AYALA, B.L.B. e L. VELÁSQUEZ, 1978. Evaluacion agronomica de once (11) cepas de *Rhizobium* sp. inoculadas en mani (*A. hypogaea*) cultivado em suelos de los llanos orientales de Venezuela. In: IX Reunion Latinoamericana sobre Rhizobium, México, p. 31-44.
- BATAGLIA, O.C.; J.P.F. TEIXEIRA; P.R. FURLANI e A.M.C. FURLANI, 1978. Análise Química de Plantas. Campinas, Instituto Agrônomo, 1978, 31 p. (Circular nº 87).

- BEATTIE, J.H.; W.F. POSS e B.B. HIGGINS, 1953. Growing Peanuts. Washington, D.C., US Depto. of Agriculture. Farmer's Bulletin nº 2063, 28 p.
- BRITO, D.P.P.S.; N.B. ARRUDA; C. NERY e P.A. EIRA, 1973. Estudo dos fatoriais fracionados em ensaios de adubação mineral do amendoim. Pesq. Agropec. bras. Sér. Agron. 8: 143 - 151.
- BURTON, J.C., 1952. Host Specificity Among certain plants in the cowpea cross-inoculation Group. Soil Sci. Soc. Am.Proc. 16: 356-358.
- BURTON, J.C., 1976. Pragmatic aspects of the *Rhizobium*: Leguminous plant association. In: Newton, W.E. e Nyman C.J. Edit. Proceedings of the 1st. International Symposium on Nitrogen Fixation. Washington State University Press., vol.2: 429-446.
- CHESNEY, H.A., 1975. Fertilizer Studies with Groundnuts on the Sands of Guyana. I. Effect of Nitrogen, Inoculum, Magnesium and Fritted Micronutrients. Agronomy Journal, vol. 67:7-10.
- CHOMCHALOW, S., 1970. The effectiveness of introduced *Rhizobium* strains on Rayong peanut. Applied Scientific Research Corporation of Thailand, nº 2, 10 p.

COELHO, F.A.S. e R. TELLA, 1967a. Absorção de nutrientes por plantas de amendoim na cultura de outono. Bragantia, vol. 26: 235-252.

COELHO, F.A.S. e R. TELLA, 1967b. Absorção de nutrientes pela planta de amendoim em cultura de primavera. Bragantia, vol. 26: 393-408.

DADARWAL, K.R.; C.S. SINCH e N.S. SUBBA RAO, 1974. Nodulation and serological studies of rhizobia from six species of *Arachis*. Plant and Soil 40: 535-544.

DATE, R.A., 1970. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. Plant and Soil 32: 703-725.

DIATLOFF, A. e S. LANGFORD, 1975. Effective natural nodulation of peanuts in Queensland. Queensland Journal of Agric. and Animal Sciences, vol. 32, nº 1: 95-100.

DOBEREINER, J. e S. ARONOVICH, 1966. Efeito da calagem e da temperatura do solo na fixação de nitrogênio de *Centrosema Pubescens*, Benth em solo com toxidez de manganês. Rio de Janeiro. Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuária do Centro-Sul. Boletim nº 3:1121-1124.

DUGGAR, J.F., 1935. Effects of inoculation and fertilization of spanish peanuts on root nodule numbers. Journal of the American Society of Agronomy. Vol. 27: 128-133.

GAUR, Y.D.; A. N. SEN e N.S. SUBBA RAO, 1974. Promiscuity in groundnut *Rhizobium* association. Sbl. Bakt. Abt. II, 129: 369-372.

GEORGIA. University. College of Agriculture. Growing peanuts in Georgia: a package approach. Athens. 46 p.

GIBSON, A.H., 1976. Limitation to dinitrogen fixation by legumes. In: William E. Newton e C.J. Nyman, Eds. Proceedings of the 1st. International Symposium of Nitrogen Fixation. Washington State University Press. Vol. 2: 400-428.

LAW, I.J. e B.W. STRIJDOM, 1974. Nitrogen-fixing and competitive abilities of a *Rhizobium* strain used in inoculants for *Arachis hypogaea*. Phytophylactica 6: 221-228.

LOPES, E.S.; R. de TELLA; J.L.V. ROCHA e T. IGUE, 1972. Inoculação de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Bragantia 31 (nota nº 6): XXVII-XXXIV.

LOPES, E.S.; L.A.C. LOVADINI; H. GARGANTINI e T. IGUE, 1972a.

Número mais provável e eficiência de *Rhizobium* autóctone para soja perene e siratro em quatro grandes grupos de Solos do Estado de São Paulo. Bragantia, vol. 31: 235-248.

LOPES, E.S. (1972b). Coleção de estirpes de *Rhizobium* spp. do Instituto Agronômico. Campinas, Instituto Agronômico, 12 p. (Circular nº 11)

LOPES, E.S.; L.A.C. LOVADINI; S. MIYASAKA; T. IGUE e A.R. GIARDINI, 1974. Seleção de estirpes de *Rhizobium* sp. para amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e galaxia (*Galactia striata* (Jacq.) Urban.). Bragantia 33 (nota nº 21): CV-CX.

LOPES, E.S.; A.R. GIARDINI; R.A.S. KIIHL e T. IGUE, 1976. Especificidade hospedeira e pré-seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* para as variedades santa-rosa, viçosa e IAC-2 de soja. Bragantia 35: 1-11.

LOPES, E.S.; A. SAVY FILHO; M.L.C. de OLIVEIRA; A.R. GIARDINI e A.S. POMPEO, 1976. Observação da nodulação natural em cultivares de amendoim. Bragantia 35 (nota nº 3): XI-XIII.

LOPES, E.S.; A.R. GIARDINI e L. SANCHES, 1979. Sobrevivência de *Rhizobium japonicum* em turfa esterilizada com raios gama. Bragantia (no prelo).

NAKAGAWA, J.; L.C. SCOTON; T.C. ALMEIDA e A.M.L. NEPTUNE, 1966.

Adubação NPK, calagem e diagnose foliar do amendoim. Anais da ESALQ vol. XXIII: 369-377.

NORRIS, D.O., 1964. Techniques used in work *Rhizobium*. In:

Some concepts and methods in sub-tropical pastures research. Farnham Royal, Bucks, Bull. 47: 186-198.

PATIL, P.L. e A.R. KALEKAR, 1975. Seed inoculation studies in groundnut (*A. hypogaea* L.) with diferents strains of *Rhizobium* sp. *Rhizobium Newsletter* 20 (1): 21.

RATNER, E.I.; RINA LOBEL, HELENA FELDHAY e A. HARTZZOK, 1979.

Some characteristics of symbiotic nitrogen fixation, Yield, protein and oil accumulation in irrigated Peanuts (*Arachis hypogaea* L.). Plant and Soil 51: 373-386.

ROCHA, J.L.V.; R. de TELLA; V. CANACCHIO FILHO e E.S. FREIRE,

1965. Experiências de adubação do amendoim em campos da região de Botucatu. Bragantia 24: 281-303.

SALEMA, M.P.; C.A. PARKER e D.K. KIDBY, 1979. The survial

of *Rhizobium* cells on seed. 69 Australian Legume Nodulation Conference, University of Western Australia. Perth.p. 50-53.

- SAVY FILHO, A., 1979. Estudo de métodos de aplicação de fertilizantes na cultura de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 91 pág. (Dissertação de Mestrado).
- SICHMANN, W.; A.M.L. NEPTUNE e N. SABINO, 1970. Acumulação de macronutrientes pelo amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cultivado em outono na época da seca. Anais da ESALQ, vol. XXVII: 393-409.
- SICHMANN, W.; A.M.L. NEPTUNE; A. SAVY FILHO e D.H.C. LASCA, 1979. Adubação do amendoim. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI). Boletim técnico nº 136, 39 p.
- STURKIE, D.G. e G.A. BUCHANAN, 1974. Cultural practices. In: Peanut culture and uses. A Symposium. Stillwater. Oklahoma. 299-326.
- SUNDARA RAO, W.V.B., 1971. Field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes. Plant and Soil, Special volume: 287-291.
- TELLA, R. de; V. CANECCHIO FILHO; J.L.V. ROCHA; E.S. FREIRE e T. IGUE, 1970. Efeito de doses crescentes de N, P e K sobre a produção de amendoim em solos Podzolizados de Lins e Marília. Bragantia, 29: 199-206.

- TELLA, R. de; V. CANECCHIO FILHO; J.L.V. ROCHA e T. IGUE, 1971. Efeito da adubação do amendoim com N, P e K, na ausência e na presença de calcário. Bragantia, 30: 39-48.
- VAN DER MERWE, S.P.; B.W. STRIJDOM e C.J. UYS, 1974. Groundnut response to seed inoculation under extensive agricultural practices in South African Soils. Phytophylactia 6: 295-302.
- YORK JR., E.T. e W.E. COLDWELL, 1951. Soil properties, fertilization and maintenance of soil fertility. In: The peanut, the unpredictable legume. Washington, D.C. National Fertilizer Association, 122-172.
- WYNNE, J.C.; G.H. ELKAN; T.J. SHNEEWEIS; T.G. ISLEIB; C.N. PRESTON e C.A. MEISNER, 1978. Increasing nitrogen fixation of the peanut. American Peanut Research and Education Association, Inc. Proceedings. Vol. 10 (1): 22-29.