

INOCULAÇÕES CRUZADAS COM BACTÉRIAS DOS NÓDULOS DE LEGUMINOSAS TROPICAIS (*)

FERDINANDO GALLI

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

A flora microbiana do solo desempenha funções essenciais na transformação da matéria orgânica e na mobilização de elementos minerais, de importância vital para a criação e manutenção de condições que permitam o desenvolvimento das plantas superiores.

Dentre os processos biológicos conduzidos pela microflora do solo, ocupa posição toda especial a fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico, promovida por bactérias do gênero *Rhizobium*, quando associadas com plantas da família das Leguminosas.

Várias espécies de leguminosas, nativas do nosso país ou comuns às regiões tropicais e subtropicais dos vários continentes, apresentam possibilidade de serem utilizadas pela nossa agricultura, e como tal estão sendo experimentadas. Não são conhecidas, entretanto, as suas relações com os diversos grupos de bactérias associadas com outras leguminosas, já conhecidas e cultivadas há muito.

Essa e outras razões nos levaram a encetar o presente trabalho. Tivemos em mente obter, por meio de inoculações cruzadas, alguns esclarecimentos a respeito das relações entre as bactérias dos nódulos dessas leguminosas e as de leguminosas já cultivadas e pertencentes aos sete primeiros grupos de inoculação cruzada citados por FRED, BALDWIN & McCOY (1932).

(*) Parte de uma tese para concurso de Livre Docência. No presente trabalho foram utilizados materiais e instalações doados pelo C. N. Pq. e Fundação Rockefeller.

Uma vez que a maioria das leguminosas comumente utilizadas na agricultura pertence a um desses grupos, cremos ser desnecessário realçar a importância do conhecimento das relações entre as bactérias dos nódulos dessas plantas e as das plantas que utilizamos. Tal importância manifesta-se sob um ponto de vista estritamente científico, quando estudamos e comparamos essas bactérias com bactérias já conhecidas e classificadas, e sob um ponto de vista exclusivamente prático, quando empregamos esses conhecimentos no preparo e utilização de inoculantes para as respectivas leguminosas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

São encontradas na literatura algumas referências a plantas dos mesmos gêneros ou espécies das utilizadas neste trabalho. Assim WALKER (1928) e FRED, BALDWIN & McCOY (1932) colocaram várias espécies de *Vicia* no grupo de inoculação cruzada da ervilha, *Pisum sativum*. Entretanto, CARROL (1934) classificou *V. acutifolia* e *V. floridiana* num grupo à parte, uma vez que as respectivas bactérias não inocularam plantas daquele grupo.

Várias espécies de *Desmodium* foram colocadas por FRED, BALDWIN & McCOY (1932) no grupo de *Vigna sinensis*. Posteriormente, ALLEN & ALLEN (1936) adicionaram ao mesmo grupo várias outras espécies do gênero em questão, inclusive *D. discolor*.

ALLEN & ALLEN (1936), estudando as bactérias dos nódulos de leguminosas existentes no Hawaii, classificaram *Indigofera hirsuta* e *I. sufruticosa* também no grupo de *V. sinensis*.

De acordo com WILSON (1939), *Centrosema virginiana* é passível de ser inoculada por bactérias dos nódulos de *Amorpha fruticosa*. O mesmo autor, porém, não entra em detalhes quanto ao comportamento da primeira com relação às bactérias de outras leguminosas.

Segundo AQUINO & MADAMBA (1940), as bactérias dos nódulos de *Calopogonium mucunoides* provocaram abundante nodulação quando inoculadas em *V. sinensis* e em soja. Entretanto alguns dos seus caracteres fisiológicos mostraram-se diferentes dos de *Rhizobium* de ambas essas plantas.

As bactérias de três espécies de *Tephrosia*, inclusive *T. candida*, foram estudadas por ALLEN & ALLEN (1936) que à vista dos resultados de testes de inoculação cruzada, juntaram-nas ao grupo de *V. sinensis*. Porém, BUSHNELL & SAR-

LES (1937) trabalharam com bactérias de *T. virginiana* e não conseguiram inocular *Vigna* ou outra qualquer leguminosa.

Stylosanthes guyanensis recebeu a atenção de ALLEN & ALLEN (1936), que adicionaram mais essa espécie ao mesmo grupo de *V. sinensis*.

WILSON (1944) refere-se a *Leucaena glauca* como incapaz de ser inoculada por bactérias dos nódulos de leguminosa; pertencentes aos principais grupos de inoculação cruzada.

Como se depreende do exposto acima, nem tôdas as espécies de um mesmo gênero se comportam do mesmo modo com relação aos grupos de inoculação cruzada. Por êsse motivo, e ainda por desejarmos saber do comportamento das bactérias dos nódulos dessas leguminosas sob as nossas condições, incluímos no presente trabalho as bactérias de algumas plantas de gêneros e espécies que receberam anteriormente a atenção de alguns pesquisadores. E, como veremos no capítulo da discussão dos resultados obtidos, êstes nem sempre foram concordantes com os encontrados na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho, para os ensaios de inoculação cruzada, foram isoladas bactérias dos nódulos das leguminosas seguintes: *Calopogonium mucunoides* Desv., *Centrosema pubescens* Bent., *Cratylia floribunda* Bent., *Desmodium adscendens* D. C., *D. discolor* Vog., *Indigofera mucronata*, *I. subulata* Vahl, *I. sumatrana* Gaert., *Leucaena glauca* L., *Stylosanthes guyanensis* Sw., *Teramnus uncinatus* Sw., *Tephrosia candida* D. C. e *Vicia obscura* Vog.

Parte desse material foi proveniente da Seção de Agrostologia da Divisão do Fomento da Produção Animal, do Ministério da Agricultura, parte da Seção de Leguminosas do Instituto Agrônômico de Campinas, e parte foi colhida em terrenos da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em Piracicaba.

Tôdas elas ocorrem em regiões tropicais e subtropicais segundo CORREA (1926, 1931, 1952), DUCKE (1939), HOOKER & JAKSON (1946), TAKAHASHI & RIPPERTON (1949) e OTERO (1952).

Para o isolamento foram escolhidas, sempre que possível, plantas com 30-45 dias, que foram arrancadas do solo ou dos vasos de tal modo que os nódulos não se destacassem das raízes. As plantas foram imediatamente levadas para o laboratório, onde suas raízes foram lavadas com jato de água corrente, para se eliminar o solo aderente aos nódulos. A seguir selecio-

nou-se os nódulos bem desenvolvidos, preferivelmente os localizados junto à raiz principal, que foram destacados e lavados com pincel de cerdas macias. Eles foram imersos em álcool 70%, depois em sublimado corrosivo a um por mil por 2 a 5 minutos, e finalmente lavados três vezes em água esterilizada. A suspensão bacteriana foi conseguida pelo esmagamento de 5-6 nódulos em cerca de 1 cm³ de água esterilizada. Procedeu-se em seguida à diluição em caixas de Petri, segundo a técnica usual. Para os isolamentos usou-se sempre o meio de cultura n. 79 de FRED & WAKSMAN (1928).

As caixas foram incubadas em posição invertida, em estufa a 28°C. Tão logo apareceram as colônias na superfície do agar, elas foram examinadas. Escolhidas as colônias, fez-se exames microscópicos em esfregaços coloridos com fucsina fenica da de Ziehl e com nigrosina. As colônias foram a seguir repicadas em meio líquido de THORNTON (1953), constituído de 10 g de manitol, 0,5 g de K₂HPO₄, 0,2 g de MgSO₄.7H₂O, 0,1 g de NaCl, 0,1 g de CaSO₄ e 0,5 g de extrato de levedura por litro de água destilada, ao qual se juntou ainda 5 cm³ de solução de azul de bromo timol a 0,5%. Comprovada a pureza das colônias isoladas, após uma semana de incubação, elas foram transferidas para tubos com meio n. 79 e incubadas por 15-30 dias. Em seguida foram mantidas em refrigerador como culturas de estoque.

Nos ensaios de inoculação cruzada, cada uma das culturas foi inoculada em leguminosas pertencentes aos sete primeiros grupos de inoculação cruzada citados por FRED, BALDWIN & McCOY (1932) (soja, alfafa, trevo, tremoço, feijão, ervilha e *Vigna sinensis*), bem como nas leguminosas das quais foram isoladas as demais culturas de *Rhizobium* envolvidas no presente trabalho.

Em cada ensaio procedeu-se à inoculação de uma determinada leguminosa com tôdas as culturas de *Rhizobium*, em número de 30.

Foram utilizados vasos de vidro de 800 cm³ de capacidade. Cada vaso recebeu meio litro de areia lavada e 150 cm³ de solução de HOAGLAND & ARNON (1950), à qual se juntou 1 cm³ de solução suplementar de elementos menores, e 1 cm³ de FeSO₄ a 0,5%, por litro. Essa quantidade de solução correspondia a cerca de 50% da capacidade de retenção de água pela areia. Os vasos foram a seguir cobertos com papel grosso e esterilizados em autoclave a 120°C durante três horas.

As sementes foram desinfetadas em sublimado corrosivo a um por mil durante cinco minutos, e depois em solução diluída de hipoclorito de cálcio comercial (uma parte de hipoclorito de cálcio comercial para 10 partes de água).

clorito comercial em 10 de água) também por cinco minutos. Foram a seguir lavadas três vezes com água esterilizada e postas a secar em estufa a 40°C. Sementes de *Desmodium*, *Calopogonium*, *Cratylia* e *Leucaena* foram tratadas em ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos antes da desinfecção com sublimado corrosivo.

As sementes foram semeadas diretamente nos vasos em quantidade variável de 5 a 20 sementes, de acôrdo com o tamanho das mesmas, com exceção de *Cratylia floribunda*, da qual se dispunha de pequena quantidade, apenas suficiente para três sementes por vaso.

Cada vaso foi inoculado com 3 a 5 cm³ de cultura em meio líquido de Thornton, de 5 a 10 dias de idade, aplicada diretamente sôbre as sementes. Cada inoculação foi feita em duplicata. Em cada ensaio, 20% dos vasos foram deixados sem inoculação, como contrôle. Os vasos foram a seguir levados para casa de vegetação. Periódicamente, adicionou-se água esterilizada aos mesmos. A intervalos de 15 dias, êles receberam uma pequena porção de solução nutritiva, também previamente esterilizada.

Os vasos permaneceram na casa de vegetação por 45-60 dias, quando então foram retiradas as plantas, cujas raízes foram lavadas e examinadas para verificação da presença ou ausência de nódulos. Aqueles ensaios nos quais as plantas dos vasos controles apresentaram nódulos, foram abandonados.

RESULTADOS

Os nódulos das várias leguminosas apresentaram caracteres morfológicos diferentes, como mostra a fig. 1. Nódulos de *Calopogonium mucunoides*, *Centrosema pubescens*, *Cratylia floribunda*, *Desmodium* spp., *Stylosanthes guyanensis* e *Tetramnus uncinatus* eram esféricos, de diâmetro variável até três milímetros, isolados ou dispostos em grupos, localizados em tôrno da raiz principal, quando provenientes de sementes inoculadas. Nódulos de *C. mucunoides*, quando bem desenvolvidos, apresentaram-se levemente achatados.

Vicia obscura apresentou nódulos alongados, quase cilíndricos, medindo cêrca de 1 x 4 mm, geralmente simples, às vezes compostos, apresentando-se isolados ou dispostos em pequenos agrupamentos.

As espécies de *Indigofera* exibiram nódulos esféricos quando novos, mas adquirindo forma decididamente elipsoidal

quando completamente desenvolvidos. Apresentaram-se simples, isolados, medindo até 4-5 mm de comprimento.

Leucaena glauca e *Tephrosia candida* apresentaram nódulos compostos, grandes, até 1cm de comprimento, constituídos de vários ramos arredondados dispostos numa mesma base.

Os resultados dos testes de inoculação cruzada levados a efeito em casa de vegetação figuram na Tabela I. Os dados se referem a um número mínimo de 6 plantas para *Cratylia floribunda* e de 10 ou mais plantas para as demais leguminosas.

O número médio de nódulos por plantas cultivadas em vasos, nos ensaios de inoculação cruzada, variou de um mínimo de 0,3 em 14 plantas de *Tephrosia candida* inoculadas com cultura de *Centrosema pubescens*, até um máximo de 28, em 17 plantas de *C. pubescens* inoculadas com cultura de *Teramnus uncinatus*. No geral, porém, esse número situou-se entre 5 e 10 plantas para a grande maioria dos casos. O exame dos dados referentes ao número médio de nódulos não mostrou relação nenhuma entre esse número e as leguminosas ou as culturas de bactérias envolvidas nos ensaios de inoculação. Entretanto, o fato dos vários testes terem sido feitos em épocas diferentes, impede que sejam tiradas quaisquer conclusões definitivas a esse respeito. Pelo mesmo motivo não é feita a apresentação desses mesmos dados no presente trabalho.

DISCUSSÃO

Os primeiros investigadores consideravam as bactérias dos nódulos como pertencentes a uma única espécie: *Bacillus radicicola*. Entretanto, logo notou-se que elas compreendiam vários grupos, com algumas características diferentes, entre as quais se sobressaía a capacidade de provocar a formação de nódulos em determinados grupos de leguminosas. Em outras palavras, as bactérias mostravam ser específicas para certas plantas. Daí resultou a divisão das plantas nos chamados grupos de inoculação cruzada que, segundo FRED, BALDWIN & MCCOY (1932), são definidos como grupos de plantas dentro dos quais as bactérias são reciprocamente inoculáveis. Esses mesmos autores, comparando os resultados encontrados na literatura, referentes à relação entre planta e bactéria, classificaram as leguminosas em 16 grupos de inoculação cruzada. Posteriormente, ALLEN & BALDWIN (1954), atualizando esse agrupamento, com os dados existentes até essa data, elevaram esse número para 24.

TABELA I — Resultados dos testes de ino

Plantas	Indigofera sumatrana	Indigofera mucronata	Indigofera subulata	Desmodium adcondens	Desmodium discolor	Vicia obscura	Centrosema pubescens	Calopogonium mucunoides	Cratylia floribunda	Teramnus uncinatus
Bactéria dos nódulos de :										
I. sumatrana *	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
I. mucronata	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
I. subulata	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
D. adcondens	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
D. discolor *	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
V. obscura *	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
C. pubescens *	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
C. mucunoides **	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
C. floribunda	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
T. uncinatus **	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
S. guyanensis	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
T. candida *	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
L. glauca *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhizobium meliloti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R. trifolii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R. leguminosarum	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
R. lupini	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R. phaseoli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R. japonicum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vigna sinensis	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

(1) + = nódulos presentes; - = nódulos ausentes; (*) = 2 linhage
bactérias dos nódulos.

A divisão das leguminosas em grupos de inoculação cruzada está intimamente relacionada com a utilização prática das vantagens provenientes da simbiose entre bactéria e planta, através da inoculação de sementes. Dentro de um mesmo grupo, culturas de *Rhizobium* provenientes de uma determinada planta poderão ser utilizadas na inoculação de sementes das demais.

Do total de 24 grupos de inoculação cruzada acima referidos, somente seis correspondem a outras tantas espécies de *Rhizobium*, apresentadas por BREED e outros (1948). As bactérias responsáveis pela inoculação dos grupos restantes ainda não são reconhecidas como espécies distintas principalmente porque seus caracteres morfológicos e fisiológicos, bem como os próprios grupos de plantas correspondentes, não estão suficientemente esclarecidos. Isso é devido, em parte, à falta de uma separação distinta, clara, entre os grupos de inoculação cruzada, bem como à relativamente frequente ocorrência de exceções no tocante à especificidade da bactéria.

LEONARD (1923), CARROL (1934) e ALLEN & ALLEN (1936), além de outros, relatam a ocorrência de culturas de bactérias dos nódulos capazes de provocar a nodulação em plantas pertencentes a grupos de inoculação cruzada diferentes, principalmente *Vigna sinensis* e soja. O mais entusiasta adversário dos grupos de inoculação cruzada parece ter sido WILSON (1939) que mostrou que plantas como *Amorpha fruticosa*, *Chorizema ilicifolium* e *Phaseolus coccineus* podem se associar com a quase totalidade das espécies de *Rhizobium* que entrarem em contacto com suas raízes. Considerou o estabelecimento dos grupos de inoculação cruzada mais como um obstáculo do que um auxílio no estudo das relações entre ambos os simbioses. Ainda WILSON (1944), estudando as bactérias dos nódulos de inúmeras plantas, concluiu que a impossibilidade de se estabelecer limites bem definidos para as relações entre uma dada bactéria e um certo grupo de plantas indica que o conceito de inoculação cruzada é inoperante e que, se bem possa ser utilizado para finalidades práticas, deve ser abandonado sob um ponto de vista estritamente científico.

Entretanto, ALLEN & ALLEN (1947) julgam que a relação entre bactérias e plantas, apesar de aparentar ter um valor apenas relativo, é o único fator atualmente disponível para a identificação das bactérias dos nódulos. JOHNSON & ALLEN (1951) consideram a capacidade de provocar a formação de nódulos nas raízes de certas leguminosas como um, e talvez o mais importante, meio de diferenciação entre diver-

sas espécies de *Rhizobium*. E recentemente, ALLEN & BALDWIN (1954) dizem que a falta de um limite bem definido entre certos grupos de plantas não deve provocar o abandono do conceito de grupos de inoculação cruzada, especialmente na ausência de uma melhor solução para o caso.

Os resultados constantes na Tabela I permitem-nos dizer que, se bem que seja relatada com relativa frequência na literatura, a ocorrência de exceções à especificidade de culturas de bactérias dos nódulos não é tão comum, de vez que, em ensaios que envolveram 30 linhagens de bactérias dos nódulos e 20 leguminosas, tais exceções não se manifestaram.

Os dados mostram que 18 culturas de bactérias dos nódulos de 10 espécies de leguminosas provocaram a formação de nódulos em *Vigna sinensis*. Reciprocamente, bactérias dessa leguminosa produziram nodulação em todas as plantas em questão. Além disso, qualquer uma dessas bactérias foi capaz de se associar com as demais leguminosas, se considerarmos a presença de nódulos em suas raízes como expressão dessa associação.

No geral, leguminosas de um mesmo gênero pertencem a um mesmo grupo de inoculação cruzada. Isso mostrou ser verdadeiro com *Indigofera mucronata*, *I. subulata* e *I. sumatrana*, que se comportaram como outras espécies do mesmo gênero, já incluídas no grupo de *V. sinensis*. O mesmo é verdade com relação a *Desmodium adscendens*. A Tabela I mostra que esta espécie, juntamente com *D. discolor*, fazem parte do grupo em questão.

Não encontramos referências ao comportamento das bactérias dos nódulos de *Centrosema pubescens*. Os dados nos permitem colocar também esta leguminosa no mesmo grupo de *V. sinensis*. Segundo WILSON (1939), *C. virginiana* é passível de ser inoculada por bactérias dos nódulos de *Amorpha fruticosa*. O mesmo autor não se refere às relações entre bactérias dos nódulos daquelas plantas e de outras leguminosas. Se ambas as espécies de *Centrosema* se comportarem semelhantemente com relação às bactérias dos nódulos, ambas pertencerão ao mesmo grupo, neste caso ao atrás citado grupo de *V. sinensis*.

WILSON (1944) não conseguiu provocar nodulação em *Leucaena glauca*, inoculando-a com bactérias dos nódulos de plantas pertencentes aos principais grupos de inoculação cruzada. Mostrou também que bactérias de *L. glauca* inocularam várias espécies que apresentavam caracteres de promiscuidade. Isso, entretanto, não invalida a possibilidade de que esta planta constitua um grupo à parte, do qual estão excluídas tô-

das as plantas dos grupos representados no presente trabalho, como nos mostram os dados constantes da Tabela I.

Alguns gêneros de leguminosas possuem representantes em dois diferentes grupos de inoculação cruzada. Isso acontece, por exemplo, com *Phaseolus* spp. Já na classificação de FRED, BALDWIN & Mc COY (1932), algumas espécies estão incluídas no grupo do feijão comum, *Phaseolus vulgaris*, ao passo que outras se colocam no grupo de *V. sinensis*. Fato semelhante acontece com o gênero *Vicia*. Conforme expusemos na parte referente à revisão bibliográfica, a maior parte das espécies desse gênero pertence ao grupo da ervilha, *Pisum sativum*, ao passo que duas delas, *V. acutifolia* e *V. floridana*, foram colocadas num pequeno grupo à parte, por CARROL (1934). *V. obscura*, de acordo com os resultados dos testes de inoculação cruzada que fizemos, mostra pertencer ao primeiro deles.

Os dados relativos às várias linhagens de bactérias dos nódulos de *Calopogonium mucunoides* referentes aos ensaios de inoculação cruzada, diferem dos apresentados por AQUINO & MADAMBA (1940). Segundo estes, em testes de inoculação cruzada, essa bactéria produziu abundante nodulação tanto em soja como em *V. sinensis*.

Os resultados concernentes a *Tephrosia candida* e respectiva bactéria simbiote, corroboram os resultados obtidos por ALLEN & ALLEN (1936). Assim, a julgar pelo trabalho de BUSHNELL & SARLES (1937), também esse gênero possui plantas em grupos diferentes, de vez que *T. virginiana* e sua bactéria dos nódulos, tiveram comportamento diferente das demais espécies do mesmo gênero.

Também *Cratylia floribunda* e sua bactéria dos nódulos tiveram comportamento singular. Aquela não foi inoculada com nenhuma das culturas utilizadas e esta não entrou em associação com nenhuma das 19 leguminosas em causa. Isso nos permite julgar que essa planta faça parte de um grupo do qual estão excluídas leguminosas dos grupos representados no presente trabalho.

Os dados constantes na Tabela I permitem-nos finalizar dizendo que o comportamento das bactérias dos nódulos das leguminosas envolvidas no presente trabalho, em ensaios de inoculação cruzada, mostra que elas podem ser separadas em grupos correspondentes a outros tantos grupos de inoculação cruzada. Estes grupos são os seguintes :

1 — grupo de *Vigna sinensis* : *Calopogonium mucunoides*, *Centrosema pubescens*, *Desmodium adscendens*, *D. discolor*,

Indigofera mucronata, *I. subulata*, *I. sumatrana*, *Stylosanthes guyanensis*, *Tephrosia candida* e *Teramnus uncinatus*.

- 2 — grupo da ervilha, *Pisum sativum* : *Vicia obscura*.
- 3 — grupo de *Leucaena glauca*.
- 4 — grupo de *Cratylia floribunda*.

RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho são relatados alguns ensaios de inoculação cruzada com bactérias dos nódulos de algumas leguminosas indígenas ou exóticas, comuns a regiões tropicais, e que apresentam interesse para a agricultura brasileira.

O Autor isolou 23 culturas de bactérias dos nódulos de 13 espécies de leguminosas. Foram feitos ensaios de inoculação cruzada entre essas bactérias, suas respectivas plantas hospedeiras, e bactérias e plantas pertencentes aos principais grupos de inoculação cruzada : alfafa, trevo, ervilha, feijão, tremôço, soja e *Vigna sinensis*.

As seguintes conclusões podem ser tiradas do presente trabalho : a) os nódulos apresentam variações morfológicas características para determinadas leguminosas; b) os ensaios de inoculação cruzada mostram que *Calopogonium mucunoides*, *Centrosema pubescens*, *Desmodium adscendens*, *D. discolor*, *Indigofera mucronata*, *I. subulata*, *I. sumatrana*, *Tephrosia candida* e *Teramnus uncinatus* pertencem ao grupo de inoculação cruzada de *Vigna sinensis*; c) o comportamento de *Vicia obscura* e sua bactéria dos nódulos em ensaios de inoculação cruzada indica que essa planta pertence ao grupo da ervilha (*Pisum sativum*); d) *Leucaena glauca* e *Cratylia floribunda* formam grupos de inoculação cruzada aos quais não pertencem nenhuma das plantas representadas no presente trabalho.

SUMMARY

Cross-inoculation studies were conducted at Piracicaba, S. P., Brazil, with root nodule bacteria of some tropical legumes, wild or introduced in Brazil.

23 strains of root nodule bacteria were isolated from 13 species of legumes. Cross-inoculation test were made among these bacteria, their host plants, and bacteria and plants from the seven major cross, inoculation groups: alfalfa, clover, pea, common bean, lupinus, soy-bean and cowpea.

The following conclusions can be drawn: a) some of the legumes showed characteristic variations on morphology of the nodules; b) cross-inoculation tests showed that *Calopogonium mucunoides*, *Centrosema pubescens*, *Desmodium adscendens*, *D. discolor*, *Indigofera mucronata*, *I. subulata*, *I. sumatrana*, *Tephrosia candida* and *Teramnus uncinatus* belong to the cowpea cross-inoculation group (*Vigna sinensis*); c) *Vicia obscura* showed to belong to the pea group, *Pisum sativum*; d) *Leucaena glauca* and *Cratylia floribunda* belong to different cross-inoculation groups.

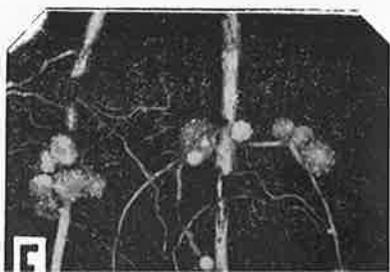
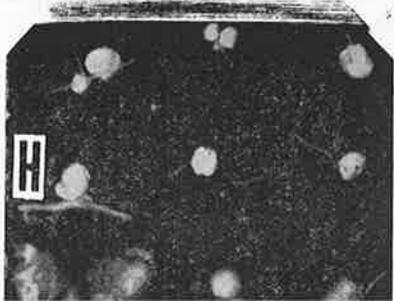
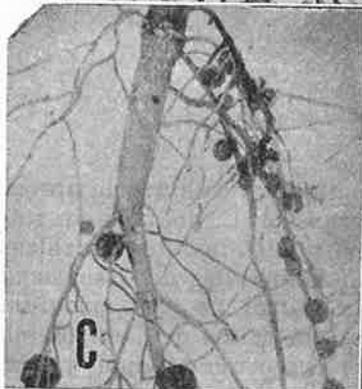
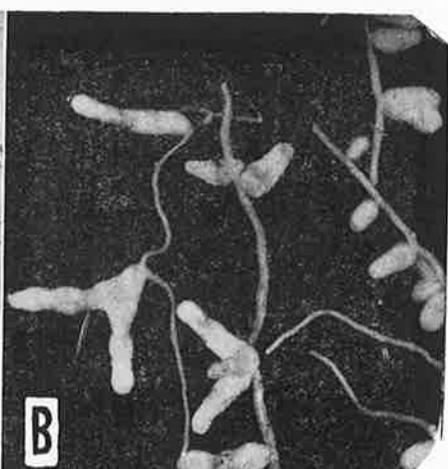
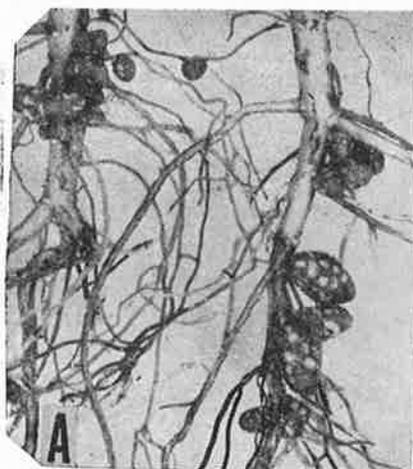
AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao Dr. JORGE RAMOS DE OTERO, chefe da Seção de Agrostologia do Departamento de Fomento da Produção Animal do Ministério da Agricultura, e ao Dr. NEME ABDO NEME, da Seção de Leguminosas do Instituto Agrônomico de Campinas, pelo fornecimento de parte do material utilizado no presente trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, O. N., 1951 — *Experiments in soil bacteriology*, Burgess Publishing Co., Minneapolis. 127 p.
- ALLEN, O. N. & ETHEL K. ALLEN, 1936 — Root nodule bacteria of some tropical leguminous plants: I. Cross-inoculation studies with *Vigna sinensis* L. *Soil Sci.* 42: 61-78.
- ALLEN, O. N. & ETHEL K. ALLEN, 1947 — A survey of nodulation among leguminous plants. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 12: 203-208.
- ALLEN, O. N. & I. L. BALDWIN, 1954 — Rhizobia-legume relationship *Soil Sci.* 78: 415-427.
- AQUINO, D. I. & A. L. MADAMBA, 1940 — A study of root nodule bacteria of certain leguminous plants. *Philippine Agric.* 28: 120-132.
- BREED, R. C., E. G. D. MURRAY & A. P. HITCHENS, 1948 — *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Baillière, Tindall & Cox. Londres. 6a. ed., 1529 p.
- BUSHNELL, O. A., & W. B. SARLES, 1937 — Studies on the root nodule bacteria of wild leguminous plants in Wisconsin. *Soil Sci.* 44: 409-423.
- CARROL, W. R., 1934 — A study of Rhizobium species in relation to nodule formation on the roots of Florida Legumes: I. *Soil Sci.* 37: 117-134.

- CORREIA, M. PIO, 1926 — *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*, 1.o vol., Min. Agric., 747 p.
- CORREIA, M. PIO, 1931 — *Dicionário das plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas*, 2.o vol., Min. Agric., 707 p.
- CORREIA, M. PIO, 1952 — *Dicionário das plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas*, 3.o vol., Min. Agric., 646 p.
- DUCKE, A., 1939 — *As leguminosas da Amazônia Brasileira*, Ser. Florestal Min. Agric., 170 p.
- FRED, E. B., I. L. BALDWIN & ELIZABETH McCOY, 1932 — *Root nodule bacteria and leguminous plants*, University of Wisconsin, Madison, Wisc. 343 p.
- FRED, E. & S. A. WAKSMAN, 1928 — *Laboratory manual of general microbiology*, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 145 p.
- HOAGLAND, D. R. & D. I. ARNON, 1950 — The water-culture method for growing plants without soil. Univ. Calif. Agric. Exp. Sta. Circ. 347 (revis.), 32 p.
- HOOKE, J. D., & B. D. JAKSON, 1946 — *Index Kewensis*. University Press, Oxford, 2 vol., (reimp.).
- LEONARD, L. T., 1923 — Nodule production kinship between the soybean and the cowpea. *Soil Sci.* 15: 277-283.
- OTERO, J. R. de, 1952 — Informações sobre algumas plantas forrageiras. Serv. Inf. Agric. Min. Agric., Série Didática 11: 313 p.
- TAKAHASHI, M. & J. C. RIPPERTON, 1949 — Koa Haole (*Leucaena glauca*). Univ. Hawaii Agric. Exp. Sta., Bul. 100: 56 p.
- THORNTON, G. D., 1953 — *Soil microbiology* (Mimeografado), 21 p.
- WALKER, R. H., 1928 — Physiological studies in Rhizobium. Iowa Agric. Col. Exp. Sta., Res. Bul. 113: 371-406.
- WILSON, J. K., 1939 — Symbiotic promiscuity in the Leguminose. *Trans. III Comm. Int. Soc. Soil Sci.*, vol. A: 49-63
- WILSON, J. K., 1944 — Over five hundred reason for abandoning the cross-inoculation groups of the legumes. *Soil Sci.* 58: 61-69.



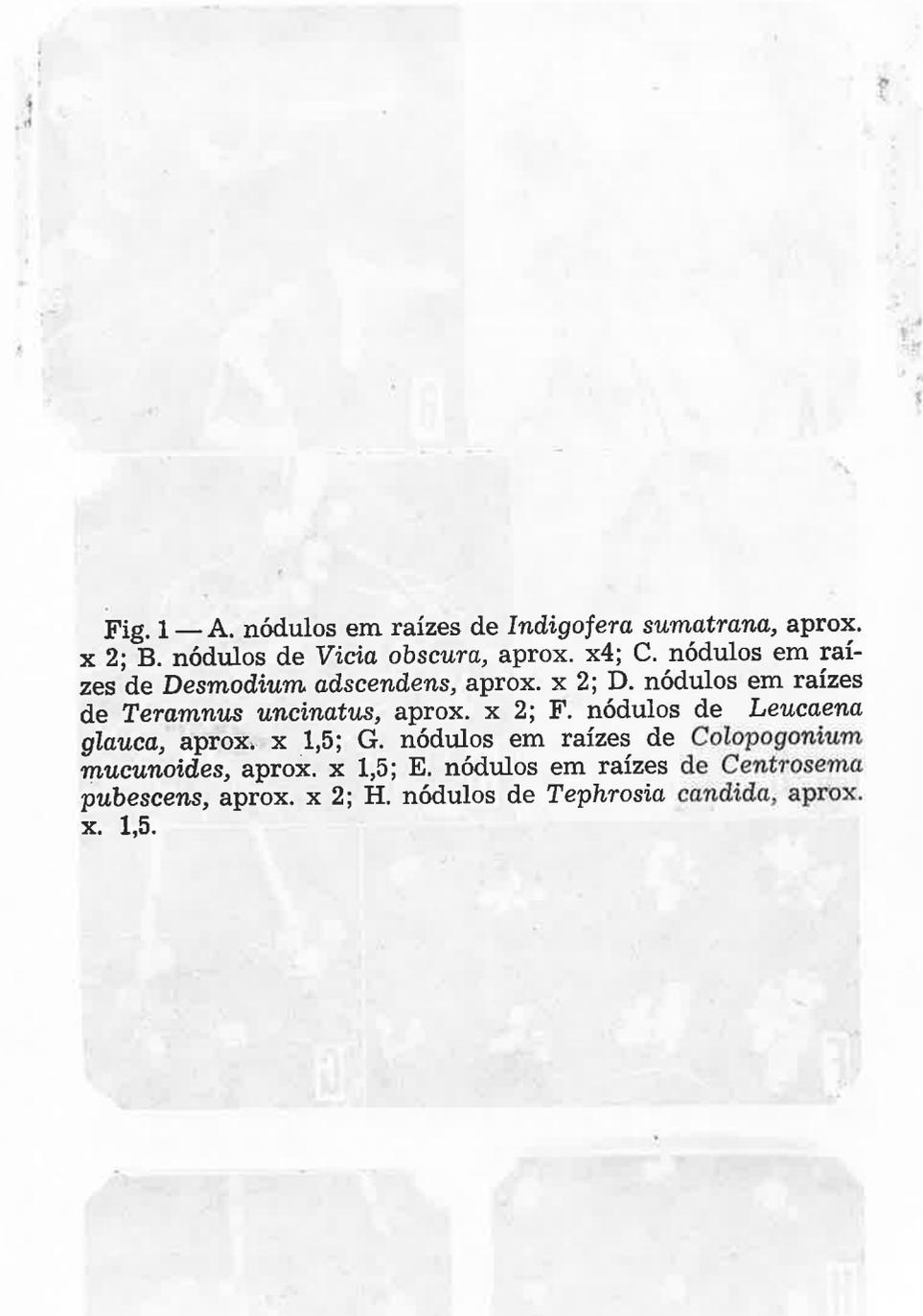


Fig. 1 — A. nódulos em raízes de *Indigofera sumatrana*, aprox. x 2; B. nódulos de *Vicia obscura*, aprox. x4; C. nódulos em raízes de *Desmodium adscendens*, aprox. x 2; D. nódulos em raízes de *Teramnus uncinatus*, aprox. x 2; F. nódulos de *Leucaena glauca*, aprox. x 1,5; G. nódulos em raízes de *Colopogonium mucunoides*, aprox. x 1,5; E. nódulos em raízes de *Centrosema pubescens*, aprox. x 2; H. nódulos de *Tephrosia candida*, aprox. x. 1,5.