

BRAGANTIA

Revista Científica do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo

Vol. 35

Campinas, novembro de 1976

N.º 33

PRESENÇA E EFICIÊNCIA DE **RHIZOBIUM JAPONICUM** EM SOLOS CULTIVADOS OU NÃO COM SOJA, NO ESTADO DE SÃO PAULO (1)

ELI SIDNEY LOPES e ANTÔNIO ROBERTO GIARDINI, *Seção de Microbiologia do Solo*, e ROMEU A. S. KIHHL (2), *Seção de Leguminosas, Instituto Agrônomo*

SINOPSE

Foi conduzido um ensaio em solução nutritiva sem nitrogênio, com condições assépticas, usando-se como inoculantes para as plantas amostras de solos LR e LE coletadas em locais já cultivados e não com soja, com o objetivo de verificar a presença de **Rhizobium** capaz de nodular o cultivar santa-rosa.

Verificou-se que solos ainda não cultivados com a leguminosa são desprovidos de **Rhizobium japonicum**, e também que essa bactéria é encontrada em solos previamente cultivados, fixando nitrogênio em quantidades equivalentes à de uma estirpe selecionada.

I — INTRODUÇÃO

A soja apresenta acentuado grau de especificidade com relação à bactéria que com ela se associa, nodulando normalmente apenas com **Rhizobium japonicum** (3). A especificidade tem sido verificada também ao nível de cultivares dessa leguminosa, havendo, entretanto, estirpes de **R. japonicum** que são eficientes em mais de um cultivar (2,5). Por ser a soja uma planta introduzida, e dada a necessidade da bactéria específica para sua nodulação, é pouco provável que essa bactéria ocorra naturalmente em nossos solos, particularmente admitindo-se a evolução dos

(1) Trabalho realizado com apoio financeiro da FAPESP. Os autores agradecem aos Eng.ºs Agr.ºs João Bertoldo de Oliveira e F. Grohmann, da Seção de Pedologia, a classificação dos solos empregados neste estudo. Recebido para publicação em 27 de março de 1976.

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

rizóbios associada à das leguminosas (8). Ela pode, entretanto, ser facilmente introduzida em primeiros cultivos da soja, visto que a inoculação convencional dá resultados satisfatórios quando as condições de solo são favoráveis (9).

Alguns autores sugerem que após dois ou três anos de cultivo sucessivo com soja, a nodulação pode ser abundante e eficiente, mesmo sem prévia inoculação (1). É, portanto, interessante, para fins práticos, o estudo da população de *Rhizobium* do solo capaz de nodular a soja. Há informações de que *Rhizobium* sp, tipo "cow pea", capaz de nodular a soja-perene e o siratro, é autóctone em nossos solos (6).

O objetivo deste estudo foi pesquisar a ocorrência e eficiência de *R. japonicum* em alguns solos, já cultivados ou não com soja.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

Para verificação da presença e eficiência de *R. japonicum*, amostras de solos de algumas localidades foram inoculadas em soja cultivar santa-rosa, em vasos de Leonard com solução nutritiva sem nitrogênio, em condições assépticas, seguindo-se a técnica recomendada por Norris (7).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Seção de Leguminosas, no Centro Experimental de Campinas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições dos seguintes tratamentos:

A —	— Inoculado com	LEa	ainda não cultivado com soja			
B —	—	"	"	LEa já	"	"
C —	—	"	"	LR	ainda não	"
D —	—	"	"	LR	já	"
E —	—	"	"	LEa	ainda não	"
F —	—	"	"	LEa	já	"
G —	—	"	"	LE	orto ainda não	"
H —	—	"	"	LE	orto já	"
I —	—	"	"	LR	ainda não	"
J —	—	"	"	LR	já	"
L —	—	"	"	LR	ainda não	"
M —	—	"	"	LR	já	"
N —	—	"	"	a estirpe SMS-65		
O —	—	Controle	sem	nitrogênio		
P —	—	"	com	nitrogênio		

Os solos identificados pelas letras indicadas na descrição dos tratamentos foram classificados ao nível de grande grupo e apresentavam o seguinte histórico de cultivo:

A e B — Latossolo vermelho-escuro, fase arenosa (LEa), coletado na Estação de São Simão, IPEAME. A amostra do tratamento **A**, em área (lote n.º 116) com vegetação dominante de gramíneas; nunca cultivado com soja; a do tratamento **B**, em parte mais baixa da encosta em área de "intergrade" do LEa para latossolo roxo, com características predominantes do último. No ano anterior fora cultivado com soja que recebeu inoculante do Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas (IBPT), Curitiba, PR.

C e D — Latossolo roxo, coletado no município de Orlândia, SP, Fazenda Mosquito; amostra **C**, em área sob cultivo de algodão (adubado com 625 kg/ha da mistura 3-15-15 (NPK), nunca cultivado com soja; **D**, em área próxima, cultivada com soja nos quatro anos anteriores, sendo nos dois últimos com o cultivar santa-rosa. Inoculação (IBPT) e adubação (500 kg/ha mistura 0-18-6 (NPK) efetuada nos quatro anos.

E e F — Latossolo vermelho-escuro, fase arenosa (LEa), coletado na mesma propriedade da coleta de **C**. Amostra **E** em área de cerrado desmatado, e cultivado em 1971-72, com arroz; solo corrigido (2000 kg calcário/ha) e adubado (500 kg/ha da mistura 3-15-15 (NPK)); amostra **F** em área próxima, mesmo trato, porém cultivada com soja santa-rosa (inoculante IBPT) em 72-73.

G e H — Latossolo vermelho-escuro, orto, coletado no município de Jaguariúna, Fazenda Ribeirão (Holambra-Cooperativa Agropecuária). Amostra **G** em área nunca cultivada com soja, e sob cultivo de mandioca; amostra **H** em área cultivada com soja no ano anterior, inoculada com inoculante de procedência desconhecida.

I e J — Latossolo roxo, série Barão ^(*), coletado no Centro Experimental de Campinas, IAC. Amostra **I** em área nunca cultivada com soja (no anterior, arroz); **J** em área próxima, cultivada no ano anterior com soja inoculada (IBPT).

L e M — Latossolo roxo, série Chapadão ^(*), coletado na mesma propriedade da amostra **I**. Amostra **L**, em área sob cultivo de café, nunca cultivada com soja; amostra **M**, em área próxima, cultivada com soja inoculada (IBPT) em 1970-71 e com feijão em 1972-73.

Os solos identificados pelas letras **A** a **F** foram coletados em 24-5-73 e os de **G** a **L** em 25-5-73, sendo todos conservados em geladeira até o momento da inoculação. As amostragens foram feitas em área homogênea com cerca de 1.000 m², retirando-se assepticamente seis subamostras, na profundidade de 0-20 cm. Todos os cuidados de assepsia foram tomados durante a coleta, transporte, armazenamento e manuseio das amostras, para que contaminações entre os solos ou do ambiente fossem evitadas. As mesmas amostras foram utilizadas para as análises químicas, cujos resultados constam da relação dada a seguir. O cultivar santa-rosa foi empregado como planta-teste.

(*) Segundo o Eng.º Agr.º Francisco Grohmann.

Solo	pH	Carbono (%)	emg/100 ml de T.F.S.A.			
			PO ₄ ^{s-}	K ⁺	Ca ²⁺ + Mg ²⁺	Al ³⁺
A	5,47	1,20	0,03	0,04	0,76	0,90
B	6,09	1,30	0,15	0,23	3,59	—
C	5,83	3,20	0,07	0,15	2,80	—
D	6,26	3,10	0,10	0,16	4,86	—
E	5,80	1,20	0,06	0,10	0,90	—
F	5,93	1,60	0,48	0,13	3,69	—
G	4,96	2,10	0,12	0,10	0,96	1,00
H	4,76	1,90	0,03	0,07	0,36	1,30
I	5,13	1,70	0,03	0,10	1,39	0,50
J	5,51	1,50	0,07	0,16	1,82	—
L	5,03	2,50	0,65	0,55	2,31	0,80
M	6,14	2,30	0,07	0,18	4,90	—

A estirpe SMS-65, procedente da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul (catalogada sob n.º 519 Re), de eficiência já comprovada naquele cultivar (**S**), foi utilizada como tratamento-padrão (**N**). Os tratamentos sem nitrogênio (**O**) e com nitrogênio (**P**) foram incluídos para controle de contaminações e da solução nutritiva, respectivamente.

O plantio foi feito em 18-5-73, com oito sementes esterilizadas por vaso. A esterilização foi efetuada com HgCl₂ 1:1.000, 10 minutos e lavagens posteriores por seis vezes, com água esterilizada. Cinco dias após o plantio desbastou-se deixando duas plantas por vaso; e aos dez dias procedeu-se à inoculação com a estirpe SMS-65, feita com 2 ml/vaso de caldo da cultura com bom crescimento; a dos solos com uma suspensão em água adicionando-se 1 g de solo por vaso. Quando necessárias, as irrigações eram feitas com água fervida, adicionando-se a água no recipiente da solução nutritiva, para minimizar as chances de contaminações. As adições de nitrogênio (tratamento **P**) foram feitas com 5 ml de uma solução 0,27% de NH₄NO₃, no dia da inoculação e sempre que as plantas mostravam início de sintoma de deficiência desse nutriente. Pulverizações preventivas com acaricidas foram efetuadas regularmente.

A colheita das plantas foi feita 73 dias após o plantio, usando-se jatos d'água nos vasos mantidos em posição invertida, removendo-se o sistema radicular intacto. Os nódulos foram contados, secos a 60°C e pesados. As plantas (com raízes) foram também secas e pesadas.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de peso seco das plantas e dos nódulos, e de número de nódulos, observados aos 73 dias após o plantio, estão no quadro 1.

A ausência de nódulos nos tratamentos não inoculados (**O** e **P**) sugere que não houve problemas de contaminações durante a condução do expe-

QUADRO 1. — Dados médios de duas plantas de soja cv. santa-rosa, que vegetaram em solução nutritiva sem nitrogênio (vasos de Leonard), inoculadas com estirpe eficiente de *Rhizobium japonicum* e com amostra de latossolo roxo e latossolo vermelho-escuro coletadas em áreas anteriormente cultivadas ou não com soja (*)

TRATAMENTO (inoculação com)	Peso seco das plantas	NÓDULOS (**)	
		Número	Peso seco
	g/vaso	$\sqrt{n.º}$	$\sqrt{\text{mg/vaso}}$
LEa (A)	2,47	0	0
LEa (B)	4,18	6,34	11,46
LR (C)	2,76	0	0
LR (D)	5,29	6,95	13,80
LEa (E)	2,28	0	0
LEa (F)	4,19	6,16	14,68
LE orto (G)	2,49	0	0
LE orto (H)	2,85	0,77	4,00
LR (I)	2,50	0	0
LR (J)	4,63	7,21	17,14
LR (L)	2,30	1,50	5,78
LR (M)	4,65	7,62	19,49
R. japonicum (SMS-65) .	4,12	9,05	12,21
dms (5,0%)	1,40	2,16	4,84
CV%	18,44	15,30	17,61
Controle	2,38	0	0
Controle + nitrogênio	6,12	0	0

(*) Amostras A, C, E, G, I e L, coletadas em áreas nunca cultivadas com soja; demais amostras, em áreas previamente cultivadas com essa leguminosa.

(**) Tratamentos sem nódulos ou com nodulação irrisória não foram considerados na análise estatística.

rimento. O aspecto normal e o peso das plantas do tratamento com adição de nitrogênio (P), bem como a presença de nódulos e bom desenvolvimento das plantas no tratamento de inoculação com a estirpe-padrão (N) indicam que a solução nutritiva empregada era adequada.

Como pode ser observado no quadro, não houve formação de nódulos nos tratamentos com inoculação de solo nunca cultivado com soja, com exceção do LR, série Chapadão (L), sob cultivo de café. As plantas inoculadas com esse solo apresentaram alguns nódulos que não influenciaram, entretanto, o peso das plantas. Em função da ausência de nódulos e portanto de fixação de nitrogênio, o peso seco das plantas inoculadas

com esses solos foi da mesma magnitude do tratamento sem adição de nitrogênio e sem inoculação (O). A ausência de nódulos nestes tratamentos indica que a espécie **Rhizobium japonicum**, capaz de nodular o cultivar santa-rosa, não é indígena dos solos estudados. A nodulação que eventualmente se observa em condições de campo deve ser proveniente de estirpes introduzidas com a inoculação em cultivos anteriores, ou por outros meios. Convém observar que Bonier e Brakel (1) sugerem que com o cultivo sucessivo de soja há adaptação de **Rhizobium** sp. a essa leguminosa, tornando-se essa associação eficiente após quatro anos de cultivo. Dados experimentais que comprovem essa assertiva não foram localizados.

Com relação aos tratamentos de inoculação com solos já cultivados, todas as plantas estavam noduladas, o que corrobora a afirmativa da ausência de **Rhizobium japonicum** indígena.

O número e peso seco de nódulos observados com o LE orto já cultivado com soja foram inexpressivos, e por isso não considerados na análise estatística. Para os demais tratamentos de inoculação com solos já cultivados observa-se que o número de nódulos provocado pelas inoculações com os solos LR, séries chapadão e barão, e o coletado em Orlândia, não diferiram estatisticamente da nodulação das plantas inoculadas com a estirpe-padrão, que apresentou maior valor absoluto de número de nódulos. Os menores números de nódulos foram observados nos tratamentos de inoculação com LEa (São Simão e Orlândia), que são estatisticamente diferentes do da estirpe-padrão.

Para peso seco de nódulos, não foram observadas diferenças estatísticas entre a inoculação com a estirpe SMS-65 e os solos LEa (São Simão e Orlândia) e LR (Orlândia), que apresentaram os menores valores de peso de nódulos. Os maiores valores foram observados na inoculação com LR (Chapadão e Barão), superando significativamente os da estirpe-padrão.

Para a análise estatística do peso seco das plantas, não foram considerados os tratamentos sem inoculação, com ou sem adição de nitrogênio. Os tratamentos inoculados com a estirpe SMS-65 ou com solos já cultivados com soja, com exceção do LEa (orto) de Jaguariúna, foram semelhantes, com produções maiores e significativamente diferentes (5%) dos tratamentos com solos nunca cultivados com soja.

Esses resultados indicam que as estirpes presentes nesses solos são tão eficientes quanto a estirpe-padrão previamente selecionada.

As diferenças no peso de nódulos, para estirpes de mesma eficiência, como se observa no quadro 1, pode ser explicada com base em observações anteriores (5) de que o número ou peso de nódulos não são os melhores índices para avaliação da eficiência. Deve ser lembrado, também, que a presença de outros microrganismos, como é o caso das plantas inoculadas com solo, pode influenciar o peso de nódulos (4).

Em experimentos anteriores, conduzidos com solos LE orto, LVa, Pml e LR, verificou-se que **Rhizobium** tipo "cow pea", capaz de nodular soja-perene e siratro, é autóctone nesses solos (6). Para o siratro a associação não foi eficiente apenas com o LR, e para a soja a eficiência foi verificada apenas no Pml.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que há necessidade de inoculação da soja em nossas condições, pelo menos quando em primeiro ano de cultivo. Por outro lado, a presença de **Rhizobium** em solos já cultivados com essa leguminosa, na maioria dos casos com associação eficiente, conforme comprovado, não é o bastante para sugerir que em terrenos com cultivo prévio a inoculação seja dispensável. Isso porque a maioria das amostras foram coletadas logo após a colheita da soja e também porque não há informações sobre a magnitude da população de **Rhizobium** presente nos solos em estudo.

4 — CONCLUSÕES

a) Solos dos grandes grupos Latossolo Vermelho-Escuro (orto e fase arenosa) e Latossolo Roxo são desprovidos de **Rhizobium japonicum** capaz de nodular soja cultivar santa-rosa, indicando, portanto, necessidade de inoculação dessa leguminosa.

b) Solos dos mesmos grandes grupos, já cultivados com soja inoculada, apresentam **Rhizobium japonicum** capaz de nodular com eficiência o cultivar santa-rosa.

PRESENCE AND EFFICIENCY OF **RHIZOBIUM JAPONICUM** IN SOILS PREVIOUSLY CULTIVATED AND NEVER CULTIVATED WITH SOYBEANS

SUMMARY

An experiment was carried out in Leonard jars using Latosolic B Terra Roxa and Dark Red Latosol soil samples as inoculum to detect the presence and efficiency of rhizobia able to nodulate cultivar Santa-Rosa of soybean (*Glycine max.* (L) Merrill).

Results have shown that no rhizobia were present in those soils. **Rhizobium japonicum** with efficiency comparable to a selected strain survived in the same soils, when they were previously cropped with inoculated soybeans.

LITERATURA CITADA

1. BONNIER, C. & BRAKEL, J. Lutte biologique contra la faim, legumineuses-**Rhizobium**. 1. ed. Gembloux, J. Duculot S.A., 1969. 148p.

2. DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N. B. & PENTEADO, A. F. Especificidade hospedeira, em variedades de soja, na simbiose com *Rhizobium*. Pesq. agropec. bras. 1:207-210, 1966.
3. GALLI, F. Inoculações cruzadas com bactérias dos nódulos de leguminosas tropicais. Rev. Agric. 33:139-152, 1958.
4. GUZMAN, I. & DÖBEREINER, J. Effect of *Azotobacter chroococum* and tryptophan on the inoculation of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) with *Rhizobium japonicum*. In: Reunião Americana Sobre Inoculantes para Leguminosas, 4.ª. Porto Alegre, 1968. Anais. p.46-46.
5. LOPES, E. L.; GIARDINI, A. R.; KIIHL, R. A. S. & IGUE, T. Especificidade hospedeira e pré-seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* para as variedades santa-rosa, viçôja e IAC-2 de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Bragantia* 35:1-11, 1976.
6. ———; LOVADINI, L. A. C.; GARGANTINI, H. & IGUE, T. 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* 31:235-248, 1972.
7. NORRIS, D. O. Technique used in work *Rhizobium*. In: Some concepts and methods in subtropical pasture research. Farnham Royal, Com. Agric. Bur. Bull. 47:186-198.
8. ———. Legume and *Rhizobium* symbiosis. *Empire J. Exper. Agric.* 24(96):247-270, 1956.
9. WEBER, D. F.; CALDWELL, B. E.; SLOGER, C. & WEST, H. G. some USDA studies on the soybean-*Rhizobium* symbiosis. *Plant and Soil*, Special Volume, 1971. p.293-304.