

EFEITO RESIDUAL DA VINHAÇA NA POPULAÇÃO AUTÓCTONE DE *RHIZOBIUM* DO SOLO (1)

ELI SIDNEY LOPES (2,4), SONIA CRISTINA PERÓN (3),
EDILBERTO PRINCI PORTUGAL (3) e ANTONIO ROBERTO GIARDINI (2,4,5)

RESUMO

A adição de vinhaça na cultura canavieira tem sido praticada em áreas próximas às usinas de cana. Seria de interesse a avaliação do efeito da vinhaça no *Rhizobium* presente no solo (autóctone), uma vez que leguminosas têm sido indicadas para cultivo intercalar com a cana. Um experimento foi conduzido em casa de vegetação, com o objetivo de verificar a influência da aplicação contínua, durante três anos, de concentrações crescentes de vinhaça (0, 100 e 1.000 m³/ha/ano), com intervalos de seis meses entre aplicações, na população autóctone de *Rhizobium* que nodula amendoim, soja, feijão e crotalária. Em cada cultura, foram usados controle com solo sem adição da vinhaça e um tratamento inoculado com uma estirpe de *Rhizobium* de conhecida eficiência, recomendada para a cultura. Uma análise do efeito de uma dose adicional de 1,5 ppm do herbicida 2,4-D no tratamento com 100 m³/ha/ano foi também efetuada. Apesar de os resultados serem variados entre as culturas, ocorreram efeitos da vinhaça sobre a população de *Rhizobium*, causando aumentos de nodulação na crotalária e diminuição no amendoim. Não foram observados efeitos na nodulação do feijoeiro em nenhum dos tratamentos com a vinhaça, nem na soja, que nodulou somente com a dose mais elevada, sugerindo que o *Rhizobium japonicum* no solo estudado estava presente em baixo número. O tratamento com herbicida mostrou tendência de favorecer a nodulação e, conseqüentemente, a fixação biológica de N₂, medida através do N na planta.

Termos de indexação: *Rhizobium* autóctone, vinhaça, leguminosas.

(1) Trabalho executado com recursos financeiros do Convênio IAC/MIC STI/FUNAT. Apresentado na 11ª Reunião Latino-Americana sobre *Rhizobium*, 1982, Peru. Recebido para publicação em 13 de março de 1985.

(2) Seção de Microbiologia do Solo, Instituto Agronômico (IAC), Caixa Postal 28, 13001 Campinas (SP).

(3) Biologista, estagiário da Seção de Microbiologia do Solo, IAC.

(4) Com bolsa de suplementação do CNPq.

(5) † em 1985.

1. INTRODUÇÃO

A adição de vinhaça no solo provoca mudanças temporárias na população de microrganismos do solo, proporcionando, porém, alterações diversas em processos biológicos e químicos como: decomposição da matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação, fixação do N_2 atmosférico, elevação do pH etc. (LIMA, 1980).

CAMARGO (1954) constatou um aumento da população microbiana em solos tratados com vinhaça. RUSCHEL & SAITO (1977) observaram que o bagacilho de cana adicionado ao solo proporcionou melhores condições para o estabelecimento de *Rhizobium*, aumentando a fixação do N_2 .

A utilização de práticas como o cultivo intercalar de leguminosas de grão na cultura de cana, assim como de adubação verde nas áreas dessa cultura, tende a aumentar. Portanto, o conhecimento da influência do uso contínuo da vinhaça, na sobrevivência da população autóctone e no *Rhizobium* introduzido com a inoculação, tornou-se um aspecto ecológico de grande interesse prático a ser pesquisado, para a formação de conhecimentos que permitam recomendações seguras da aplicação de vinhaça ao solo.

O objetivo deste trabalho consistiu em verificar a presença e capacidade de nodulação de *Rhizobium* spp., autóctone, que nodulasse soja, feijão, amendoim e crotalária, em solo submetido a aplicação contínua e prolongada de vinhaça.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, durante o período dezembro de 1981–fevereiro de 1982. Quatro leguminosas foram cultivadas em vasos de Leonard, com solução nutritiva, seguindo a técnica recomendada por NORRIS (1964), e inoculadas com solo coletado de parcelas de um experimento de campo que estava sendo conduzido na Estação Experimental de Limeira, e onde haviam sido aplicadas várias doses de vinhaça e/ou do herbicida 2,4-D em dose equivalente a 1,5 ppm ⁽⁶⁾.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições dos seguintes tratamentos como fonte de inóculo:

- solo sem vinhaça (SV);
- solo com $100m^3/ha$ de vinhaça (V.100);
- solo com $100m^3/ha$ de vinhaça + herbicida 2,4-D (V.100 + he);
- solo com $1.000m^3/ha$ de vinhaça (V.1.000);
- estirpe de *Rhizobium* (extra).

⁽⁶⁾ LOPES, E.S.; PERÓN, S.C.; PORTUGAL, E.P. & CAMARGO, O.A. Atividade respiratória da microflora de solos tratados com vinhaça. Em preparo para publicação.

Foram incluídos alguns vasos extras, sem nitrogênio, não inoculados, para controle de contaminação, e estudadas as leguminosas seguintes:

- amendoim, *Arachis hypogaea* L. cv. Tatu;
- soja, *Glycine max* (L.) Merrill cv. IAC-8;
- feijão, *Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca;
- crotalária, *Crotalaria juncea* (L.) cv. IAC-1.

Antes do plantio, as sementes foram desinfestadas com HgCl_2 a 1:1.000 por dez minutos, e lavadas com água esterilizada.

As inoculações foram feitas no desbaste, utilizando-se 10ml de solo a 10% em água esterilizada por vaso. Para o tratamento com estirpes de *Rhizobium*, foram utilizados, por vaso, 2ml de uma densa suspensão bacteriana em meio de cultura. Foram empregadas as estirpes SMS-2 para o amendoim, SMS-65 (= SEMIA 519 Re) para a soja, SMS-358 para a crotalária e SMS-442 (= SEMIA 487) para o feijão.

As plantas foram colhidas aos 63 dias do plantio, separando-se os nódulos para contagem e pesagem. A parte aérea foi seca, pesada e moída para determinação de nitrogênio total pelo método sugerido por BATAGLIA et alii (1978). O tratamento extra, de inoculação de estirpes eficientes, não entrou na análise estatística.

3. RESULTADOS

As plantas dos vasos não inoculados não apresentaram nódulos e as inoculadas com as estirpes padrões apresentaram melhor desenvolvimento e nodulação, para as quatro leguminosas, demonstrando que o experimento foi conduzido em condições satisfatórias.

Nos quadros 1, 2, 3 e 4, encontram-se os dados de peso e nitrogênio total da parte aérea e a nodulação obtida pela soja, crotalária, feijão e amendoim respectivamente.

Soja: Somente as plantas inoculadas com solo tratado com $1.000\text{m}^3/\text{ha}$ de vinhaça apresentaram de um a três nódulos por vaso, sendo esses de tamanho muito maior do que aqueles formados pela estirpe padrão, SMS-65.

Crotalária: O tratamento inoculado com solo que recebeu $1.000\text{m}^3/\text{ha}$ de vinhaça aumentou significativamente a nodulação das plantas, nas condições deste ensaio. Conseqüentemente, houve uma incorporação significativamente maior de nitrogênio nessas plantas e maior peso da parte aérea.

Também o tratamento de $100\text{m}^3/\text{ha}$ + herbicida proporcionou aumento de nodulação, nitrogênio assimilado e peso da matéria seca estatisticamente semelhantes aos do tratamento com $1.000\text{m}^3/\text{ha}$ e superior aos tratamentos com $100\text{m}^3/\text{ha}$ de vinhaça sem herbicida e ao sem aplicação de vinhaça.

Feijão: Não houve diferença significativa na nodulação das plantas. Houve, porém, uma tendência para diminuir a nodulação nos solos tratados com vinhaça. A nodulação do feijoeiro inoculado com solo que recebeu 1.000m³/ha foi 45% menor que nas plantas inoculadas com solo sem vinhaça. A nodulação do solo com 100m³/ha, com ou sem herbicida, foi, em média, 35% menor que a do solo sem vinhaça. Também os pesos das partes aéreas das plantas inoculadas com os solos tratados com 1.000m³/ha, 100m³/ha e 100m³/ha + herbicida, foram respectivamente 60, 37 e 31% menores que o peso da parte aérea das plantas inoculadas com solo sem vinhaça.

O nitrogênio incorporado pelas plantas inoculadas com os solos foi estatisticamente semelhante, porém, enquanto o solo sem vinhaça causou nodulação capaz de incorporar uma quantidade de nitrogênio semelhante à incorporada pela estirpe padrão, a nodulação dos solos com 1.000m³/ha, 100m³/ha e 100m³/ha + herbicida, incorporou respectivamente 59, 38 e 20% menos nitrogênio.

QUADRO 1. Médias do peso e do nitrogênio total da parte aérea e dos nódulos de soja cultivada em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculada com uma estirpe de *Rhizobium* (SMS-65) ou com solo previamente tratado com diferentes doses de vinhaça. Médias de seis parcelas com duas plantas/vaso

Tratamento (1)	Peso da parte aérea (2)	N - total da parte aérea	Peso dos nódulos (2)
	g	mg	mg
SMS-65	5,44	465,67	425,33
S.V.	1,84	50,33	0
V.100	1,97	45,64	0
V.100 + he	2,24	56,22	0
V.1.000	2,09	54,48	52,05
D.M.S.	n.s.	n.s.	-
C.V.	18%	21%	-

(1) SV: solo sem vinhaça; V.100: solo com 100m³/ha de vinhaça; V.100 + he: solo com 100m³/ha de vinhaça + herbicida 2,4-D; V.1.000: solo com 1.000m³/ha de vinhaça.

(2) As plantas e os nódulos foram secos a 60°C até peso constante.

Amendoim: A nodulação das plantas de amendoim diminuiu quando inoculadas com solo com 1.000m³/ha de vinhaça. Também no tratamento de 100m³/ha, houve uma diminuição da nodulação que foi significativa. O tratamento que recebeu 100m³/ha de vinhaça + herbicida foi semelhante ao sem vinhaça.

O peso da parte aérea e o nitrogênio incorporado pelas plantas inoculadas com solo sem vinhaça foram superiores às plantas inoculadas com solos tratados com 100m³/ha com e sem herbicida, que, por sua vez, foram superiores ao tratamento com 1.000m³/ha.

4. DISCUSSÃO

A aplicação da vinhaça parece ter um efeito variado sobre a população de *Rhizobium* do solo. Enquanto para a crotalária houve aumento da nodulação, para o amendoim houve diminuição, principalmente na dose de 1.000m³/ha de vinhaça. Ambas as leguminosas nodulam com *Rhizobium* sp. tipo "Cow pea", e pelas variações nos resultados de nodulação (Quadros 2 e 4), verifica-se que as bactérias que nodularam estas plantas deviam ser de estirpes diferentes.

QUADRO 2. Médias do peso e do nitrogênio total da parte aérea e dos nódulos de crotalária cultivada em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculada com uma estirpe de *Rhizobium* (SMS-358) ou com solo previamente tratado com diferentes doses de vinhaça. Médias de seis parcelas com duas plantas/vaso

Tratamento (1)	Peso da parte aérea (2)	N - total da parte aérea	Peso dos nódulos (2)
	g	mg	mg
SMS-358	6,39	148,51	390,63
S.V.	1,76bc	43,49ab	111,77b
V.100	1,26c	23,92b	78,95b
V.100 + he	2,30ab	59,15a	166,45ab
V.1.000	2,40a	61,59a	225,27a
D.M.S.	0,61	21,40	3,87(3)
C.V.	19%	28%	20%

(1) SV: solo sem vinhaça; V.100: solo com 100m³/ha de vinhaça; V.100 + he: solo com 100m³/ha de vinhaça + herbicida 2,4-D; V.1.000: solo com 1.000m³/ha de vinhaça.

(2) As plantas e os nódulos foram secos a 60°C até peso constante.

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

Para o feijoeiro, a análise estatística revelou não haver diferenças significativas. Foram observadas diminuições de 45, 34 e 37% no valor absoluto do peso de nódulos para os tratamentos com 1.000m³/ha, 100m³/ha, 100m³/ha + herbicida respectivamente, em relação ao solo sem vinhaça. Essa tendência da vinhaça em inibir a população de *Rhizobium phaseoli* talvez seja devida a uma menor capacidade de sobrevivência em solos com esse resíduo (problemas de concentração de sais ou de pH). Isso também poderia explicar o ocorrido com o amendoim (tratamento V.1.000).

Na soja, não houve nodulação, à exceção do tratamento com 1.000m³/ha de vinhaça. Como o solo estudado foi coletado em área nunca cultivada com soja, provavelmente não havia *Rhizobium japonicum* nesse solo, conforme comumente se observa nessas condições (LOPES et alii, 1976).

O fato de o tratamento com 100m³/ha + herbicida haver incrementado a nodulação e o peso da parte aérea, em relação ao tratamento sem herbicida, fica difícil de ser explicado, e merece novos estudos.

QUADRO 3. Médias do peso e do nitrogênio total da parte aérea e dos nódulos de feijão cultivado em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculado com uma estirpe de *Rhizobium* (SMS-442) ou com solo previamente tratado com diferentes doses de vinhaça. Médias de seis parcelas com duas plantas/vaso

Treatment (1)	Weight of aerial part (2)	N - total of aerial part	Weight of nodules (2)
	g	mg	mg
SMS-442	5,94	45,07	385,46
S.V.	5,20	38,65	362,18
V.100	3,81	24,08	239,53
V.100 + he	3,58	31,10	307,17
V.1.000	2,08	16,01	126,17
D.M.S.	n.s.	n.s.	n.s.
C.V.	72%	62%	59%

(1) SV: solo sem vinhaça; V.100: solo com 100m³/ha de vinhaça; V.100 + he: solo com 100m³/ha de vinhaça + herbicida 2,4-D; V.1.000: solo com 1.000m³/ha de vinhaça.

(2) As plantas e os nódulos foram secos a 60°C até peso constante.

QUADRO 4. Médias do peso e do nitrogênio total da parte aérea dos nódulos de amendoim cultivado em solução nutritiva sem nitrogênio e inoculado com uma estirpe de *Rhizobium* (SMS-2) ou com solo previamente tratado com diferentes doses de vinhaça. Médias de seis parcelas com duas plantas/vaso

Tratamento ⁽¹⁾	Peso da parte aérea ⁽²⁾	N - total da parte aérea	Peso dos nódulos ⁽²⁾
	g	mg	mg
SMS-2	5,48	160,51	205,0
S.V.	4,29a	119,97a	84,9a
V.100	3,66ab	57,62bc	45,6b
V.100 + he	3,49ab	70,96b	54,6ab
V.1.000	2,91c	27,37c	4,8c
D.M.S.	1,20	43,68	2,11 ⁽³⁾
C.V.	21%	39%	20%

⁽¹⁾ SV: solo sem vinhaça; V.100: solo com 100m³/ha de vinhaça; V.100 + he: solo com 100m³/ha de vinhaça + herbicida 2,4D; V.1.000: solo com 1.000m³/ha de vinhaça.

⁽²⁾ As plantas e os nódulos foram secos a 60°C até peso constante.

⁽³⁾ Para análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{x + 1}$.

SUMMARY

RESIDUAL EFFECTS OF SUGAR CANE VINASSE ON INDIGENOUS *RHIZOBIA*

The addition of vinasse on sugar cane plantations nearby alcohol fermentation plants is a common practice. Legumes are recommended to be intercropped with sugar cane. A greenhouse experiment was carried out with the objective of verifying the influence of continuous application of vinasse (0; 100 and 1000 m³/ha/year) at six month interval during three years on soil *rhizobia* which nodulate peanuts, soybeans, dry-beans and crotalaria. Controls without vinasse and with efficient *Rhizobium* sp. strain were maintained. The effect of 2,4 D application on the 100 m³ vinasse/ha treatment was also studied. Although results were variable and dependent on crop, the addition of vinasse influenced the *rhizobia* population, causing for instance, reductions on nodulation of peanuts and increases on that of

crotalaria; no effects were observed either on drybeans or soybeans. Indigenous population of soybean *Rhizobium* was inexpressive. The herbicide treatment showed tendency to favour nodulation and consequently N_2 fixation.

Index terms: indigenous *rhizobia*, sugar cane stillage, leguminous plant.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATAGLIA, O.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R. & FURLANI, A.M.C. Análise química de plantas. Campinas, Instituto Agronômico, 1978. 31p. (Circular, 87)
- CAMARGO, R. O desenvolvimento da flora microbiana nos solos tratados com vinhaça. Piracicaba, Instituto Zimotécnico, 1954. 44p. (Boletim, 8)
- LIMA, I.T. Efeitos da aplicação de vinhaça sobre a microflora do solo. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural, 1980. 150p. Tese. (Mestrado)
- LOPES, E.S.; GIARDINI, A.R. & KIIHL, R.A.S. Presença e eficiência de *Rhizobium japonicum* em solos cultivados ou não com soja, no Estado de São Paulo. *Bragantia*, Campinas, **35**(33):389-396, 1976.
- NORRIS, D.O. Techniques used in work *Rhizobium*. In: SOME concepts and methods in subtropical pasture research. Brisbane, Farnahn Royal Comm. Agric. Burn., 1964. p.186-198. (Bulletin, 47)
- RUSCHEL, A.P. & SAITO, S.M.T. Efeito da inoculação de *Rhizobium*, nitrogênio e matéria orgânica na fixação simbiótica de nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, **1**(1):21-24, 1977.