

Response of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to *Rhizobium* inoculation (1)

P. T. C. NAMBIAR (2), P. J. DART, B. SRINIVASA RAO and H. N. RAVISHANKAR

Summary. — Inoculation with *Rhizobium* increased groundnut yields in fields where the crop had been previously grown. These responses were obtained in fields, where the soil contained 10^2 - 10^4 cowpea rhizobia/g and the uninoculated plants had 200-600 nodules per plant at around 60 days after planting. Inoculating rhizobia as liquid below the seed was found to be a suitable method of inoculating groundnut. A particular host cultivar/*Rhizobium* strain combination consistently resulted in increased pod yields in field grown groundnut over several seasons.

INTRODUCTION

Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) is nodulated by a large group of *Rhizobium* strains classified as the cowpea miscellany [Fred *et al.*, 1932; Buchanan and Gibbons, 1974]. Most of the cultivated soils of the tropics appear to have relatively large populations ($> 10^3$ /g dry soil) of this type of *Rhizobium*, and groundnut is usually nodulated in these soils. However, the presence of nodules on roots of the groundnut plant does not mean that sufficient N_2 is being fixed for maximum growth of the host plant [Weaver, 1974]. Inoculation with effective *Rhizobium* strains have increased pod yield in fields in a number of countries where groundnut had not been previously grown [Seeger, 1961; Shimshi *et al.*, 1967; Schiffmann and Alper, 1968; Chesney, 1975; Pettit *et al.*, 1975; Burton, 1976]. There are few reports on the effect of *Rhizobium* inoculation on groundnut where the crop had been previously grown. In the U.S.A. inoculation did not increase pod yields in Alabama (Hiltbold, A. E. *personal communication*). Inoculum increased yield in one out of two experiments conducted in North Carolina, U.S.A. [Ball *et al.*, 1981]. At Ludhiana, India, Arora *et al.* [1970] observed that the seed protein content, but not the pod yield, was increased by inoculation. Subba Rao [1976] observed that *Rhizobium* inoculation resulted in decreased yields in the all-India coordinated trials conducted over several seasons. However, Sundara Rao [1971] reported pod yield increases after *Rhizobium* inoculation at Hyderabad (India). Van Der Merwe *et al.* [1974] conducted eleven seed inoculation trials over three seasons in different locations in South Africa, where groundnuts were cropped intensively. They obtained increased seed yield in only one trial, conducted at Buffelspoort. Hence, these authors suggested that « seed inoculation may be superfluous under the existing agricultural practices in South Africa ».

We report here the results of *Rhizobium* inoculation trials conducted in ICRISAT fields at Patancheru, near Hyderabad, India from 1977 to 1981, and at Dharwar, in Karnataka State, during the 1981 rainy season. Groundnut had been grown recently in most of these fields (Table I). Several cultivar and *Rhizobium* strain combinations were tested during these trials.

MATERIALS AND METHODS

Cultural Practices.

The experiments were conducted during the rainy season (usually mid-June to October) and the irrigated postrainy season (mid-November to March). The plots were fertilised with basal single superphosphate (40 kg P_2O_5 /ha) and gypsum (400 kg/ha) at flowering. The crops were grown on ridges 75 cm apart with an in row spacing of 15 cm between plants. The seeds were treated with the fungicide, Thiram (3 g/kg seed). The seeds were sown dry and irrigated immediately. The plants were irrigated during the postrainy season at 7 to 10 day-intervals, and were regularly protected by sprays against insect pests. Experiments during the 1977, 1978 rainy season and the 1978 postrainy season at ICRISAT were laid out in a randomised block design. The experiment during the 1981 rainy season at Dharwar was laid out in a split plot design with cultivars as main plots and *Rhizobium* treatment as sub-plots. All other experiments were split plot designs with *Rhizobium* treatment as the main plots and cultivars as the sub plots. The soil type, plot size and harvest areas are shown in Table I.

Cultivars.

Cultivars used in these experiments were Argentine, TMV 2, J 11 and Ah 8189 (Spanish); MH 2 (Valencia); Kadiri 71-1, Robut 33-1; ICGS 17, ICGS 22, and ICGS 15 (Virginia).

Enumeration of soil *Rhizobium* population.

Soil *Rhizobium* (cowpea miscellany) population was enumerated by serial dilution/plant infection method using siratro (*Macroptilium atropurpureum*) as the test plant, as described by Vincent [1970].

Rhizobium strains.

The following strains were used — NC 92, NC 43.3, NC 7.2, NC 6, NC 70.1 (obtained from Dr. G. H. Elkan, NCSU, Raleigh, USA); 3G4B6, 3G4B16 (obtained from USDA, Beltsville), 5a/70 (obtained from Dr. Rina Lobel, Agricultural Research Organisation, The Volcani Center,

(1) Submitted as Journal Article No 241, ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics), Andhra Pradesh 502 324 (India)

(2) Microbiologist, Groundnut Improvement Program, ICRISAT, Patancheru P.O., Andhra Pradesh 502 324 (India).

Bet Dagan, Israel), 8A23 and 47A1 (obtained from J. C. Burton, Nitrogen Company Ltd, Wisconsin). Other strains were isolated at ICRISAT from nodules collected from different parts of India.

Preparation of inoculants and method of application.

Inoculants, using γ -irradiated peat as a carrier, were used in these experiments [Thompson, 1980]. The peat contained 10^9 - 10^{10} *Rhizobium*/gram peat and were free of contaminants at the 10^6 dilution level. Mixed inoculants were prepared by mixing the peat containing the desired

strains in equal proportions. Granular inoculum was prepared by mixing 70 g of peat with 800 ml of aqueous methyl cellulose (1.5 p. 100 w/v), and then with 5.5 kg washed river sand, until the sand was evenly coated with the peat. The mixture was then air dried in the shade for 8-12 hours. One to two grams of this sand was placed below the seed at sowing to provide minimum 10^6 *Rhizobium*/seed. Liquid inoculum was prepared by thoroughly mixing the peat in water (0.7 g/litre) and pouring the mixture below the seed (4-5 ml/seed) into the furrow, to give a population of minimum 10^6 *Rhizobium*/seed. Uninoculated plots, nodulated by the native *Rhizobium* population served as control.

TABLE I. — Summary of inoculation trials conducted during 1977-1981
(Résumé des essais d'inoculation menés entre 1977 et 1981)

Year (Année)	Season (Saison)	Soil type (Type de sol)	Early cropping history of groundnut (Cultures antérieures d'arachide) (b)	Plot size (Superficie de la parcelle) (m ²)	Harvest area (Superficie récoltée) (m ²)	Cultivar	Strain (Souche)	Method of inoculation (Méthode d'inoculation)
1977	Rainy (Pluies)	Alfisol	Not known (inconnu)	32	9	TMV 2	5a/70	Granular (Granules)
1977	Rainy (Pluies)	Alfisol	Not known (inconnu)	42	16	Kadiri 71-1 Robut 33-1	5a/70	Granular (Granules)
1977	Rainy (Pluies)	Vertisol	Not known (inconnu)	32	9	TMV 2 Kadiri 71-1	5a/70	Granular (Granules)
1978	Rainy (Pluies)	Alfisol	Not known (inconnu)	47	26	TMV 2 Robut 33-1	IC 6006 5a/70	Granular (Granules)
1978	Rainy (Pluies)	Alfisol	Yes (Oui)	41	19	Argentine MH 2	ICG 60 5a/70	Granular (Granules)
1978-1979	Post-rainy (Post-pluviale)	Alfisol	No (Non)	54	36	Robut 33-1 MH 2	IC 6006 NC 92	Granular/liquid (Granules/liquide)
1979	Rainy (Pluies)	Alfisol	Yes (Oui)	24	11	Robut 33-1 Kadiri 71-1	Mixture 5a/70	Granular (Granules)
1979-1980	Post-rainy (Post-pluviale)	Alfisol	Yes (Oui)	21	14	Robut 33-1	IC 6006 NC 43.3	Granular/liquid (Granules/liquide)
1980	Rainy (Pluies)	Alfisol	Yes (Oui)	30	14	Robut 33-1	NC 7.2 NC 92	Granular/liquid (Granules/liquide)
1980-1981	Post-rainy (Post-pluviale)	Alfisol	Yes (Oui)	34	16	Robut 33-1	IC 6006 Mixture (Mélange) NC 92	Granular/liquid (Granules/liquide)
1981	Rainy (Pluies)	Alfisol	Yes (Oui)	34	18	Robut 33-1 J 11 ICGS 15	5a/70 NC 92 IC 6006	Liquid (Liquide)
1981	Rainy (Pluies) Site 1	Alfisol	Yes (Oui)	34	16	Robut 33-1 J 11 ICGS 22 ICGS 17	Mixture (Mélange) 3G 4B6 NC 6 47A1 8A23 NC 70.1 3G 4B16 IC 6001	Liquid (Liquide)
1981	Rainy (Pluies) Site 2	Alfisol	Yes (Oui)	8	4	Robut 33-1 J 11	NC 92 5a/70	Liquid (Liquide)
1981	Rainy (Pluies) (Dharwar Centre) (a)	Alfisol	Not known (inconnu)	18	10	Robut 33-1 J 11 TMV 2	NC 92 5a/70	Liquid (Liquide)

(a) All other trials were conducted at ICRISAT Centre, Patancheru (Tous les autres essais ont été menés au Centre ICRISAT, Patancheru).

(b) Groundnut grown at least once during 1977-81 (Arachides cultivées au moins une fois entre 1977 et 1981).

RESULTS AND DISCUSSION

Host cultivar × *Rhizobium* strain compatibility.

The details of the trials are summarised in Table I. During the 1977 rainy season the trials were conducted at the ICRISAT Center on an alfisol field. The cultivars,

TABLE II. — Groundnut yield response to *Rhizobium* (strain 5a/70) inoculation in the 1977 rainy season
(Réponse de la production de l'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* — souche 5a/70 — pendant la saison des pluies de 1977)
— ICRISAT —

Treatment (Traitement)	Cultivar		
	Kadiri 71-1	Robut 33-1	TMV 2
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)		
Inoculated (inoculé)	114	291	206
Uninoculated (non inoculé)	95	233	156
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	+ 12.1		
CV (p. 100)	23		

TABLE III. — Groundnut yield response to *Rhizobium* inoculation in the 1978-79 postrainy season
(Réponse de la production de l'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* pendant la saison post-pluviale 1978-79)
— ICRISAT —

Treatment (I) (Traitement)	Cultivar		
	MH 2	Robut 33-1	Ah 8189
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)		
IC 6009	1,880	3,330	2,860
NC 92	1,940	4,500	2,690
Uninoculated (non inoculé)	2,220	3,500	2,830
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	± 291.2		
CV (p. 100)	15		

(1) NC 92 applied as liquid, others as granular (NC 92 appliqué sous forme liquide, les autres en granules).

TABLE IV. — Groundnut yield response to *Rhizobium* inoculation in the 1979 rainy season
(Réponse de la production de l'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* pendant la saison des pluies de 1979)
— ICRISAT —

Treatment (Traitement)	Cultivar		
	Kadiri 71-1	Robut 33-1	Ah 8189
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)		
5a/70	360	800	420
IC 6006	480	800	290
NC 92	570	1,160	480
NC 43.3	460	960	470
NC 7.2	450	950	420
Uninoculated (non inoculé)	500	870	470
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	± 24.3		
CV (p. 100)	32.5		

TMV 2 and Robut 33-1 produced higher yields when inoculated with the strain 5a/70 (Table II). However, severe moisture stress during the growing season limited yields. During the rainy seasons of 1979, 1980 and 1981, and the postrainy season of 1978-79 Robut 33-1 inoculated with the strain NC 92 produced significantly ($P < 0.05$) higher pod yields than the uninoculated control (Tables III-VI). The increase in pod yield ranged from 18 to 34 p. 100. At Dharwar, Robut 33-1 produced 40 p. 100 more yield when inoculated with the strain NC 92 (Table VII). There was no significant increase in pod yield among the other cultivar/strain combinations tested, except for Robut 33-1 inoculated with 5a/70 (1980 rainy season) and ICGS 15 inoculated with NC 92 (1981 rainy season). Interestingly, ICGS 15 is derived from a cross between TMV 7 and Robut 33-1. During 1981 seven *Rhizobium* strains, excluding the strain NC 92, were tested against 4 cultivars, but there was no significant difference in pod

TABLE V. — Effect of different method of inoculation on groundnut yield in the 1980 rainy season
(Effet de différentes méthodes d'inoculation sur la production de l'arachide pendant la saison des pluies de 1980)
— ICRISAT —

Treatment (Traitement)	Method of inoculation (Méthode d'inoculation)	
	Granular (Granules)	Liquid (Liquide)
	Yield (production) kg/ha	
5a/70	1,290	1,770
IC 6006	1,000	1,630
NC 92	1,020	1,640
Mixture (Mélange)	1,050	1,520
(5a/70 + NC 92 + IC 6006)		
Uninoculated (non inoculé)	1,350	
CV (p. 100)	15	

The standard error for comparing uninoculated treatment with any of the inoculated treatment is 77.4 and for comparing method of inoculation with in a treatment (*Rhizobium* strain) is 133.8 (L'écart-type pour la comparaison entre l'objet non inoculé et l'objet inoculé est de 77,4 ; et pour la comparaison entre méthodes d'inoculation à l'intérieur d'un même traitement — souche de *Rhizobium* — elle est de 133,8).

TABLE VI. — Groundnut yield response to *Rhizobium* inoculation in the 1981 rainy season
(Réponse de la production d'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* pendant la saison des pluies de 1981)
— ICRISAT —

Treatment (Traitement)	Cultivar		
	Robut 33-1	J 11	ICGS 15
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)		
5a/70	2,440	1,710	1,800
IC 6006	2,070	1,680	1,920
NC 92	2,760	1,870	2,390
Mixture (Mélange)	2,710	1,600	1,940
(5a/70 + NC 92 + IC 6006)			
Uninoculated (non inoculé)	2,350	1,950	1,970
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	± 187.8		
CV (p. 100)	Main plots 13 (Parcelles principales)		

TABLE VII. — Groundnut yield response to *Rhizobium* inoculation in the 1981 rainy season(Réponse de la production d'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* pendant la saison des pluies de 1981)

— Dharwar —

Treatment (Traitement)	Cultivar		
	Robut 33-1	J 11	TMV 2
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)		
5a/70	1,630	1,920	1,460
NC 92	2,150	1,850	1,640
Uninoculated (non inoculé)	1,530	1,710	1,270
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	± 176.5		
CV (p. 100)	23		

TABLE VIII. — Groundnut yield response to *Rhizobium* inoculation in the 1981 rainy season(Réponse de la production de l'arachide à l'inoculation de *Rhizobium* pendant la saison des pluies de 1981)

— ICRISAT —

Treatment (Traitement)	Cultivar			
	Robut 33-1	J 11	ICGS 22	ICGS 17
	(kg pod/ha - kg gousses/ha)			
3G4B6	2,990	1,840	2,120	2,150
NC 6	2,870	2,140	2,350	2,630
47A1	3,160	2,140	2,250	2,420
8A23	2,910	2,060	2,160	2,640
NC 70.1	2,850	2,180	2,510	2,770
3G4B16	3,090	2,030	2,340	2,800
IC 6001	3,060	1,920	2,160	2,250
Uninoculated (non inoculé)	2,990	1,990	2,370	2,470
SE for treatment mean within a cultivar (Ecart-type de la moyenne du traitement pour un cultivar)	± 180.8			
CV (p. 100)	Main plots 13 (Parcelles principales)			

yield as a result of inoculation (Table VIII). In all experiments inoculation did not effect shelling percentage.

A pooled analysis of variance done over eight experiments showed a significant ($P < 0.01$) increase in yield of Robut 33-1 inoculated with the strain NC 92. The average increase in pod yield over that of the uninoculated control was 16 p. 100 (Table IX). Since the treatment \times experiment interaction was significant ($P < 0.01$) an unweighted analysis was preferred for the above test (Cochran and Cox, 1957). A similar compatibility between Robut 33-1 and the strain NC 92 has been reported from Junagadh, Gujrat Dt., India (J. H. Kulkarni, NRCG, Junagadh; *per. comm.*). Such a strong cultivar/*Rhizobium* interaction under field conditions resulting in increased pod yield over seasons has not been reported earlier. However, cultivar \times *Rhizobium* interaction for nodulation has been observed with groundnut grown under sterile conditions in a glasshouse [Burton, 1976; Wynne *et al.*, 1980; Nambiar and Dart, unpublished observations] and in fields at Raleigh, North Carolina [Wynne *et al.*, 1980]. It is interesting to note that the strain NC 92 originates from South America, where *Arachis* also originated.

TABLE IX. — Summary of response of cv Robut 33-1 inoculated with *Rhizobium* strain NC 92(Résumé de la réponse du cv Robut 33-1 inoculé avec la souche de *Rhizobium* NC 92)

Season (Saison) :	Pod yield (Rendement en gousses) (kg/ha)		
	Uninoculated (non inoculé)	Inoculated (inoculé)	SE (Ecart/type)
Postrainy (post-pluviale) (a) (1978-79)	3,500	4,500	± 291.2
Rainy (des pluies) (a) (1979)	870	1,160	± 24.3
Postrainy (post-pluviale) (a) (1979/80)	4,280	4,400	± 104.7
Rainy (des pluies) (a) (1980)	1,350	1,640	± 77.4
Postrainy (post-pluviale) (a) (1980/81)	3,210	3,300	± 78.8
Rainy (des pluies) (a) (Site 1) (1981)	2,350	2,760	± 187.8
Rainy (des pluies) (a) (Site 2) (1981)	1,100	1,160	± 34.5
Rainy (des pluies) (b) (1981)	1,530	2,150	± 176.5
Mean (Moyenne)	2,274	2,634	± 56.3

(a) Trial conducted at ICRISAT Center (Essai conduit au Centre de l'ICRISAT).

(b) Trial conducted at Dharwar (Essai conduit à Dharwar).

The above results were obtained in fields where the soil *Rhizobium* population ranged from 10^2 - 10^4 rhizobia/g soil in the top 30 cm soil profile, and the uninoculated plants had 200-600 nodules per plant at around 60 days after planting. Weaver and Frederick [1974] recommended an inoculum rate of atleast 1 000 times the soil population for soybeans. In our experiments we have inoculated the seeds with a minimum rate of 10^6 cells per seed. Currently we are examining the minimum *Rhizobium* population required to obtain increased yields. The proportion of the nodules formed by the inoculant strain is also being investigated.

Methods of field inoculation of *Rhizobia*.

Direct application of cultures of *Rhizobium* to seed is the most common form of legume inoculation. However shelled groundnuts are sometimes fragile to be inoculated directly. Moreover, seed treatment with fungicides toxic to rhizobia [Curley and Burton, 1975] poses another difficulty in direct seed inoculation of groundnut. Alternately *Rhizobium* can be added to the soil as a granulated formulation [Bonnier, 1960; Fraser 1966, 1975] or in a liquid added below the seed [Schiffmann and Alper, 1968; Brockwell *et al.*, 1980]. During the 1977 and 1978 rainy seasons granular inoculum was effective (Tables I and II), whereas, during the 1979-80, 1980-81 postrainy seasons, and the 1980 rainy season, granular inoculum was found to be ineffective (Tables V and IX). It is possible that sand in the granular formation inhibits capillary movement of water to the seed, and under a water stress situation this leads to poor germination. During the 1980 rainy season, as a result of an initial water stress, seeds inoculated with a granular formation had

poor germination (73 p. 100) as compared to 98 p. 100 in liquid inoculated seeds, and 93 p. 100 in control plots. However, when adequate water was available germination was not affected by granular inoculum. Peat or Lignite granules, as used by commercial companies in the USA, may be better carriers than sand. Direct seed inoculation was also found to decrease seed germination during the 1980 rainy season (*unpublished observations*).

Effect of mixing inoculant strains.

Commercial inoculants sometimes contain two or more strains of *Rhizobium* in order to safeguard against the failure of a single strain. However, during the 1980 we found that inoculation with a single strain of NC 92 was superior to a mixture of the strains NC 92, 5a/70, and IC 6006. In Alabama, USA, commercial *Rhizobium* mixture produced fewer nodules on groundnut and a lower plant weight than a single strain [A. E. Hiltbold, *personal communication*]. There are several dangers in using mixed strains in an inoculum e.g., (i) control of production

quality is more difficult to ensure, as each strain must be grown in a broth separately, then added to the carrier, (ii) differential multiplication rates of the strains may result in large differences in the final prepared inoculant, and (iii) competition between the strains in forming nodules may result in the least effective combination dominating others following inoculation [Date & Brockwell, 1976].

CONCLUSION

Our results indicate that substantial increases in groundnut yield can be obtained by using a combination of the cultivar Robut 33-1 and *Rhizobium* inoculant using the strain NC 92. The responses were obtained in fields where groundnuts had been grown earlier and the uninoculated plants were well nodulated by the native *Rhizobium* population. To our knowledge, this is the first report of a strong host-cultivar *Rhizobium* compatibility in a field grown groundnut crop resulting in increased pod yield, observed over several seasons.

REFERENCES

- [1] ARORA S. K., SAINI J. S., GANDHI R. C. and SANDU R. S. (1970). — Study of chemical composition and yield of groundnut as affected by *Rhizobium* inoculation. *Oléagineux*, **25**, N° 5, p. 279-280.
- [2] BALL S. T., WYNNE J. C., GUERRANT S. M. and SCHNEEWEIS T. J. (1981). — Response of peanut to nitrogen and inoculum. In: *Proceedings of American Peanut Research and Education Society, Inc.*, **13**, p. 82.
- [3] BONNIER C. (1960). — Symbiose *Rhizobium*-légumineuses : aspects particuliers aux régions tropicales. *Ann. Inst. Pasteur* (Paris), **98**, p. 537-556.
- [4] BROCKWELL J., GAUIT R. R., CHASE D. L., HELY F. W., ZORIN M. and CERBIN, E. J. (1980). — An appraisal of practical alternatives to legume seed inoculation : Field experiments on-seed bed inoculation with solid and liquid inoculants. *Aust. J. Agric. Res.*, p. 31 : 47-60.
- [5] BURTON J. C. (1976). — Pragmatic aspects of the *Rhizobium* leguminous plant association. In: *Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation*, vol. 2 (E. Newton and C. J. Nyman, eds.), p. 429-446. Washington State University Press, Pullman.
- [6] BUCHANAN R. E. and GIBBONS N. E. (Eds.) (1974). — *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, 8th edition, p. 263-264. Williams and Wilkins, Baltimore.
- [7] CHESNEY A. D. (1975). — Fertilizer studies with groundnuts on the brown sands of Guyana. I. Effects of nitrogen, inoculum, magnesium, and fritted micronutrients. *Agron. J.*, **67**, p. 7-10.
- [8] COCHRAN W. G. and COX G. M. (1957). — In: *Experimental Designs*, John Wiley & Sons, New York, p. 561.
- [9] CURLEY R. L. and BURTON J. C. (1975). — Compatibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. *Agron. J.*, **67**, p. 807-808.
- [10] DATE R. A. and BROCKWELL, J. (1976). — *Rhizobium* strain competition and host interaction for nodulation. In: *Plant Relations in Pastures*, Proceedings of a Symposium held in Brisbane (J. R. Wilson, ed.). CSIRO, Australia.
- [11] FRASER M. E. (1966). — Preinoculation of lucerne seed. *J. Appl. Bact.*, **29**, p. 587-595.
- [12] FRASER M. E. (1975). — A method of culturing *Rhizobium meliloti* on porous granules to form a pre-inoculant for lucerne seed. *J. Appl. Bact.*, **39**, p. 345-351.
- [13] FRED E. B., BALDWIN I. L. and MCCOY E. (1932). — Root nodule bacteria and leguminous plants. *University of Wisconsin Studies*, **52**, p. 34.
- [14] PEI TH R. E., WEAVER R. W., TABER R. A. and STRICHER C. R. (1975). — Beneficial soil micro-organisms. In: *Peanut production in Texas* (J. E. Miller, ed.), p. 26-33. Texas Agricultural Experimental Station, Texas, U.S.A.
- [15] SCHIFFMANN J. and ALPER Y. (1968). — Inoculation of peanuts by application of *Rhizobium* suspension into the planting furrows. *Exp. Agric.*, **4**, p. 219-226.
- [16] SEEGER J. R. (1961). — Effets d'une fumure azotée sur le nodulation et le rendement de l'arachide. *Bull. Inst. agron. et Stal. Rech. Gembloux*, **29**, p. 197-218.
- [17] SHIMSHI D., SHIFFMANN J., KOST V., BIELORAI H. and ALPER Y. (1967). — Effects of soil moisture regime on nodulation of inoculated peanuts. *Agron. J.*, **59**, p. 397-400.
- [18] SUBBA RAO N. S. (1967). — Field response of legumes in India to inoculation and fertiliser applications. In: *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants* (P. S. Nutman, ed.), p. 255-268. Cambridge University Press, Cambridge.
- [19] SUNDARA RAO W. V. B. (1971). — Field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes. *Plant and Soil*, Special Volume, p. 287-291.
- [20] THOMPSON J. A. (1980). — Production and quality control of legume inoculants. In: *Methods of Evaluating Biological Nitrogen Fixation* (F. J. Bergersen, ed.), p. 489-533. John Wiley & Sons, Chichester.
- [21] VAN DER MERWE S. P., STRIGDOM B. W. and UYS C. J. (1974). — Groundnut response to seed inoculation under extensive agriculture practices in South African Soils. *Phytophylactica*, **6**, p. 295-302.
- [22] VINCENT J. M. (1970). — *Manual for the Practical Study of Root-Nodule Bacteria*, p. 49-72. IBP Hand Book No. 15. Black Well Scientific Publications, Oxford.
- [23] WEAVER R. W. (1974). — Effectiveness of rhizobia forming nodules on Texas grown peanuts. *Peanut Sci.*, **1**, p. 23-25.
- [24] WEAVER R. W. and FREDERICK L. R. (1974). — Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. II. Field Studies. *Agron. J.*, **66**, p. 233-236.
- [25] WYNNE J. C., ELKAN G. H. and SCHNEEWEIS T. J. (1980). — Increasing nitrogen fixation of the groundnut by strain and host selection. In: *Proceedings-International Workshop on Groundnuts* (R. W. Gibbons ed.), p. 95-109. ICRISAT, Patancheru, India.

RÉSUMÉ

Réponse de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) à l'inoculation de *Rhizobium*.

P.T.C. NAMBIAR, P. J. DART, B. SRINIVASA RAO et H. N. RAVISHANKAR, *Oléagineux*, 1984, 39, N° 3, p. 149-155.

L'inoculation de *Rhizobium* augmente la production de l'arachide dans les champs où celle-ci a déjà été cultivée. Ces réponses sont obtenues dans des champs où le sol contient 10^2 à 10^4 *Rhizobia* du niébé/g, et où les plantes non inoculées ont 200 à 600 nodules par plante, environ 60 jours après la plantation. L'inoculation de *Rhizobia* sous forme liquide sous la graine s'est avérée une méthode satisfaisante d'inoculation pour l'arachide. Une combinaison particulière : cultivar hôte/souche de *Rhizobium*, a donné systématiquement une augmentation de la production de gousses pour l'arachide cultivée au champ au cours de plusieurs saisons.

RESUMEN

Respuesta del maní (*Arachis hypogaea* L.) a la inoculación con *Rhizobium*.

P.T.C. NAMBIAR, P. J. DART, B. SRINIVASA RAO y H. N. RAVISHANKAR, *Oléagineux*, 1984, 39, N° 3, p. 149-155.

La inoculación de *Rhizobium* aumenta la producción del maní en los campos en que éste ya se cultivó. Se obtuvo estas respuestas en los campos cuyo suelo contenía 10^2 a 10^4 *Rhizobia* del niébé (*Vigna catjang*)/g, y en que las plantas sin inocular tenían de 200 a 600 nódulos por planta, unos 60 días después de la siembra. La inoculación de *Rhizobia* bajo la forma de líquido debajo de la semilla resultó ser un método satisfactorio de inoculación para el maní. Una combinación especial, o sea cultivar hospedero/cepa de *Rhizobium*, produjo sistemáticamente un aumento de la producción de frutos para el maní cultivado en el campo a través de varias estaciones.

Réponse de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) à l'inoculation de *Rhizobium* (1)

P. T. C. NAMBIAR (2), P. J. DART, S. SRINIVASA RAO et H. N. RAVISHANKAR

INTRODUCTION

L'arachide (*Arachis hypogaea* L.) est nodulée par un grand groupe de souches de *Rhizobium* classé comme groupe du niébé [Fred *et al.*, 1932 ; Buchanan et Gibbons, 1974]. La plupart des sols cultivés des tropiques paraissent contenir des populations relativement importantes ($> 10^3$ /g de sol sec) de ce type de *Rhizobium*, et l'arachide est généralement nodulée dans ces sols. Cependant, la présence de nodules sur les racines de l'arachide ne veut pas dire que suffisamment de N_2 est fixé pour permettre la croissance maximale de la plante hôte [Weaver, 1974]. L'inoculation avec des souches efficaces de *Rhizobium* a augmenté la production de gousses au champ dans plusieurs pays où l'arachide n'avait pas été cultivée auparavant [Seeger, 1961 ; Shimshi *et al.*, 1967 ; Schiffmann et Alper, 1968 ; Chesney, 1975 ; Pettit *et al.*, 1975 ; Burton, 1976]. Il existe peu de rapports sur l'effet de l'inoculation de *Rhizobium* aux endroits où l'arachide a déjà été cultivée. Aux Etats-Unis, l'inoculation n'a pas augmenté la production de gousses en Alabama [Hiltbold, A. E., *communication personnelle*]. L'inoculation a augmenté la production dans l'une des deux expériences conduites en Caroline du Nord aux Etats-Unis [Ball *et al.*, 1981]. A Ludhiana, en Inde, Arora *et al.* [1970] ont observé que la teneur en protéines de la graine, mais non la production de gousses, a été augmentée par l'inoculation. Subba Rao [1976] a observé que l'inoculation de *Rhizobium* a abouti à une réduction de production dans les essais, coordonnés de toute l'Inde, conduits pendant plusieurs campagnes. Cependant, Sundara Rao [1971] a signalé une augmentation de la production de gousses après l'inoculation de *Rhizobium* à Hyderabad (Inde). Van Der Merwe *et al.* [1974] ont mené onze essais d'inoculation pendant trois campagnes dans trois localités différentes d'Afrique du Sud où l'arachide est intensivement cultivée. Ils ont obtenu une augmentation de la production de graines dans un seul essai, mené à Buffelspoort. Ces auteurs ont donc suggéré que « l'inoculation de la graine peut être superflue dans les pratiques agricoles actuelles d'Afrique du Sud ».

Dans cet article, nous donnons les résultats d'essais d'inoculation de *Rhizobium* menés dans les champs de l'ICRISAT à Patan-

cheru, près de Hyderabad (Inde) entre 1977 et 1981, et à Dharwar, dans l'Etat de Karnataka, pendant la saison des pluies de 1981. L'arachide avait été cultivée récemment dans la plupart de ces champs (Tabl. 1). Plusieurs combinaisons de cultivars et de souches de *Rhizobium* ont été testées au cours de ces essais.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Techniques culturales.

Les expériences ont été conduites pendant la saison des pluies (normalement de la mi-juin à la mi-octobre) et la saison post-pluviale irriguée (mi-novembre à mi-mars). Les parcelles ont reçu du superphosphate simple (40 kg de P_2O_5 /ha) et du gypse (400 kg/ha) à la floraison. Les arachides ont été cultivées sur billons écartés de 75 cm, avec un écartement de 15 cm entre les plantes sur la ligne. Les graines ont été traitées au fongicide thirame (3 g/kg de graines). Les graines ont été semées en sec, et ont été irriguées immédiatement. Les plantes ont été irriguées pendant la saison post-pluviale à des intervalles de 7 à 10 jours, et ont été régulièrement protégées par pulvérisation contre les insectes ravageurs. Les expériences menées à l'ICRISAT pendant la saison des pluies 1977 et 1978, et la saison post-pluviale 1978 ont été disposées en blocs randomisés, et l'expérience menée à Dharwar pendant la saison des pluies 1981 a été disposée en parcelles divisées, un cultivar par parcelle principale, avec le traitement au *Rhizobium* en sous-parcelle. Le tableau 1 résume le type de sol, la taille des parcelles et la superficie récoltée.

Cultivars.

Les cultivars suivants ont été utilisés dans ces expériences : Argentine, TMV 2, J 11 et Ah 8189 (Spanish) ; MH 2 (Valencia) ; Kadiri 71-1, Robut 33-1 ; ICGS 17, ICGS 22 et ICGS 15 (Virginia).

Mesure de la population de *Rhizobium* du sol.

La population de *Rhizobium* du sol (groupe du niébé) a été mesurée par dilution en série/infection des plantes, en utilisant le

(1) Soumis comme Article de Revue No. 241, ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) Andhra Pradesh 502 324 (Inde).

(2) Microbiologiste. Groundnut Improvement Program, ICRISAT, Patancheru, P.O., Andhra Pradesh 502 324 (Inde).

stritaro (*Macroptilium uncinatum*) comme plante expérimentale, selon la méthode décrite par Vincent [1970].

Souches de *Rhizobium*.

Les souches suivantes ont été utilisées : NC 92, NC 43, NC 72, NC 6, NC 70.1 (fournies par le Dr. G. H. Eikan, NCSU, Raleigh, Etats-Unis) ; 3G4B6, 3G4B16 (fournies par l'USDA, Baitshville) ; 58/70 (fournie par le Dr. Rina Lobel, Agricultural Research Organization, the Volcani Center, Bet Dagan, Israël) ; 8A23 et 47A1 (fournies par J. C. Burton, Nitrogen Company Ltd, Wiscosity). D'autres souches ont été isolées à l'ICRSAT à partir de nodules récoltés dans différentes régions de l'Inde.

Préparation des inoculants et méthodes d'application.

Des inoculants, utilisant comme support de la tourbe irradiée aux rayons-γ, ont été employés dans ces expériences [Thompson, 1980]. La tourbe contenait 10⁹ à 10¹⁰ *Rhizobium* g de tourbe et était exempte de contaminants à une dilution de 10⁶. Des inoculants mixtes ont été préparés en mélangeant en proportions égales les tourbes contenant les souches désignées. L'inoculum en grains a été préparé en mélangeant 70 g de tourbe avec 800 ml de méthylcellosolve aqueux (1,5 p. 100 p/v), et ensuite avec 5,5 kg de sable de rivière lavé jusqu'à ce que le sable ait été uniformément enrobé de tourbe. Ensuite, le mélange a été séché à l'air, à l'ombre, pendant 8 à 12 heures. Un à deux grammes de ce sable a été placé sous la graine au moment du semis, pour fournir un minimum de 10⁶ *Rhizobium*/graine. L'inoculum liquide a été préparé en mélangeant soigneusement la tourbe avec de l'eau (0,7 g/litre) et versant le mélange (4 à 5 ml/grain) dans le sillon sous la graine, d'abord ainsi une population minimale de 10⁶ *Rhizobium*/graine. Des parcelles non inocuées, nodules par la population naturelle de *Rhizobium*, ont servi de témoins.

Compatibilité cultivar hôte × souche de *Rhizobium*.

Le tableau I résume les détails des essais. Pendant la saison des champs alternés, les cultivars TMV 2 et Robur 33-1 ont eu une production plus importante quand ils étaient inocués avec la souche 58/70 (Tabl. II). Cependant, un stress hydrique sévère pendant la période de croissance a limité la production. Pendant les saisons de cultures Robur 33-1, inoculé avec la souche NC 92, à ce niveau de croissance, les détails des essais sont résumés dans les tableaux III et IV. L'augmentation du rendement en gosses allait de 18 à 34 p. 100. A Dharwar, Robur 33-1 avait une production 40 p. 100 plus élevée quand il était inoculé avec la souche NC 92 (Tabl. V). Il n'y avait pas d'augmentation significative de la production parmi les autres combinaisons cultivar/souche testées, sauf pour Robur 33-1 inoculé avec la 58/70 (saison des pluies 1980) et ICGS 15 inoculé avec la NC 92 (saison des pluies 1981). Il est intéressant de constater que le cultivar ICGS 15 est issu d'un croisement entre TMV 7 et Robur 33-1. Pendant l'année 1981, sept souches de *Rhizobium* (mis à part la souche NC 92) ont été testées vis-à-vis de quatre cultivars, mais aucune différence significative de production de gosses n'est ressortie de l'inoculation (Tabl. VIII). Dans toutes les expériences, l'inoculation n'affaiblissait pas le rendement au débourrage. Une analyse de variance groupée sur huit expériences a montré une augmentation significative (< p < 0,01) de la production de Robur 33-1 inoculé avec la souche NC 92, avec une production moyenne de gosses de 16 p. 100 supérieure à celle du témoin non inoculé (Tabl. IX). Puisque l'interaction traitement × expérience était significative (< p < 0,01), une analyse non pondérée a été effectuée pour le test décrit ci-dessus [Cochran et Cox, 1957]. Une comparabilité analogue entre Robur 33-1 et la souche NC 92 a été signalée à Junagadh, Gujarat (Inde) [J. H. Kulkarni, NRCG, Junagadh, communication personnelle]. Une aussi forte interaction cultivar/*Rhizobium* dans un essai au champ, résultant en une augmentation de la production de gosses pendant toute une saison, n'avait jamais été signalée auparavant, bien qu'une interaction pour des arachides cultivées en serre dans des conditions strictes [Burton, 1976 ; Wynne *et al.*, 1980 ; Nambiar et Dart, *résultats non publiés*].

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Effet d'un mélange de souches d'inoculum.

Les inoculants commerciaux contiennent parfois deux ou plusieurs souches de *Rhizobium* comme assurance contre l'infection. Cependant, pendant la saison 1980 nous avons trouvé que l'inoculation avec une seule souche de NC 92 était plus efficace qu'un mélange des souches NC 92, 58/70 et ICGS 6006. En Alabama (Etats-Unis) un mélange commercial de *Rhizobium*, utilisé sur arachide, a donné moins de nodules et un poids de la plante entière plus faible qu'une seule souche [A. E. Hiltbold, communication personnelle]. L'utilisation de souches mixtes d'inoculum présente plusieurs dangers, par exemple : a) il est plus difficile de contrôler efficacement la qualité de la production, puisque chaque souche doit être cultivée dans un milieu séparé, puis ajoutée au support ; b) le taux de multiplication différent des diverses souches peut aboutir à de grandes variations dans l'inoculum final ; c) la compétition entre souches peut résulter dans la domination de la combinaison la moins efficace à la suite de l'inoculation [Date et Brockwell, 1976].

CONCLUSION

Nos résultats indiquent qu'il est possible d'obtenir des augmentations substantielles de la production de l'arachide en utilisant une combinaison de cultivars Robur 33-1 et de la souche NC 92 d'un inoculum de *Rhizobium*. Ces résultats ont été obtenus dans des champs où l'arachide avait déjà été cultivée, et où les plantes non inocuées étaient bien nodulées par la population naturelle de *Rhizobium*. A notre connaissance, c'est la première fois qu'on signale une forte compatibilité cultivar hôte/*Rhizobium* pour des arachides cultivées au champ, conduisant à une augmentation de la production de gosses observée sur plusieurs saisons.

Méthodes d'inoculation de *Rhizobium* au champ.

L'application directe de cultures de *Rhizobium* à la graine est la méthode d'inoculation la plus couramment utilisée pour les légumineuses. Cependant, les arachides décorthiquées sont trop fragiles pour subir une inoculation directe. En outre, le traitement des grains aux fongicides toxiques aux *Rhizobia* [Curley et Burton, 1975] pose un problème supplémentaire pour l'inoculation directe des grains d'arachide. Alternativement, il est possible d'arroser le *Rhizobium* au sol sous forme de grains [Bommier, 1960 ; Fischer, 1966, 1975] ou de l'ajouter sous les grains, dans un liquide [Schiffman *et al.* Alpey, 1968 ; Brockwell *et al.*, 1980]. Pendant les saisons des pluies 1977 et 1978, l'inoculation de grains a été efficace (Tabl. I et II) alors que, pendant les saisons post-pluviales 1979-80 et 1980-81 et la saison des pluies 1980, l'inoculation de grains a été sans effet (Tabl. V et IX). Il est possible que la graine dans les grains inhibe le mouvement capillaire de l'eau vers la graine et, dans des conditions de stress hydrique, il en résulte une mauvaise germination. Pendant la saison des pluies 1980, suite à un stress hydrique initial, les grains inocués avec des grains ont mal germé (73 p. 100) par rapport à 98 p. 100) pour les grains témoin. Cependant, quand les ressources en eau étaient adéquates, l'inoculum en grains n'affaiblissait pas la germination. Les grains de tourbe ou de lignite, telles qu'utilisées par les sociétés commerciales aux Etats-Unis, sont peut-être un meilleur support que le sable. Il a également été observé que l'inoculation directe diminuait le taux de germination des grains pendant la saison des pluies 1980 (observations non publiées).