

BRAGANTIA

Revista Científica do Instituto Agrônomico do Estado de São Paulo

Vol. 35

Campinas, janeiro de 1976

N.º 1

ESPECIFICIDADE HOSPEDEIRA E PRÉ-SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *RHIZOBIUM JAPONICUM* PARA AS VARIEDADES SANTA-ROSA, VIÇOJA E IAC-2 DE SOJA (1)

ELI SIDNEY LOPES (2), ANTÔNIO ROBERTO GIARDINI, *Seção de Microbiologia do Solo*, ROMEU A. S. KIHHL (2), *Seção de Leguminosas* e TOSHIO IGUE (2), *Seção de Técnica Experimental e Cálculo, Instituto Agrônomico*

SINOPSE

Um experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos de Leonard com solução nutritiva sem nitrogênio, em condições assépticas, com os objetivos de pré-selecionar treze estirpes de *Rhizobium japonicum* e verificar o grau e especificidade das variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2 (*Glycine max* (L.) Merrill.).

Pela observação do nitrogênio total fixado aos 58 dias, verificou-se que as estirpes SMS-64 (= 513 Re, RS), SMS-65 (= 519 Re, RS), SMS-68 (= 532c, RS = PR-G3, IBPT, PR) SMS-309 e SMS-310, são igualmente eficientes nas três variedades. Houve correlação entre o peso seco das plantas e o nitrogênio fixado, porém a diferenciação das estirpes pelo peso seco das plantas perdeu em sensibilidade. A nodulação não foi critério satisfatório para separar estirpes eficientes.

Para o conjunto de estirpes eficientes em pelo menos uma das variedades estudadas, verificou-se que viçoja apresentou menor especificidade, estabelecendo simbiose eficaz com nove das estirpes testadas.

1 — INTRODUÇÃO

Entre as leguminosas cultivadas no Estado de São Paulo, a soja (*Glycine max* (L.) Merrill.) é praticamente a única para a qual existe uma consciência da necessidade de inoculação. Os inoculantes empregados são,

(1) Trabalho realizado com ajuda financeira da FAPESP — Proj. 72/1464. Apresentado na VII Reunião Latino-americana sobre *Rhizobium*, realizada em Resistência, Argentina, em setembro de 1974. Recebido para publicação em 5 de janeiro de 1975.

(2) Com bolsa de suplementação do C.N.Pq.

na maioria, procedentes de outros estados, não existindo informações precisas sobre seu comportamento nas variedades aqui cultivadas.

Vários são os fatores que podem influenciar a fixação de nitrogênio pelas leguminosas. Deles, a eficiência inerente à associação de **Rhizobium** — leguminosa considerada, é sempre o primeiro a ser averiguado. Num mesmo grupo de inoculação cruzada, para uma mesma estirpe de **Rhizobium**, a associação pode mostrar vários graus de eficácia, dependendo da espécie de leguminosa. Para uma mesma espécie a eficiência pode depender da variedade (2). Döbereiner e outros (4) observaram, em condições de campo, grande variação de nodulação em vinte e cinco variedades de soja inoculadas com uma mesma estirpe. Observaram, também, uma interação variedade x local.

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de verificar a eficiência de treze estirpes de **Rhizobium japonicum** em três cultivares de soja.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação, no Centro Experimental de Campinas, do Instituto Agrônomo, utilizando-se vasos de Leonard, com solução nutritiva sem nitrogênio, em condições assépticas, segundo técnica descrita por Norris (6).

As treze estirpes de **Rhizobium japonicum**, testadas nas três variedades de soja, têm as seguintes procedências:

- SMS-45 — Introduzida em 1954 (?) de Beltsville, E.U.A., n.º 3I1b11 (a)
- SMS-64 — Introduzida em 1964 da Secret. Agric. RS, n.º 513 Re
- SMS-65 — Introduzida em 1964 da Secret. Agric. RS, n.º 519 Re
- SMS-68 — Introduzida em 1964 da Secret. Agric. RS, n.º 532c (=PR-G3)
- SMS-166 — Introduzida em 1965 do IPEACS km 47, n.º AP2a
- SMS-299 — Local (Isolamento de plantas inoculadas, 1970)
- SMS-309 — Local (Isolamento de plantas inoculadas, 1970)
- SMS-310 — Local (Isolamento de plantas inoculadas, 1970)
- SMS-314 — Introduzida em 1970 da Secret. Agric. RS, n.º 587
- SMS-331 — Introduzida em 1972 do Japão, n.º 965, via APEACS, km 47, RJ
- SMS-332 — Introduzida em 1972 do Japão, n.º 966, via IPEACS, km 47, RJ
- SMS-333 — Introduzida em 1972 da Austrália, n.º CB 1809, via IPEACS, km 47, RJ (=PR-G10)
- SMS-335 — Introduzida em 1972 do Japão, n.º 846, via IPEACS, km 47, RJ

Todas as estirpes foram testadas para pureza antes do início do experimento, sendo a SMS-68 e a SMS-333 incluídas como padrões.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com cinco repetições. Foram feitos dois tratamentos extras sem inoculação, sendo que a um deles adicionou-se nitrogênio. Esses tratamentos foram incluídos para controle da solução nutritiva e de contaminações.

Sementes das variedades de soja santa-rosa, viçosa e IAC-2 foram esterilizadas com solução acidificada de $HgCl_2$ 1:1000, durante dez minutos e lavadas seis vezes em água esterilizada.

O plantio foi feito a 6/6/72, com oito sementes por vaso. No desbaste, seis dias após o plantio, deixaram-se três plantas. Inoculou-se no mesmo dia do desbaste, usando 2 ml por vaso, do meio de cultura com bom crescimento das estirpes em teste. As adições de nitrogênio nos tratamentos que tinham esse nutriente, bem como irrigações com água fervida, foram efetuadas sempre que julgadas necessárias.

Para colheita, executada no início da frutificação, aos 58 dias após o plantio, empregaram-se jatos de água nos vasos, removendo-se o sistema radicular. Nessa ocasião foram obtidos dados de peso seco das plantas, número e peso seco de nódulos. Posteriormente, determinou-se o nitrogênio total. A análise de nitrogênio foi feita pelo método semimicro Kjeldahl, usando-se óxido de mercúrio como catalizador. O nitrogênio fixado foi calculado subtraindo-se o teor de N total do controle extra sem nitrogênio, do teor total das plantas.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora a determinação do nitrogênio total fixado seja o critério normalmente recomendado para a seleção de estirpes eficientes, existem sugestões para determinação do número e peso seco de nódulos (4, 5) e peso seco das plantas (6) como indicadores de eficiência. Essas determinações, efetuadas no presente experimento com finalidade de comparar a sua sensibilidade como indicativo nas três variedades, serão abordadas separadamente.

É interessante observar que os sintomas típicos de deficiência de nitrogênio, no tratamento-extra, sem adição daquele nutriente, foram notados aos vinte e sete dias após o plantio. O início da fixação de nitrogênio, para várias estirpes, foi observado aos vinte e três dias, após a inoculação. As plantas dos vasos inoculados com as estirpes SMS-166 (nas três variedades), SMS-299, SMS-333 e SMS-335 (na variedade IAC-2) estavam ainda amarelas aos trinta e um dias após a inoculação. Na mesma oportunidade as plantas (das três variedades) inoculadas com as estirpes SMS-45 e SMS-314 iniciavam a fixação de nitrogênio.

Aos quarenta e um dias após a inoculação, as plantas dos vasos inoculados com a estirpe SMS-314 apresentavam-se com sintomas típicos de clorose na variedade IAC-2, induzida por *Rhizobium*, ou seja, amarelamento internerval das folhas mais novas. Esses sintomas desapareceram cerca de sete dias após terem sido notados. Apesar de que a clorose induzida parece não ter reflexos na produção, essa estirpe não deve ser recomendada para a manufatura de inoculantes.

a) Nitrogênio total fixado

Os valores de nitrogênio total fixado, indicados no quadro 1, foram obtidos subtraindo-se do nitrogênio total observado em cada estirpe, o nitrogênio total do tratamento-extra sem adição de nitrogênio ou inoculante.

QUADRO 1. — Médias de nitrogênio fixado, de três plantas, observadas em ensaios em vasos de Leonard, realizados para verificar a especificidade hospedeira e selecionar estirpes de *Rhizobium* para as variedades de soja santa-rosa, viçoja e IAC-2 (Glycine max)

ESTIRPE	VARIEDADE		
	SANTA-ROSA	VIÇOJA	IAC-2
	mg	mg	mg
SMS-45	85,38 bcd	76,57 bcd	62,42 cde
64	109,81 abc	107,03 abs	116,12 ab
65	147,04 a	124,73 a	105,26 abc
68	111,51 abc	118,61 ab	102,12 abc
166	46,81 d	37,75 d	43,86 de
299	121,79 ab	103,25 abc	75,98 bcd
309	139,59 a	126,77 a	114,88 ab
310	108,13 abc	111,71 ab	131,24 a
314	77,49 bcd	62,59 cd	91,00 abc
331	88,89 bcd	106,31 abc	111,98 ab
332	73,35 cd	36,81 d	23,94 e
333	103,29 abc	107,35 abc	22,94 e
335	87,71 bcd	140,27 a	82,50 bcd
CONTROLE (1)	20,93	37,27	33,12
CONTROLE + N (1)	61,57	55,33	68,98

(1) Tratamento extra para controle da contaminação e da solução nutritiva.

CV% = 23,6

DMS — 46,86

Foram consideradas eficientes, de forma arbitrária, as estirpes que apresentaram valores absolutos de nitrogênio fixado estatisticamente semelhante aos valores da estirpe que apresentou maior valor absoluto, considerando-se as variedades individualmente. Por esse critério, cinco estirpes (SMS-64, SMS-65, SMS-68, SMS-309 e SMS-310) foram igualmente eficientes para as três variedades. SMS-299 e SMS-333 foram eficientes nas variedades santa-rosa e viçoja, sendo ineficientes na IAC-2. SMS-331 foi eficiente nas variedades viçoja e IAC-2. SMS-314 e SMS-335 foram eficientes apenas nas variedades IAC-2 e viçoja, respectivamente. SMS-45, SMS-166 e SMS-332 não foram eficientes em nenhuma das variedades testadas.

Em trabalho anteriormente conduzido com a linhagem F58-6421 (do cruzamento D49-772 x improved pelican), as estirpes SMS-64, SMS-65 e SMS-68 foram também eficientes⁽³⁾. A estirpe SMS-166 também mostrou comportamento semelhante (ineficiência) em ambos os experimentos. Entretanto, a estirpe SMS-45, ineficiente nas variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2, mostrou-se eficiente na linhagem F-58-6421.

Esses resultados demonstraram variação de eficiência das estirpes, dependendo da variedade, bem como certa especificidade hospedeira nas três variedades de soja. Para o grupo de dez estirpes eficientes em pelo menos uma das variedades, observa-se que a viçoja foi a de menor especificidade, apresentando uma simbiose eficiente com nove estirpes. Santa-rosa e IAC-2 apresentaram o mesmo grau de especificidade, apresentando associação eficiente com sete estirpes.

No quadro 2 estão apresentados os valores médios de nitrogênio fixado por 100 mg de nódulos, peso seco de nódulos e nitrogênio fixado por planta por dia, para o conjunto de estirpes eficientes em cada variedade. Verifica-se que a santa-rosa, que apresentou maior quantidade de nitrogênio fixado, foi a de menor fixação por unidade de nódulos. Essa variedade apresentou melhor nodulação que as demais e, conseqüentemente, maior incorporação diária de nitrogênio. Nos estudos de correlação, mencionados adiante, verificou-se também um comportamento diferente da variedade santa-rosa em relação a viçoja e IAC-2.

QUADRO 2. — Média de nitrogênio fixado por 100 mg de nódulos, nitrogênio fixado por planta, por dia, peso seco de nódulos e matéria seca por unidade de nitrogênio fixado, observados nas variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2 de soja, em vasos de Leonard (*)

VARIETADE	N fixado/ 100 mg de nódulos	N fixado/ planta/ dia	Peso seco dos nódulos/ planta	Matéria se- ca/unidade de N fixado
	mg	mg	mg	mg
Santa-Rosa	26,0	1,21	461,1	11,84
Viçoja	28,8	1,17	407,6	14,19
IAC-2	31,2	1,11	352,1	14,37

* Consideradas apenas as estirpes eficientes em cada variedade.

b) Peso seco das plantas

No quadro 3 estão apresentadas produções médias de matéria seca para três variedades. Usando o mesmo critério para a separação das estirpes eficientes, indicado no caso do nitrogênio fixado, verifica-se que a

(*) LOPES, E. S. & KIIHL, R. A. S. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* para as linhagens F58-6421 de soja (*Glycine max* (L.) Merr.). (Não publicado)

sensibilidade de separação de estirpes é diminuída. Nesse caso seriam incluídas como eficientes as estirpes SMS-45 (nas três variedades), SMS-335 (na santa-rosa e IAC-2), SMS-314 e SMS-331 (na santa-rosa) e SMS-299 (na IAC-2). As estirpes SMS-166 e SMS-332 continuariam igualmente ineficientes nas três variedades.

QUADRO 3. — Médias do peso seco (raiz + parte aérea) de três plantas observadas em ensaio em vasos de Leonard, realizado para determinar a especificidade hospedeira e selecionar estirpes de *Rhizobium* para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2 de soja (*Glycine max*)

ESTIRPE	VARIEDADE		
	SANTA-ROSA	VIÇOJA	IAC-2
	g	g	g
SMS-45	3,64 ab	4,26 bcde	4,86 abc
64	4,18 ab	5,14 abcd	5,56 a
65	4,72 a	5,46 ab	4,90 ab
68	4,52 ab	5,28 abc	5,04 ab
166	3,32 b	3,60 e	3,84 bcd
299	4,24 ab	4,98 abcd	4,86 abc
309	4,64 ab	5,34 ab	5,20 a
310	3,78 ab	4,94 abcde	6,08 a
314	3,44 ab	3,96 cde	4,76 abcd
331	3,90 ab	5,60 ab	5,46 a
332	3,36 b	3,90 de	3,54 cd
333	4,32 ab	5,32 ab	3,46 d
335	4,06 ab	5,72 a	4,80 abcd
CONTROLE (1)	2,92	3,66	3,70
CONTROLE + N (1)	6,18	8,00	9,10

(1) Tratamento extra para controle de contaminação e da solução nutritiva.

CV% = 14

DMS = 1,36

No tocante à produção de matéria seca devida ao nitrogênio total fixado, nota-se também um comportamento diferente entre as variedades, sendo a viçoja semelhante à IAC-2 e aparentemente diferente da santa-rosa (quadro 2). Com uma mesma unidade de nitrogênio as duas primeiras variedades produzem maiores quantidades de matéria seca, o que poderia ser devido a diferenças varietais no metabolismo do nitrogênio. Essa observação merece uma investigação mais detalhada. Não é possível tecer considerações sobre as implicações dessas observações na produção de grãos.

c) **Nodulação**

Os dados de peso seco e de número médio de nódulos estão apresentados nos quadros 4 e 5. A análise estatística revelou diferenças significativas entre as estirpes nas três variedades, para o peso de nódulo, e na santa-rosa e IAC-2, para número de nódulos. Pode-se verificar que o peso seco de nódulos, considerado isoladamente, não foi um bom indicador de eficiência da simbiose. Algumas das estirpes ineficientes, ou de baixa eficiência, como SMS-166 e SMS-45, apresentaram valores elevados de peso seco de nódulos por planta, nas três variedades. Por outro lado, estirpes de alta eficiência, como a SMS-335 para a variedade viçoja, apresentaram baixo peso de nódulos. Essas observações contradizem as de Martinez e outros (5), que verificaram ser o peso seco dos nódulos o critério mais sensível para a separação de estirpes eficientes em soja. Para o conjunto de estirpes eficientes, considerando-se as variedades individualmente, os pesos de nódulos por plantas verificados foram 154 mg, 136 mg e 117 mg, respectivamente, para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2. Os maiores nódulos, entretanto, foram observados na variedade IAC-2 (5,26 mg/nódulo), seguidos da santa-rosa (3,88 mg/nódulo) e viçoja (3,79 mg/nódulo).

QUADRO 4. — Médias do peso seco de nódulos de três plantas observadas em ensaio em vasos de Leonard, realizado para verificar a especificidade hospedeira e selecionar estirpes de *Rhizobium* para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2 de soja (*Glycine max*)

ESTIRPE	VARIEDADE		
	SANTA ROSA	VIÇOJA	IAC-2
	mg	mg	mg
SMS-45	690,9 a	614,1 a	490,7 a
64	385,5 d	343,2 b	297,2 bcd
65	549,2 abc	460,1 b	340,5 bc
68	427,2 cd	378,3 b	259,9 cd
166	620,7 ab	621,7 a	432,7 ab
299	495,9 bcd	380,5 b	385,1 abc
309	506,6 bcd	429,8 b	365,2 abc
310	427,4 cd	433,3 b	395,7 abc
314	612,8 ab	642,1 a	498,3 a
331	395,9 d	435,6 b	307,8 bcd
332	442,6 cd	381,2 b	183,1 d
333	435,8 cd	403,4 b	1,7 e
335	422,9 cd	389,9 b	341,8 bcd
CONTROLE (1)	0	0	0
CONTROLE + N (1)	0	0	0

(1) Tratamento extra para controle de contaminação e da solução nutritiva.

CV% = 15,8

DMS = 143

QUADRO 5. — Média do número de nódulos, de três plantas, observados em ensaio em vasos de Leonard, realizado para verificar a especificidade hospedeira e selecionar estirpes de *Rhizobium* para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2 de soja (*Glycine max*)

ESTIRPE	VARIEDADE		
	SANTA ROSA (¹)	VIÇOJA (¹)	IAC-2 (¹)
45	84,4 bcd	100,2 a	80,6 abc
64	106,2 abcd	101,4 a	49,2 cd
65	130,0 ab	119,2 a	55,8 cd
68	113,4 abcd	120,4 a	42,0 d
166	131,2 abc	92,8 a	121,6 a
299	133,6 a	101,6 a	53,2 cd
309	123,8 ab	104,8 a	66,0 bcd
310	111,2 abc	111,8 a	108,0 ab
314	73,8 d	87,6 a	62,0 cd
331	114,4 abcd	103,8 a	85,6 abc
332	126,4 abc	131,4 a	49,0 d
333	109,0 abcd	104,4 a	0,2 e
335	95,0 abcd	98,8 a	55,0 cd

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

CV = 11,7%

DMS = 2,35

Quanto ao número de nódulos, não foram observadas diferenças significativas para a variedade viçoja. Na santa-rosa apenas as estirpes SMS-45 e 314 (ambas ineficientes) apresentaram menores nodulações. Na variedade IAC-2, as estirpes SMS-64, SMS-65, SMS-68, SMS-309 e SMS-314, consideradas eficientes pelo critério do nitrogênio fixado, e SMS-299, SMS-332, SMS-333 e SMS-335, consideradas ineficientes, apresentaram menores quantidades de nódulos que as demais. O número médio de nódulos por planta, para o conjunto de estirpes eficientes, foi respectivamente 39,6; 35,8 e 22,3 para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2.

O número, assim como o peso de nódulos, não foi critério satisfatório para a seleção de estirpes.

d) Estudos de correlação

Foi observada uma correlação altamente significativa entre peso seco de plantas e nitrogênio fixado, como era de esperar para as condições do ensaio. As equações de regressão foram $Y = -106,99 + 51,6466 x$; $Y = -121,0193 + 44,6142 x$, e $Y = -127,4246 + 43,9506 x$ para as variedades santa-rosa, viçoja e IAC-2, respectivamente. Os coeficientes de

correlação, na mesma ordem, foram de 0,90; 0,95 e 0,95. Essa correlação indica que o peso seco das plantas pode ser tomado como critério para a seleção de estirpes, para testes em vasos de Leonard. Conforme foi observado anteriormente e também indicado por Vincent (7), perde-se, entretanto, na sensibilidade do teste. Esse critério parece recomendável, como pré-seleção, quando se pretende testar grande número de estirpes, ou quando não se dispõe de meios para elevado número de análises de nitrogênio.

Para estudo de correlação entre peso seco de nódulos e nitrogênio fixado, foram tomados apenas os dados das estirpes consideradas eficientes pelo critério indicado para nitrogênio total. A correlação foi significativa ($r = 0,901$) apenas para a variedade santa-rosa (figura 1), que apresentou a maior amplitude de variação dos valores absolutos de nitrogênio total fixado e peso de nódulos das estirpes eficientes. Seria de supor que, para um conjunto de estirpes eficientes, a quantidade de nitrogênio fixado por unidade de massa nodular fosse constante, independente do peso total de nódulos. No caso da santa-rosa, que apresentou correlação significativa sobre peso seco de nódulos e N_2 fixado, isso se verificou. Viçosa e IAC-2 apresentaram correlação negativa entre peso seco de nódulos e nitrogênio fixado por unidade de massa nodular. Isso significa que, quanto maior a massa nodular, menos nitrogênio é fixado por unidade de nódulo (figura 2).

Döbereiner (3) verificou, em soja, que o peso de nódulos está correlacionado com o nitrogênio fixado, sendo que apenas a adição de nitrogênio e a inoculação com estirpes ineficientes influenciou o coeficiente

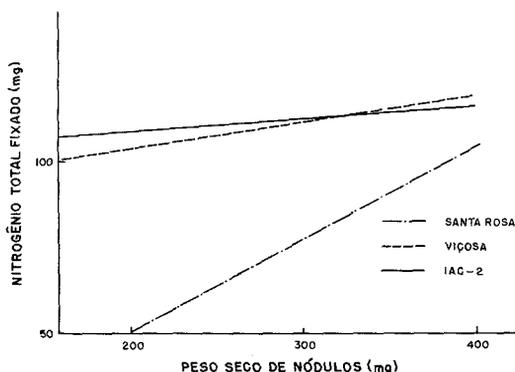


Figura 1. - Regressão linear entre nitrogênio total fixado e peso seco de nódulos, para as variedades santa-rosa ($y = -2,38 + 0,26x$; $r = 0,899^{**}$), viçosa ($r = 0,198ns$) e IAC-2 ($r = 0,36ns$).

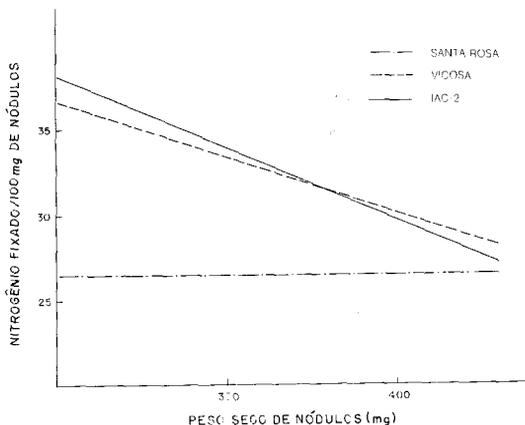


Figura 2. - Regressão linear entre nitrogênio fixado por 100 mg de nódulos e peso seco de nódulos para as variedades santa-rosa ($r = 0,028ns$), viçosa ($y = 56,35 - 0,068x$; $r = 0,667^*$) e IAC-2 ($y = 63,10 - 0,086x$; $r = 0,944^{**}$).

de regressão. Os dados aqui obtidos indicam, para um conjunto de estirpes eficientes, ausência da referida correlação nas variedades viçosa e IAC-2. Bohnen e Freire (1) observaram, para um conjunto de estirpes com diferentes graus de eficiência, ausência de correlação entre peso seco de nódulos de ervilhaca (*Vicia dasycarpa*) e N_2 fixado.

A nodulação parece ser critério pouco favorável de avaliação de eficiência, particularmente nos trabalhos de seleção de estirpes. Entretanto, a observação de nódulos em condições de campo para estirpes de reconhecida eficiência, é de grande valia para verificar o estabelecimento e funcionamento da simbiose.

4 — CONCLUSÕES

Dos resultados aqui verificados podem ser tiradas as seguintes conclusões:

a) As estirpes SMS-64, SMS-65, SMS-68, SMS-309 e SMS-310 são igualmente eficientes fixadoras de nitrogênio nas variedades de soja santa-rosa, viçosa e IAC-2, ao passo que as estirpes SMS-45, SMS-166 e SMS-314 são ineficientes;

b) Os dados de nitrogênio total fixado permitem melhor diferenciação da eficiência das estirpes, em comparação com o peso seco das plantas;

c) O peso seco e o número de nódulos de soja não são critérios satisfatórios, de per si, para caracterização de estirpes eficientes.

HOST SPECIFICITY, AND PRE-SELECTION OF *RHIZOBIUM JAPONICUM* STRAINS, FOR THREE SOYBEAN VARIETIES

SUMMARY

An experiment was carried out with "santa-rosa", "viçoja", and "IAC-2" soybean varieties (*Glycine max* (L.) Merrill), in nutrient solution (Leonard jars) with the objectives of pre-selection of thirteen *Rhizobium japonicum* strains, and verification of the degree of specificity of the soybean varieties.

After a fifty eight days growth period it was observed, from the nitrogen fixed, that strains n.º SMS-64, SMS-65, SMS-68, SMS-309, and SMS-310 were equally efficient on the three varieties. Some strains were efficient in two, and others in only one variety. Strain SMS-333 did not form nodules on "IAC-2", but was efficient on the other varieties.

The total plant dry weight was not as good criteria as the total nitrogen, for the strain differentiation, although total nitrogen and dry weight were correlated. Nodulation (nodule number, or dry weight) was not a good criterion for strain selection.

LITERATURA CITADA

1. BOHNEN, H. & FREIRE, J. R. J. Seleção de raças eficientes de *Rhizobium* spp. em feijão, ervilha, lentilha e ervilhaca. In: REUNIÃO LATINO-AMERICANA SOBRE INOCULANTES PARA LEGUMINOSAS, 4., Porto Alegre. Secret. Agric./UFRGS, 1968. Anais. p.92-104.
2. BURTON, J. C. The *Rhizobium* — legume association. In: GILMOUR, C. N. & ALLEN, O. N., ed. Microbiology and soil fertility. Corvallis, Oregon State University Press, 1965. 164p.
3. DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N. B. & PENTEADO, A. F. Avaliação da fixação do nitrogênio, em leguminosas, pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. Pesq. agropec. bras. 1:233-237, 1966.
4. ———; ——— & ———. Especificidade hospedeira, em variedades de soja, na simbiose com *Rhizobium*. Pesq. agropec. bras. 1:207-210, 1966.
5. MARTINEZ, C. J.; TORRIE, J. H. & ALLEN, O. N. Correlation analysis of criteria of symbiotic nitrogen fixation by soybeans (*Glycine max* Merr.). Zentbl. Bakt. Parasitkde 124:212-216, 1970.
6. NORRIS, D. O. Techniques used in work with *Rhizobium*. In: Some concepts and methods in sub-tropical pasture research. Farnham Royal, Commonw. Agric. Bur., 1964. p.186-189. (Bull. 47)
7. VINCENT, J. M. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. Oxford, 1970. 159p. (IBP Handbook, 15)