

BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agronômico do Estado de S. Paulo

Vol. 30

Campinas, novembro de 1971

N.º 15

CAPACIDADE FIXADORA DE NITROGÊNIO DE *RHIZOBIUM* AUTÓCTONE ASSOCIADO COM SOJA PERENE E SIRATRO, EM DOIS SOLOS DO ESTADO DE SÃO PAULO (1)

ELI S. LOPES, *engenheiro-agrônomo, Seção de Fertilidade do Solo*, L. A. C. LOVADINI, *engenheiro-agrônomo, Seção de Leguminosas*, H. GARGANTINI, *engenheiro-agrônomo, Seção de Fertilidade do Solo*, S. MIYASAKA, *engenheiro-agrônomo, Seção de Leguminosas, Instituto Agronômico*, e JOSÉ C. LEON (2)

SINOPSE

Com o objetivo de avaliar a fixação do nitrogênio atmosférico pela população de *Rhizobium* sp., que ocorre naturalmente nos solos do Estado de São Paulo e que se associa simbioticamente com as leguminosas soja perene e siratro, foram conduzidos dois ensaios em vasos de Leonard.

Os dados mostram que as populações de *Rhizobium* sp. presentes em Latossolo Roxo e Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, sob vegetação natural de cerrado, não fixaram nitrogênio em quantidades comparáveis àquelas devidas à inoculação com estirpes puras. Verificou-se, ainda, influência altamente favorável do cultivo da soja perene na população de *Rhizobium* que se associa com siratro, presente no Latossolo Roxo.

1 — INTRODUÇÃO

Em geral, a fixação do nitrogênio por estirpes que ocorrem naturalmente nos solos tem sido avaliada de forma indireta, através da observação da nodulação e da produção de plantas em canteiros testemunhas, nos ensaios de inoculação, ou das respos-

(1) Trabalho apresentado à V Reunião Latino-Americana de *Rhizobium*, realizada no Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul, Rio de Janeiro, de 22 a 24 de julho de 1970. Recebido para publicação em 1.º de julho de 1971.

(2) Quintanista da E.S.A.L.Q., Piracicaba, estagiário na Seção de Fertilidade do Solo, em julho de 1969.

tas à aplicação de nitrogênio, nos ensaios de adubação de leguminosas. Existem indicações (3, 4, 5, 7) de que é razoável a nodulação natural em soja perene (*Glycine wightii* Verdc.), amendoim-de-veado (*Teramnus uncinatus* Sw.), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* D.C.), feijão-baiano (*Vigna sinensis* (L.) Savi), centrosema (*Centrosema pubescens* Benth) e amendoim (*Arachis hypogaea* L.).

Os ensaios aqui relatados foram conduzidos com o objetivo de avaliar, em vasos de Leonard, para soja perene (*Glycine wightii* Verdc.) e siratro (*Phaseolus atropurpureus* Moç. et Sesse), a fixação de nitrogênio atmosférico, pela população de *Rhizobium* sp., natural em dois Grandes Grupos de solos do Estado de São Paulo.

2 — MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram instalados em casa de vegetação, no Centro Experimental de Campinas, empregando-se vasos de Leonard com solução nutritiva isenta de nitrogênio e preparados segundo a técnica descrita por Norris (6). Foi utilizada, como substrato, areia de rio lavada com ácido clorídrico. Cada vaso continha cerca de 800 cc de areia.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições dos seguintes tratamentos:

1. Testemunha.
2. Testemunha com nitrogênio.
3. Inoculação com uma mistura de estirpes puras de *Rhizobium* sp.
4. Inoculação com Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, sob vegetação de cerrado.
5. Inoculação com Latossolo Roxo, sob vegetação de cerrado.
6. Inoculação com Latossolo Roxo, sob vegetação de soja perene.
7. Inoculação com uma mistura dos três solos já esterilizados.

O tratamento testemunha constou da solução nutritiva isenta de nitrogênio.

O Latossolo Roxo foi coletado na Estação Experimental do Ministério da Agricultura, município de São Simão. O sojal de onde foi coletado o solo para o tratamento 6 fôra plantado dois anos antes e apresentava bom desenvolvimento.

O Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa foi coletado nas proximidades de Piraçununga, onde a vegetação dominante era de capim-barba-de-bode (*Aristida palens* Cav.), aparecendo também árvores de pequeno porte, algumas da família das leguminosas, como o barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam* Mart.).

Para cada solo, cerca de 20 subamostras foram retiradas de área de 1 ha, aproximadamente, obtendo-se uma amostra composta. As amostras de solo foram mantidas em refrigerador, durante não mais de 10 dias, até o preparo do inóculo.

Para a inoculação com solo, em ambos os ensaios adicionaram-se 2 g de solo não esterilizado, para os tratamentos em que este aparecia como inóculo, e mais 2 g de cada um dos outros solos esterilizados. Essa adição foi feita sob forma de suspensão, em água esterilizada. Para o tratamento 7, amostras dos três solos foram esterilizadas e adicionadas nas mesmas quantidades adotadas nos tratamentos em que apareciam como inóculo.

Para o tratamento de inoculação com estirpes puras, no ensaio com soja perene utilizaram-se 5 ml, por vaso, de uma suspensão a 20%, de um inoculante turfoso, de preparação recente, com uma mistura de três estirpes de elevada capacidade de fixação de nitrogênio. Essas estirpes estão catalogadas no Instituto Agrônomico, sob n.º SFS-208, SFS-288 e SFS-404. Para o mesmo tratamento, no ensaio com siratro empregou-se 1 ml por vaso de uma mistura de culturas das estirpes SFS-172 e SFS-189 com bom crescimento e que haviam sido isoladas de nódulos de siratro, porém de eficiência fixadora desconhecida.

As sementes usadas foram obtidas na Seção de Leguminosas, Instituto Agrônomico, empregando-se o cultivar siratro e, para soja, o cultivar I-804.

As sementes de soja perene foram tratadas com ácido sulfúrico concentrado, durante 5 minutos, e lavadas seis vezes com água esterilizada. As de siratro foram esterilizadas com HgCl₂ 1:1000, durante 3 minutos, e lavadas seis vezes com água esterilizada.

Os ensaios foram instalados em 15 de julho de 1969, tendo-se plantado 20 sementes por vaso. A germinação das leguminosas iniciou-se em 21/7. As adições de inóculo, nitrogênio e solo esterilizado foram feitas no dia 25/7, tendo-se primeiramente efetuado os tratamentos não inoculados. Tomou-se o máximo cuidado para evitar contaminações. A adição de nitrogênio (tratamento 2) foi efetuada na base de 10 ml por vaso, com solução de NH_4NO_3 (2,7 g/l), no mesmo dia em que se realizaram as outras adições. Novas aplicações de nitrogênio foram executadas no decorrer do ensaio.

O desbaste, para três plantas de soja perene e uma de siratro, por vaso, foi feito em 30/7, e a colheita, aos 78 dias após o plantio, utilizando-se jatos de água para a remoção das plantas dos vasos. Os nódulos foram separados, secos a 65-70°C, pesados e contados. As plantas foram também secas à mesma temperatura e pesadas.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

No quadro 1 são apresentados os resultados médios dos pesos secos das plantas e dos nódulos, assim como número de nódulos observados nos ensaios com soja perene e com siratro.

A presença de nódulos nos tratamentos de inoculação com solos esterilizados, no ensaio com soja perene (tratamento 7), e nos tratamentos sem adições de solo ou inóculo, no ensaio com siratro (tratamentos 1, 2 e 7), evidentemente não era esperada. Pelos resultados de peso seco dos nódulos e das plantas pode-se observar que essas contaminações pouco interferiram na interpretação dos resultados.

Os tratamentos com adição de nitrogênio foram incluídos com a finalidade de dar a apreciar o desenvolvimento das plantas com a solução nutritiva empregada, tendo-se observado que o desenvolvimento foi normal nos dois ensaios.

Para facilidade de exposição, serão apresentadas em separado as características estudadas, para cada uma das culturas.

3.1 — INFLUÊNCIA DOS TRATAMENTOS NA NODULAÇÃO

3.1.1 — ENSAIO COM SOJA PERENE

A nodulação propiciada pelo *Rhizobium* sp., presente no Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa e no Latossolo Roxo sob

QUADRO 1. — Dados obtidos em ensaios realizados em vasos de Leonard, para verificação da capacidade de fixação de nitrogênio de *Rhizobium* sp. autóctone, que se associa com soja perene e siratro, em Latossolo Roxo (LR) e Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa (LVa), em comparação com estirpes puras

Tratamento	Pêso seco das plantas		Nódulos		Pêso seco dos nódulos	
	Soja (*)	Siratro (**)	Soja (*)	Siratro (**)	Soja (*)	Siratro (**)
	g	g	n.º	n.º	mg	mg
1. Testemunha	0,21	0,19	0	1,6	0	15,3
2. Testemunha com nitrogênio	2,69	1,58	0	1,6	0	11,7
3. Inoculação com estirpes puras	2,93	1,60	38,7	49,0	129,3	76,7
4. Inoculação com LVa sob cerrado	0,29	0,59	2,3	6,0	9,0	47,0
5. Inoculação com LR sob cerrado	0,57	0,92	1,3	12,3	7,3	77,3
6. Inoculação com LR sob soja perene ..	2,12	4,07	18,0	63,0	52,7	237,0
7. Adição de LR (sob cerrado e soja perene) e LVa esterilizados	0,30	0,47	0,3	6,0	2,3	45,0
d.m.s. (nível de 5%)	0,86	1,54	---	---	35,9	163,5

(*) Médias de 3 plantas.

(**) Dados de 1 planta.

vegetação de cerrado, foi muito inferior àquela observada no tratamento de inoculação com estirpes puras, de elevada eficiência de fixação de nitrogênio. A análise estatística revelou diferença significativa (nível de 5%) entre este tratamento e os dois anteriormente citados. Verificou-se que nesses solos não ocorrem, ou ocorrem em pequeno número, bactérias capazes de fixar o N_2 em simbiose com essas leguminosas. O coeficiente de variação foi de 23%.

É interessante notar que, no tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene, o peso seco dos nódulos foi significativamente maior (nível de 5%) que o dos nódulos do tratamento de inoculação com o mesmo solo, porém sob vegetação de cerrado. Este aumento refletiu na produção. No entanto, o peso seco dos nódulos do tratamento 6 foi significativamente menor que o do tratamento 3. É importante ressaltar que a relação peso das plantas/peso dos nódulos foi quase duas vezes maior para o tratamento inoculado com Latossolo Roxo sob soja perene, indicando, possivelmente, maior eficiência por unidade de tecido nodular. Döbereiner e outros (2) observaram, para a soja comum, a existência de um grupo de estirpes com excepcional eficácia nodular.

O aumento da nodulação decorrente da presença da vegetação de soja perene, no Latossolo Roxo, merece certo destaque. Pode ser devido a um mecanismo de "adaptação", como mencionado por Bonnier e Brakel (1), de *Rhizobium* não específico, já existente no solo, ou, então, a um aumento do número de *Rhizobium* "específico", existente no solo, porém em número insuficiente.

3.1.2 — ENSAIO COM SIRATRO

Os resultados da nodulação em siratro mostraram-se um pouco diferentes dos observados no ensaio com soja perene.

Em todos os tratamentos sem inoculação houve o aparecimento de nódulos, podendo isso estar relacionado com a "promiscuidade" dessa leguminosa e, conseqüentemente, com a facilidade de ocorrer contaminações.

A análise estatística dos dados de peso seco dos nódulos não revelou diferenças significativas entre os tratamentos de inoculação com estirpes puras, inoculação com solo Latossolo Roxo sob vegetação de cerrado ou cultivado com soja perene, sendo apenas

o tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene diferente dos demais (nível de 5%). Convém lembrar que as estirpes puras, empregadas no tratamento 3, eram de eficiência de fixação desconhecida. O coeficiente de variação observado foi de 40%.

Os pesos relativamente elevados dos nódulos e da planta, no tratamento de inoculação com Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, provavelmente foram devidos a problemas de contaminações, já que em uma das repetições o desenvolvimento era mais vigoroso que nas restantes.

É interessante ressaltar que, apesar de não terem sido constatadas diferenças significativas com relação ao peso seco dos nódulos, entre o tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene (tratamento 6) e os outros tratamentos, esse peso, além de ter sido pelo menos três vezes maior naquele tratamento, foi responsável por aumento bastante elevado na produção de matéria seca. Outros ensaios serão conduzidos para verificar possível influência do cultivo anterior de soja perene na nodulação de siratro.

As análises estatísticas dos dados de nodulação, para ambos os ensaios, foram efetuadas apenas para pesos de nódulos. Os coeficientes de variação foram elevados: para o caso do ensaio de soja perene, 43,8%, e para o de siratro, 78,3%.

3.2 — INFLUÊNCIA DOS TRATAMENTOS NA PRODUÇÃO DE MATÉRIA SÊCA

3.2.1 — ENSAIO COM SOJA PERENE

A análise estatística dos dados de produção de matéria seca revelou diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que a produção obtida nos tratamentos de inoculação com estirpes puras e com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene foram superiores às demais. O coeficiente de variação foi de 23,2%.

O peso seco das plantas no tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene foi maior que o obtido no mesmo solo, sob vegetação de cerrado, de forma semelhante ao que ocorreu com a nodulação. A produção de matéria seca, no tratamento de inoculação com Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, foi também insignificante, e está relacionada com a fraca nodulação observada nesse tratamento.

Embora não sejam conclusivos, os dados dêsse ensaio parecem indicar que a dificuldade de estabelecimento inicial da soja perene, em condições de campo, está relacionada com problema de nodulação. Tal problema poderia ser devido à ausência de bactéria com habilidade para nodular essa leguminosa ou de condições favoráveis ao estabelecimento da própria leguminosa, com conseqüente influência na formação de nódulos. Norris e outros (6) observaram, em ensaios de campo, que a incorporação de matéria orgânica com alta relação C/N favoreceu a nodulação (número de plantas noduladas e número de nódulos por planta). Os mesmos autores observaram também um efeito de estirpes de *Rhizobium* sp. com relação ao número de nódulos por planta, sem que aumentos correspondentes de produção fôssem observados. A nodulação, aos 72 dias após o plantio, mostrava-se satisfatória nos tratamentos não inoculados.

3.2.2 — ENSAIO COM SIRATRO

A análise estatística dos dados revelou que o tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob vegetação de soja perene foi significativamente superior (nível de 5%) aos demais. Os outros tratamentos não diferiram estatisticamente. A elevada produção obtida no tratamento de inoculação com Latossolo Roxo sob cultivo de soja perene, em relação àquela obtida no tratamento de inoculação com estirpes puras, de eficiência de fixação desconhecida, vem ressaltar a importância da seleção de estirpes para a utilização em ensaios de campo, com a finalidade de averiguar os possíveis benefícios da prática de inoculação de campo.

4 — CONCLUSÕES

Os dados relatados no presente trabalho permitem as seguintes conclusões:

a) A população de *Rhizobium* sp., presente nos solos estudados — Latossolo Roxo e Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, sob vegetação de cerrado — não foi suficiente, nas condições do ensaio, para promover fixação de nitrogênio, em soja perene, em nível semelhante ao obtido com a utilização de estirpes de *Rhizobium* selecionadas para essa leguminosa.

b) A população de *Rhizobium* sp., presente no Latossolo Roxo sob vegetação de soja perene, foi suficiente para fixar quantidade razoável de nitrogênio para soja perene, embora significativamente menor que a observada com estirpes selecionadas.

c) A população de *Rhizobium* sp. capaz de associar-se com siratro, presente no Latossolo Roxo e Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa, sob vegetação de cerrado, foi ineficiente na fixação de nitrogênio.

d) A população de *Rhizobium* sp. capaz de associar-se com siratro, presente no Latossolo Roxo sob vegetação de soja perene, fixou quantidade de nitrogênio muito superior à observada com a utilização de estirpes puras, de eficiência fixadora desconhecida.

ATMOSPHERIC NITROGEN FIXATION BY PERENNIAL SOYBEAN (*GLYCINE WIGHTII* VERDC.) AND SIRATRO (*PHASEOLUS ATROPURPUREUS* MOÇ. & SESSE) IN SYMBIOSIS WITH INDIGENOUS RHIZOBIA OF TWO SOILS OF THE STATE OF SÃO PAULO

SUMMARY

Experiments were carried out in Leonard's jars, with perennial soybean and siratro, to evaluate the nitrogen fixation ability of these legumes when in symbiosis with the population of *Rhizobium* sp. indigenous to two great groups of soils of São Paulo State, Brazil.

The results showed that the rhizobia occurring in a "Latosolic B Terra-Roxa" and in a "Red Yellow Latosol sandy phase", under "cerrado" vegetation, are fairly ineffective, when compared with the *Rhizobium* inoculated control. It has also been shown, particularly for siratro, that previous cropping with perennial soybean on the "Latosolic B Terra-Roxa" had a favourable effect on the natural population of *Rhizobium* sp.

LITERATURA CITADA

1. BONNIER, C. & BRAKEL, J. Legumineuses-*Rhizobium* — Lutte biologique contre la faim. Gembloux, Duculot, 1969. 148p.
2. DÖBEREINER, J.; FRANCO, A. A. & GUZMÁN, I. Estirpes de *Rhizobium japonicum* de excepcional eficiência. Pesq. agropec. bras. 5:155-161, 1968.
3. GARGANTINI, H. & WUTKE, A. C. P. Fixação do nitrogênio do ar pelas bactérias que vivem associadas às raízes do feijão-de-porco e do feijão-balano. *Bragantia* 19:639-652, 1960.
4. LOPES, E. S.; TELLA, R.; ROCHA, J. L. V. & IGUE, T. Ensaio sobre inoculação de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Anais da V Reunião Latino-Americana de *Rhizobium*, Rio de Janeiro, Gb, 1970. p.274-281.

5. MONTOJOS, J. C. & GARGANTINI, H. Fixação de nitrogênio do ar pelas bactérias que vivem associadas às raízes da Centrosema. *Bragantia* 22:731-739, 1963.
6. NORRIS, D. O. Techniques used in work with **Rhizobium**. In: Some concepts and methods in sub-tropical pasture research. Farham Royal, Bucks, Com Agric. Bur., 1964. (Bull. 47). p.186-198.
7. NORRIS, D.; LOPES, E. S. & WEBER, D. F. Incorporação de matéria orgânica (**mulching**) e aplicação de péletes de calcário (**pelleting**) para testar estirpes de **Rhizobium** em experimentos de campo sob condições tropicais. *Pesq. agropec. bras.* 5:129-146, 1970.