

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA
DE NITROGÊNIO
EM SOLOS DE CERRADOS**





MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM SOLOS DE CERRADOS

Milton Alexandre T. Vargas
Allert Rosa Suhet
Iêda de Carvalho Mendes
José Roberto Rodrigues Peres

EMBRAPA-CPAC/SPI
1994

Comitê de Publicações

Darci Tércio Gomes, Eline Alves de Moraes, Jeanne Christine Claessen de Miranda, Leocádia Maria Rodrigues Mecnas (Secretária-Executiva), Lúcio José Vivaldi, Maria Alice Santos de Oliveira (Presidente), Maria Tereza Machado Teles Walter e Wilson Vieira Soares.

Coordenação: Milton Alexandre Teixeira Vargas

Revisão técnica: Dijalma Barbosa da Silva, Enéas Zaborowsky Galvão, Jeanne Christine Claessen de Miranda e José Nelsileine S. Oliveira

Normalização bibliográfica: Maria Alice Bianchi

Revisão gramatical e coordenação editorial: Leocádia Maria Rodrigues Mecnas

Composição, diagramação e arte-final: Jaime Arbués Carneiro e Jussara Flores de Oliveira

Capa: Leocádia Maria Rodrigues Mecnas

Fotolitos, impressão e acabamento: EMBRAPA-SPI

**Tiragem:
2000 exemplares**

Fixação biológica de nitrogênio em solos de cerrados / Milton Alexandre T. Vargas... [et al.] ; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados. — Brasília : EMBRAPA-CPAC : EMBRAPA-SPI, 1994.
83p.

1. Nitrogênio — Fixação Biológica. 2. Cerrado — Solo — Nitrogênio — Fixação Biológica. I. Vargas, Milton Alexandre T. II. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (Planaltina, DF). III. Título.

CDD 631.46

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente: Itamar Franco

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA
AGRÁRIA - MAARA**

Synval Guazzelli

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

Presidente: Murilo Xavier Flores

Diretores: Alberto Duque Portugal
Elza Ângela Battaglia Brito da Cunha
José Roberto Rodrigues Peres

CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DOS CERRADOS - CPAC

Chefe: Jamil Macedo

Chefe Adjunto Técnico: Maria Alice S. Oliveira

Chefe Adjunto de Apoio: Vicente P.G. Moura

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO

AGRADECIMENTOS

INTRODUÇÃO

SOJA

Introdução	15
Fixação biológica do N ₂	17
Adubação nitrogenada.....	18
Doses de inoculante	19
Inoculação do arroz	21
Formas de inoculação.....	23
Seleção de estirpes.....	24
Reinoculação da soja.....	28
Ocorrência de serogrupos de <i>B. japonicum</i> em solos sob cultivo de soja	32
Referências Bibliográficas	36

FEIJOEIRO

Introdução	41
Seleção de estirpe	42
Resposta à inoculação e à adubação nitrogenada	47
Referências Bibliográficas	51

LEGUMINOSAS DE INVERNO

Ervilha	57
Lentilha.....	62
Referências Bibliográficas	64

LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS

Introdução	69
Fixação de N ₂ por estirpes nativas	70
Inoculação e adubação nitrogenada	76
Estudos em meio agarizado	81
Referências Bibliográficas	82

APRESENTAÇÃO

A região dos Cerrados, com cerca de 204 milhões de hectares, desponta hoje como uma das áreas de maior potencial para suprir as necessidades de alimento do Brasil e, ainda, gerar excedentes para exportação. No entanto, até os anos 60, a região era considerada como inapta para a agricultura, uma vez que limitações como a baixa fertilidade dos solos, frustravam as tentativas de estabelecimento de culturas.

Com a criação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e, em especial, do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC, a partir dos anos 70 foram desenvolvidas tecnologias que permitiram a ocupação da região dos Cerrados, por agricultores oriundos principalmente do sul do País, tornando-a, atualmente, responsável por cerca de 30% da produção nacional.

Dentre as tecnologias geradas, a Fixação Biológica de Nitrogênio para as leguminosas foi, sem dúvida, um dos mais importantes frutos da pesquisa agrícola, viabilizando o cultivo da soja e contribuindo para um melhor aproveitamento do nitrogênio atmosférico em feijão, ervilha, e também, em leguminosas forrageiras nos cerrados. O uso desta tecnologia permite uma diminuição significativa da importação de adubos nitrogenados, representando importante economia de divisas para o País.

Este livro vem colocar à disposição dos técnicos e produtores, os últimos avanços científicos sobre a fixação biológica em solos de cerrados, que passarão a contar com um guia seguro para orientar a inoculação das leguminosas cultivadas na região.

Jamil Macedo
Chefe EMBRAPA-CPAC

AGRADECIMENTOS

O autores agradecem ao técnico agrícola Osmar Teago de Oliveira, aos técnicos de laboratório Vilderete Castro Alves, Emilio Taveira e Odete Justino, o valioso auxílio na instalação e condução dos experimentos e aos funcionários Jaime Arbués Carneiro, Jussara Flores de Oliveira e Leocádia Maria Rodrigues Mecnas, pelo apoio na produção editorial e pelas colaborações e sugestões prestadas neste trabalho.

INTRODUÇÃO

Pelas suas características de localização geográfica, clima e extensão, com cerca de 112 milhões de hectares de terras aráveis e potencialmente aptas para a maioria dos cultivos, os cerrados apresentam-se como uma das alternativas mais viáveis para a expansão da fronteira agrícola brasileira. Contudo, o uso intensivo dos cerrados ainda é limitado por alguns fatores, destacando-se dentre eles o baixo nível de fertilidade dos seus solos.

O nitrogênio está incluído entre os nutrientes que mais limitam a agricultura nos cerrados. Sendo produzidos a partir de combustíveis fósseis, com alta demanda de energia, os fertilizantes nitrogenados são os de custo mais elevado para os produtores.

Em contraste, a fixação biológica do nitrogênio utiliza a luz solar como fonte de energia, constituindo-se na alternativa mais econômica de se adicionar nitrogênio ao sistema solo/planta.

Os resultados alcançados pela pesquisa já permitem o cultivo de algumas leguminosas como soja, ervilha e lentilha, tendo a fixação biológica como única fonte de nitrogênio.

A soja, particularmente, constitui-se no mais notável exemplo prático da utilização da fixação do N_2 , sendo cultivada em mais de cinco milhões de hectares de cerrados, sem o uso de adubos nitrogenados. Esse resultado foi possível a partir dos resultados de pesquisa, que permitiram o lançamento de novas estirpes de rizóbios e a recomendação de formas de inoculação mais adequadas às condições dos cerrados.

Em 1992 foram lançadas duas novas estirpes de rizóbio para soja, com produtividade média de três sacas por hectare, acima das estirpes até então utilizadas nos inoculantes comerciais. Com a substituição das estirpes nos inoculantes comerciais, existe um potencial de aumento na produção de soja, de doze milhões de sacas, na soja cultivada nos cerrados.

Outras culturas, como o feijoeiro e algumas leguminosas forrageiras e de adubo verde também apresentam um grande potencial de aproveitamento do nitrogênio atmosférico.

Neste trabalho procuramos apresentar os principais resultados obtidos pela pesquisa com fixação biológica do nitrogênio nos cerrados.

SOJA

Introdução

A soja é a cultura anual de maior expressão econômica no Brasil, sendo que o seu cultivo no país se tornou viável, em grande parte, devido à sua capacidade de, em associação com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, fixar o nitrogênio atmosférico para a sua nutrição. Os solos sob vegetação de cerrados não apresentam população nativa de *B. japonicum* capazes de nodular a soja (Vargas e Suhet (1980a, 1980b); Vargas et al. (1982c, 1982a e 1982b), sendo, dessa forma, necessária a inoculação dessa leguminosa em solos de primeiro cultivo. A expansão da soja nos Cerrados iniciou-se em 1973, com a elevação do seu preço no mercado internacional. As primeiras tentativas de plantio dessa cultura não foram bem sucedidas devido à má nodulação das plantas.

Dois fatores foram identificados como responsáveis pelo insucesso da inoculação de soja nessas áreas: 1) a alta especificidade hospedeira da variedade de soja IAC-2, que era a utilizada em solos de cerrados de primeiro cultivo (Peres & Vidor (1980) e Vargas & Suhet (1980a); 2) o uso de baixas doses de inoculante, semelhantes às dosagens recomendadas no sul do país (Vargas & Suhet, 1980a).

A partir de trabalhos conduzidos em campo e em casa de vegetação (Peres & Vidor, 1980) e (Vargas & Suhet, 1980a), foram lançadas em 1979, as estirpes 29W e 587, capazes de estabelecer uma simbiose eficiente com a variedade de soja IAC-2 (Figura 1).



FIG. 1 - Soja não inoculada (primeiro plano) e inoculada (fundo).

Com a inclusão dessas duas estirpes nos inoculantes comerciais e o uso de níveis mais elevados de inoculante foi possível viabilizar o cultivo da soja nos cerrados brasileiros, sem o uso de adubos nitrogenados (Vargas et al. 1982c e 1982a) e com produtividade semelhante à obtida na Região Sul. Os trabalhos de pesquisa tiveram continuidade com o isolamento e seleção de estirpes mais eficientes que as estirpes 29W e 587, a partir de populações estabelecidas em solos sob cultivo de soja, utilizando-se a técnica de cromatografia gasosa de nódulos individuais, proposta por Peres et al. (1984).

A ocupação dos solos com a cultura de soja favorece o estabelecimento de populações de *B. japonicum*, as quais competem pelos sítios de infecção nodular com as estirpes inoculadas em cultivos subsequentes de soja. Por essa razão, trabalhos de seleção de estirpes de rizóbios eficientes têm de levar em conta também a competitividade, para que as estirpes selecionadas sejam capazes de dominar na nodulação de soja cultivada, solos com população de rizóbio estabelecida.

Fixação biológica do N₂

Avaliações efetuadas em experimentos conduzidos no CPAC (Vargas et al. 1982c e 1982a) indicaram que o aparecimento dos nódulos ocorre geralmente do quarto ao sexto dia após a germinação, e aos doze dias, já pode ser detectada a atividade da enzima nitrogenase, responsável pela transformação do nitrogênio do ar em amônia. O processo de fixação biológica de N₂ atinge seu ponto máximo no estágio de floração plena e declina a partir do enchimento dos grãos, participando no suprimento de N durante todo o ciclo da soja.

Uma nodulação satisfatória de soja, avaliada no início da floração, situa-se em torno de 100 mg e quinze nódulos por planta. Uma taxa de atividade de nitrogenase adequada, avaliada pelo método de redução de acetileno, situa-se acima de 500 nanomoles de etileno formado/planta/hora (Vargas & Suhet, 1980a e 1980b) e (Vargas et al. 1982c). Uma vez estabelecida uma nodulação em níveis adequados, a fixação simbiótica do N₂ fornece toda a quantidade de N necessária para complementar o fornecimento natural do solo.

A distribuição e coloração dos nódulos pode dar uma indicação do sucesso da inoculação. A disponibilidade dos sítios de infecção nodular nas raízes de soja ocorre por poucas horas, e apenas nas regiões sub-apicais, próximas às zonas de crescimento (Bhuvaneswari et al. 1980 e Vargas, 1990). Nódulos presentes na região do colo da raiz principal são formados logo após a emergência das plantas e, provavelmente, são provenientes das estirpes inoculadas. Ao contrário, nódulos presentes nas raízes secundárias, na parte inferior do sistema radicular são indícios de que a nodulação ocorreu tardiamente com estirpes que já se encontravam no solo. A ausência de nódulos pode indicar inibição devido à

presença de N mineral no solo (plantas apresentam-se bem desenvolvidas) ou má qualidade do inoculante (plantas com clorose). Um sistema radicular contendo muitos nódulos pequenos e com o interior esbranquiçado é um indício de deficiência nutricional ou acidez do solo, ou ainda, que os nódulos foram formados por estirpe ineficiente. Plantas deficientes em Mg apresentam clorose e respondem à adubação nitrogenada, porque a simbiose é mais sensível à deficiência de Mg do que o desenvolvimento da planta em si. Plantas deficientes em molibdênio também apresentam clorose e não respondem bem à adubação nitrogenada, já que a nitrato-redutase, enzima responsável pela incorporação do nitrato pelas plantas, também requer molibdênio para a sua formação.

Nódulos róseos são ativos fixadores de N_2 . Essa cor é devido a leg-hemoglobina, substância responsável pelo transporte de oxigênio para as células fixadoras de N_2 nos nódulos. O declínio da fixação do N_2 inicia-se a partir do início da formação de vagens, indicando o início de senescência dos nódulos. Esse declínio na atividade da nitrogenase inicia-se antes que o processo de senescência dos nódulos, caracterizado pelo surgimento de nódulos verdes, seja aparente (Vargas et al. 1982c) e parece estar associado a um suprimento inadequado de produtos da fotossíntese aos nódulos (Lawn & Brun, 1974). Ao entrar em senescência, a leg-hemoglobina vermelha dos nódulos efetivos se altera para leg-hemoglobina verde, e numa fase mais avançada, os nódulos entram em decomposição.

Adubação nitrogenada

Mesmo após a adoção das estirpes 29W e 587 pelas indústrias brasileiras produtoras de inoculante a partir de 1979, e em consequência, o sucesso da inoculação da soja nos Cerrados, ainda se utilizavam formulações contendo nitrogênio. A principal justificativa era a de que em áreas recém-desbravadas são incorporados ao solo resíduos vege-

tais com alta relação carbono/nitrogênio. A incorporação desse material ao solo promove a imobilização do nitrogênio mineral, através da atividade dos microrganismos, tornando muito baixo o suprimento desse nutriente às plantas. Entretanto, em trabalhos conduzidos por Vargas et al. (1982c e 1982a) ficou demonstrada a inutilidade da prática da adubação nitrogenada na semeadura da soja. Mesmo em solos com grande quantidade de resíduos vegetais (26 t/ha), não foi observada resposta da soja à aplicação de fertilizantes nitrogenados, em níveis de até 30 kg/ha de N (Vargas et al. 1982c).

O nitrogênio em grande quantidade apresenta um efeito negativo na nodulação da soja, sendo esse efeito mais acentuado quando se aplica o fertilizante nitrogenado no sulco de semeadura. Alguns trabalhos sugerem que o nitrato apresenta um efeito mais acentuado na formação dos nódulos, enquanto que o íon amônio afeta mais o processo de fixação do N₂ em si (Munns, 1977).

Doses de inoculante

Os solos de cerrados parecem apresentar fatores antagonísticos que afetam a sobrevivência das estirpes de *B. japonicum* inoculadas. As doses de inoculantes utilizadas no sul do país não são suficientes para promover nodulação satisfatória na soja cultivada em áreas de primeiro ano de Cerrados (Vargas & Suhet, 1980a e 1980b), mesmo com o uso das estirpes 29W e 587. Há uma resposta praticamente linear a níveis de inoculante, em termos de nodulação e rendimento de grãos, até 1000 g de inoculante por 40 kg de soja (Vargas & Suhet, 1980a).

Inicialmente, tentou-se atribuir o efeito adverso dos solos de cerrado às estirpes inoculadas, ao antagonismo microbiano, principalmente aos actinomicetos produtores de antibióticos (Scotti et al. 1982). Essa conclusão foi baseada nas estirpes 29W e 587 que possuíam um nível elevado de resistência ao antibiótico estreptomicina (Scotti et al. 1982).

Eram estirpes capazes de promover uma nodulação satisfatória na soja cultivada em solos de cerrados de primeiro cultivo e dominavam na nodulação da soja mesmo quando esta era cultivada em áreas que houvessem sido inoculadas anteriormente com outras estirpes (Vargas et al. 1981 e Peres et al. 1981).

Na Tabela 1 é apresentado um resumo dos dados de nodulação e produção de dois experimentos conduzidos em solos de cerrado de primeiro cultivo com a cultivar Doko, tendo sido omitidos alguns tratamentos. Observa-se que algumas estirpes com baixo nível de resistência à estreptomicina, tais como a CPAC-7, CPAC-15 e CB-1809 apresentaram nodulação semelhante à das estirpes 29W e 587. As estirpes CPAC-7 e CPAC-15 também foram mais eficientes em fixar N₂ do que as estirpes 29W e 587, o que demonstra que a resistência à estreptomicina não é um pré-requisito da estirpe para a nodulação da soja em solos de cerrados de primeiro cultivo.

TABELA 1 - Efeito da inoculação na soja cultivada em um solo de cerrado de primeiro cultivo. Avaliações de nodulação efetuadas no estágio de floração. Dados médios de quatro repetições¹.

Estirpe ²	Resistência a estreptomicina (ppm)	Nodulação por planta		Rendimento de grãos (kg/ha)
		Número	Peso (mg)	
EXPERIMENTO I				
Testemunha	-	4 c	25 e	1267 e
566	10	14 bc	64 cd	1406 de
CPAC 7	20	23 ab	117 b	1766 c
CPAC 15	10	29 a	148 ab	2026 b
29W	80	18 ab	124 ab	1455 de
587	160	26 ab	156 ab	1588 cd
Coef. de var.	(%)	38	25	8
EXPERIMENTO II				
Testemunha	-	7 d	53 d	1143 cd
CPAC 7	20	57 ab	191 ab	1354 abc
CPAC 15	10	52 bc	156 bc	1351 abc
CB 1809	20	34 c	162 bc	1283 bed
29W	80	31 c	156 bc	1150 cd
587	160	70 ab	228 a	1129 cd
Coef. de var.	(%)	30	22	8

¹ Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan a 5%.

² As estirpes CPAC 7 e CPAC 15 pertencem aos serogrupos CB 1809 e 566, respectivamente.

Acredita-se que os dados referentes a insucessos da inoculação em solos de cerrados, obtidos em meados da década de 70, estavam relacionados à baixa qualidade dos inoculantes comercializados na região e aos problemas de especificidade hospedeira apresentados pela cultivar IAC-2, que era então a cultivar de soja recomendada para a abertura dos cerrados e que não nodulava eficientemente com as estirpes utilizadas nos inoculantes comerciais. Quanto à predominância da 29W e 587 na nodulação em áreas sob cultivo de soja, esta poderia ser atribuída à maior capacidade de sobrevivência no solo e à alta capacidade de competição dessas estirpes pelos sítios de infecção nodular.

Inoculação do arroz

Mesmo após a existência de tecnologias adequadas para a inoculação da soja nos cerrados, às vezes ocorrem insucessos na inoculação, tendo como causas principais, a má qualidade de inoculantes comerciais, a forma inadequada de proceder a inoculação e a ocorrência de altas temperaturas no dia da semeadura. Com o objetivo de criar alternativas para superar esse problema, foi feito um estudo visando estabelecer uma população de *B. japonicum* no solo, através da inoculação de sementes de arroz, com a expectativa que essa população fosse capaz de nodular satisfatoriamente a soja no cultivo subsequente. Esse estudo baseou-se no fato de que era comum a abertura dos cerrados com cultivo de arroz por um ou dois anos, antes do plantio de soja, e na comprovada capacidade de sobrevivência do *B. japonicum* no solo, mesmo na ausência do hospedeiro (Peres et al. 1981 e Vargas et al. 1981).

A Tabela 2 mostra os resultados de um experimento em que se cultivou arroz com e sem inoculação das semen-

tes, em duas faixas distintas. No ano seguinte, cultivou-se a soja nas duas faixas para análise da resposta a doses de inoculantes. Na faixa onde o arroz foi inoculado, não houve resposta da soja aos níveis de inoculante, indicando que a população de rizóbio estabelecida por meio da inoculação do arroz, foi suficiente para proporcionar uma nodulação abundante. Já na área em que as sementes do arroz não foram inoculadas, houve uma resposta significativa aos níveis de inoculante, demonstrando que não havia estirpes de *B. japonicum* nessa área. Esses resultados indicam que ocorreu a colonização do solo pelas estirpes de *B. japonicum*, inoculadas através das sementes de arroz e demonstram a viabilidade dessa técnica para reduzir os riscos de insucesso da inoculação pelo uso de inoculantes de má qualidade. A inoculação do arroz foi feita do mesmo modo e nas mesmas dosagens empregadas na inoculação da soja, em áreas de primeiro cultivo e não acarreta nenhum efeito na cultura do arroz.

TABELA 2 - Efeito da inoculação do arroz no ano anterior, na resposta da soja à inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. Dados médios de quatro repetições.

Cultura anterior ¹	Níveis de inoculante (g/40 kg sementes)	Nodulação por planta ²		Rendimento de grãos (kg/ha)
		Número	Peso (mg)	
Arroz sem inoculação	0	1 c	8 b	1327 b
	250	30 b	287 a	2032 c
	500	42 ab	320 a	2212 b
	1000	52 a	357 a	2317 a
Arroz inoculado	0	30 a	167 a	2310 a
	250	36 a	226 a	2109 b
	500	37 a	209 a	2212 a
	1000	41 a	202 a	2261 a
Coef. de var.	(%)	23	26	3

Fonte: Peres et al. 1989.

¹ Arroz cultivado com e sem inoculação no ano agrícola de 1980/81.

² Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

Formas de inoculação

Alguns aditivos, tais como goma arábica e sacarose, quando adicionados à água utilizada no preparo da pasta de inoculante, aumentam a aderência do inoculante às sementes, e promovem uma nodulação e fixação de N₂ mais precoce (Vargas & Suhet, 1980b). Outras formas de inoculação como as que empregam o óleo diesel, querosene, ou o uso de inoculantes líquidos ou células liofilizadas suspensas em óleo, não têm apresentado resultados satisfatórios.

A recomendação tradicional é a de que o agricultor efetue a operação de inoculação no mesmo dia do plantio. Contudo, nos cultivos em grandes áreas, há dificuldades operacionais para que seja seguida essa recomendação. Objetivando estudar o efeito de armazenagem prolongada de sementes de soja inoculadas, foi feito um estudo de sobrevivência dos rizóbios na superfície das sementes armazenadas sob condições ambientais. Na Figura 2 estão apresentados os dados de um experimento no qual as sementes foram inoculadas através de três diferentes métodos, e semeadas em vasos após períodos variáveis de armazenagem. A nodulação com sacarose (solução 25%) foi muito mais abundante do que no tratamento que utilizou apenas água para o preparo da pasta de inoculante. Já o óleo diesel apresentou um efeito altamente deletério nos rizóbios, desde o primeiro dia de inoculação. Não houve efeito de períodos de armazenagem de até oito dias na sobrevivência dos rizóbios inoculados, exceto quando se utilizou óleo diesel como veículo, ficando demonstrado a possibilidade de inoculação com antecedência à operação de semeadura. Nesse caso, as sementes deverão ser guardadas em ambientes frescos e arejados, espalhadas sobre uma superfície limpa e seca, e em camadas com menos de 30 cm de altura. Devido a variações na forma de manipulação das sementes inoculadas e das condições ambientais, é recomendável que as sementes inoculadas fiquem armazenadas por no máximo 48 horas antes da semeadura.

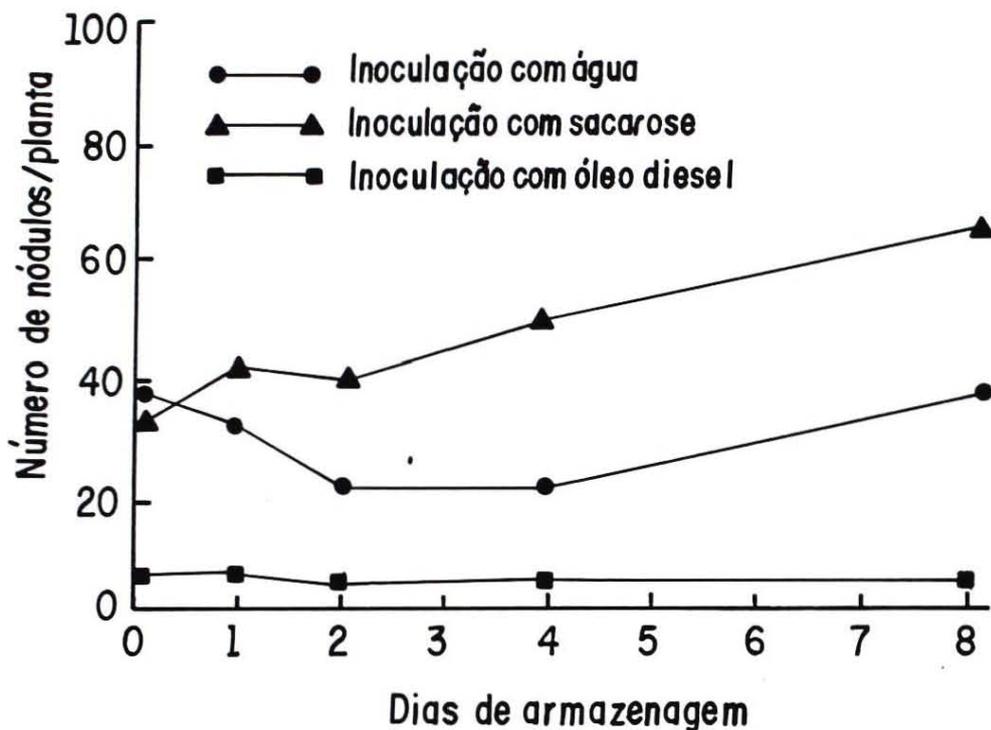


FIG. 2 - Efeito de formas de inoculação e do período de armazenagens sobre o número de nódulos de soja.

Fonte: Peres et al. 1986.

Seleção de estirpes

A seleção de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* é um trabalho contínuo. A recomendação das estirpes 29W e 587 para uso em inoculantes comerciais foi baseada principalmente na sua baixa especificidade hospedeira, ou seja, essas duas estirpes eram capazes de estabelecer uma simbiose eficiente em todas as variedades de soja (Peres & Vidor, 1980). Em 1992 foram lançadas as estirpes CPAC-7 e CPAC-15, após seis anos de experimentos de campo, incluindo dois anos em rede no País. Além de apresentarem as boas características de baixa especificidade hospedeira, encontradas nas estirpes 29W e 587, as estirpes CPAC-7 e CPAC-15 são significativamente mais eficientes que aquelas (Peres et al. 1993), apresentando ganhos de rendimento de grãos consistentemente mais elevados que as estirpes 29W e 587.

Os trabalhos de isolamento para seleção de estirpes mais eficientes, eram inicialmente baseados em critérios empíricos (tais como tamanho e posição de nódulos na raiz principal) para a identificação dos nódulos que contivessem as estirpes eficientes, embora não houvessem evidências científicas que correlacionassem esses parâmetros com a eficiência fixadora das mesmas. Peres et al. 1981 e Peres et al. 1984, desenvolveram um método utilizando cromatografia gasosa, que permite identificar os nódulos contendo estirpes com alta eficiência em fixar N_2 . Esse método, baseia-se na taxa específica de redução de acetileno de nódulos individuais (nanomoles de etileno/g de nódulo fresco/hora) e permite a análise de um grande número de nódulos em um único dia (200 a 300 nódulos), sendo separados para o isolamento apenas aqueles que apresentam um alto nível de redução do acetileno.

Pela Figura 3 pode-se comprovar a alta correlação da atividade específica dos nódulos, com a capacidade das estirpes isoladas a partir dos mesmos em promover uma maior produção de matéria seca, nitrogênio total e peso de nódulo em plantas de soja. A ausência de correlação com o número de nódulos indica que a variação na eficiência em fixar N_2 não está associada à capacidade de formar nódulos dos isolados.

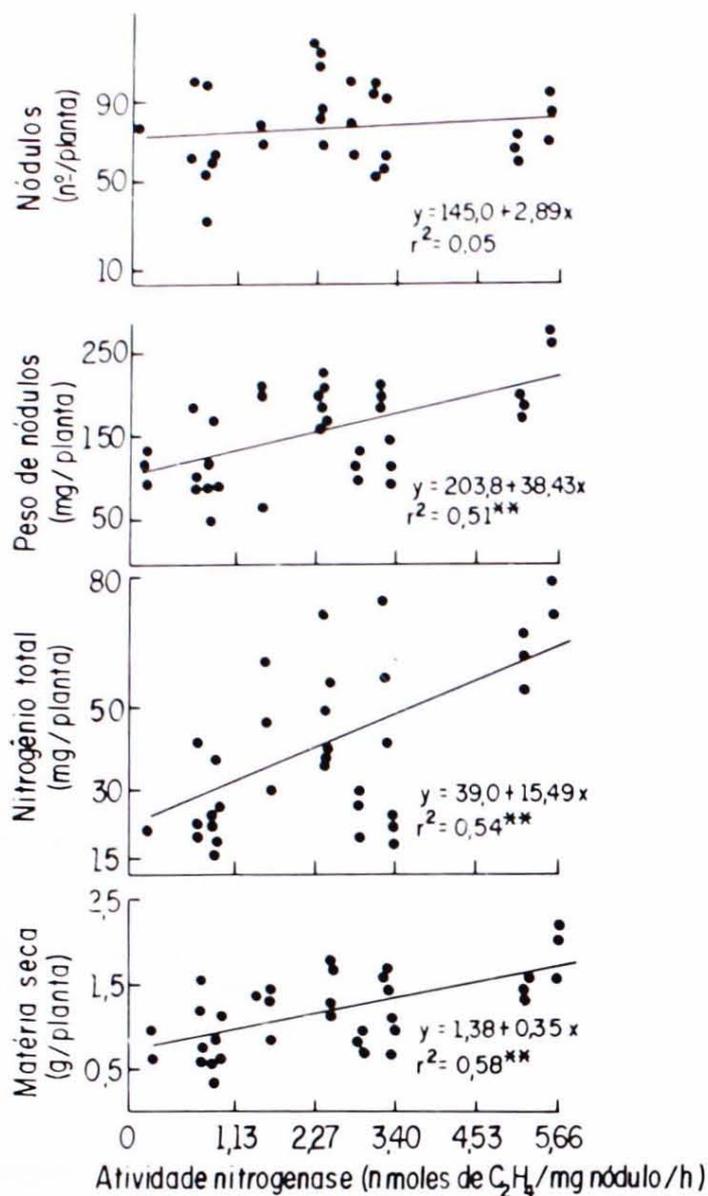


FIG. 3 - Correlação entre a atividade da nitrogenase de nódulos provenientes de estirpe 29W e os parâmetros indicadores da fixação do N₂, expresso por planta.

Fonte: Peres et al. 1984.

Os trabalhos conduzidos no CPAC passaram a utilizar o método de Peres et al. (1981 e 1984), para selecionar estirpes de *B. japonicum*, a partir de populações estabelecidas da bactéria em solo de cerrado sob cultivo de soja. Os isolados identificados, além da característica de alta eficiên-

cia já são adaptados às condições dos solo de cerrado e possuem boa capacidade competitiva, pois foram capazes de formar nódulos em solos com população estabelecida de *B. japonicum*. A Figura 4 exemplifica as diferenças na eficiência em fixar N₂ entre isolados caracterizados pelo método de Peres et al. (1981 e 1984), como de baixa, média e alta atividade.

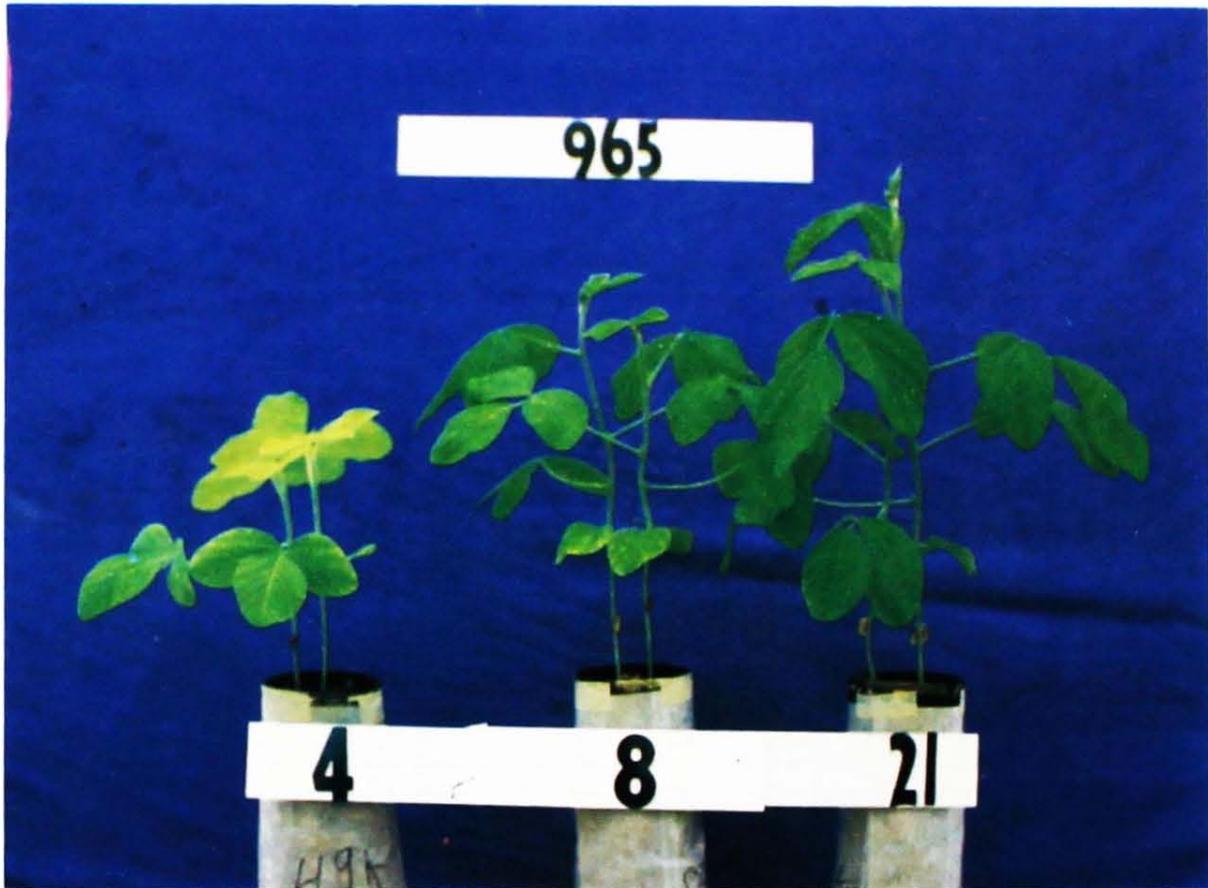


FIG. 4 - Inoculação com isolados de uma mesma estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* obtidos a partir de nódulos com baixa (esquerda), média (centro) e alta (direita) atividade específica de nitrogenase.

Na Tabela 3 estão os resultados de um experimento de campo conduzido durante seis anos, no qual foram testadas quatro estirpes selecionadas no CPAC, uma da Austrália (CB-1809), e as estirpes 29W e 587 utilizadas nos inoculantes comerciais até 1992. Exceto pela estirpe CPAC-7, que é uma subcultura da CB-1809, as estirpes do CPAC foram

selecionadas segundo a metodologia proposta por Peres et al. (1981 e 1984). As diferenças em produtividade variaram nos vários anos em que foi conduzido o trabalho, mas as estirpes CPAC-7 e CPAC-15 foram consistentemente superiores às estirpes comerciais, promovendo ganhos médios de 260 kg/ha de grãos em relação às estirpes 29W e 587, quando inoculadas separadamente. A mistura das estirpes CPAC-7 e CPAC-15 proporcionou produtividade ligeiramente superior às dos tratamentos em que estas estirpes foram inoculadas individualmente. No ano agrícola de 1990/91, a mistura dessas duas estirpes proporcionou uma produção superior em 259 kg/ha de grãos em relação à inoculação com a mistura das estirpes comerciais.

TABELA 3 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada no rendimento de grãos da soja cultivada em solos de Cerrados de primeiro cultivo¹.

Tratamento	Ano agrícola					
	1984/85	1986/87	1987/88	1988/89	1989/90	1990/91
	kg/ha					
Testemunha	1413 c	2696 bc	1267 e	1269 cd	2542 bc	1143 cd
Adubação nitrogenada ²	3443 a	3373 a	2431 a	1208 d	2464 c	1527 a
29W	1792 bc	2626 c	1455 de	1501 b	2747 abc	1150 cd
587	1886 b	2890 bc	1588 cd	1422 bc	2739 abc	1129 cd
CPAC 7	2169 b	2979 b	1766 c	1551 ab	3087 a	1354 abc
CPAC 8W	1945 b	2756 bc	1733 c	1425 bc	-	-
CPAC 74K	2002 b	2771 bc	-	1452 bc	-	-
CPAC 15	-	2857 bc	2026 b	1704 a	3027 a	1351 abc
CB 1809	-	-	-	-	-	1283 bcd
29W + 587	-	-	-	-	-	1144 cd
CPAC 7 + CPAC 15	-	-	-	-	3114 a	1403 ab
Coef. de variação (%)	13	6	8	8	10	11

Fonte: Peres et al. (1993).

¹ Valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5%.

² Níveis de N (kg/ha): 1984/85 e 90/91 = 400; 86/87 = 200; 87/88 e 88/89 = 220 e 89/90 = 120.

Reinoculação da soja

O termo reinoculação na área de rizobiologia tem o sentido restrito à inoculação de uma leguminosa a ser semeada em área cultivada anteriormente com essa mesma leguminosa inoculada. A reinoculação não é uma prática adotada pela maioria dos produtores de soja, devido à pouca informação disponível sobre seu efeito no rendimento de grãos.

A fase final do trabalho de seleção de estirpes de *B. japonicum* envolve a experimentação em rede, conduzida em solos de primeiro cultivo, que não apresentam estirpes nativas capazes de nodular a soja. Como a maior parte da soja brasileira é semeada em solos já cultivados anteriormente com essa leguminosa, e dessa forma, com população estabelecida de *B. japonicum*, tornam-se necessários trabalhos de experimentação nessas condições antes do lançamento das estirpes para uso em inoculantes comerciais. O acompanhamento da nodulação formada com as estirpes inoculadas é importante, pois em solos de Cerrados, muitas vezes o bom suprimento de nitrogênio mineral do solo tende a reduzir o nível de resposta à inoculação.

Na Tabela 4 estão apresentados os dados de quatro experimentos com a reinoculação da soja. Em dois experimentos houve resposta à reinoculação, sendo que resposta expressiva foi observada no tratamento com a mistura das estirpe CPAC-7 e CPAC-15 no experimento III. Nos experimentos I e II, não houve resposta à reinoculação, sendo que a alta produtividade do tratamento testemunha no experimento I pode ser atribuída a um suprimento adequado de nitrogênio mineralizado ou a boa eficiência das estirpes presentes no solo.

A alta capacidade de suprimento de nitrogênio dos solos de Cerrados (Suhet et al. 1986), principalmente quando a precipitação pluviométrica é bem distribuída, interfere na interpretação dos resultados de reinoculação, pois o nitrogênio mineral reduz a nodulação e permite altos rendimentos de grãos em plantas não inoculadas. Dessa forma, a tipificação serológica das estirpes que ocorrem nos nódulos constitui-se num parâmetro importante no trabalho de reinoculação, por permitir a identificação dos rizóbios capazes de vencer a competição com a população estabelecida no solo.

As estirpes 29W e 587 apresentaram baixa capacidade de elevarem suas participações nos nódulos de soja (Tabela 4), o que pode explicar a descrença de produtores de soja na reinoculação. As estirpes CPAC-7 e CPAC-15, apesar de terem sido selecionadas em solos de primeiro cultivo, apresentaram maior capacidade de se estabelecerem

nos nódulos do que as estirpes 29W e 587. A composição sorológica da população de *B. japonicum* do solo, interfere na resposta à reinoculação, em termos de ocorrência nos nódulos das estirpes inoculadas. Na Tabela 4, observa-se que nos solos dos experimentos I e IV, com predominância de estirpes pertencentes ao serogrupos 29W e 587 (82 e 94% dos nódulos do tratamento testemunha, respectivamente), as estirpes CPAC-7 e CPAC-15 tiveram aumentos expressivos na sua ocorrência nos nódulos. A estirpe CPAC-7 aumentou sua ocorrência nos nódulos de 2% para 51% e de 1% para 56% nos experimentos I e IV, respectivamente. Nos solos com predominância de estirpes pertencentes a outros serogrupos que não os serogrupos 29W e 587, como é o caso dos solos dos experimentos II e III, o aumento na participação nos nódulos com a reinoculação das estirpes CPAC-7 e CPAC-15 não foi tão significativo. Nessas áreas, a estirpe CPAC-7 teve sua ocorrência aumentada de 0% para 20% (experimento II) e de 1 para 24% (experimento III).

TABELA 4 - Efeito da reinoculação com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* na produção de grãos e na ocorrência de serogrupos em nódulos de soja. Dados médios de quatro repetições.

Tratamentos ¹	Nódulos pertencentes aos serogrupos					Grãos	Nódulos pertencentes aos serogrupos					Grãos
	29W	587	566	CB 1809	Sem reação		29W	587	566	CB 1809	Sem reação	
	Experimento I²						Experimento II³					
	(%)					kg/ha	(%)					kg/ha
Testemunha	31	51	19	2	0	3826	20	13	68	0	0	1928
29W + 587	39	47	11	2	0	3497	7	18	75	0	0	2074
CPAC 7	14	25	9	51	0	3598	15	17	48	20	0	2008
CPAC 15	25	30	44	0	0	3799	13	15	73	0	0	2028
	Experimento III⁴						Experimento IV⁴					
Testemunha	30	13	15	1	36	3575	31	63	1	1	5	2321
29W + 587	30	28	10	2	25	3763	32	60	1	0	7	2589
CPAC 7	18	18	22	24	15	3705	16	28	0	56	1	2612
CPAC 15	17	15	23	-	45	3744	16	23	57	0	4	2511
CPAC7+CPAC15	27	12	25	11	21	3943	-	-	-	-	-	-

¹ As estirpes CPAC 7 e CPAC 15 pertencem aos serogrupos das estirpes CB 1809 e 566, respectivamente.

² Experimento conduzido no ano agrícola 1989/90.

³ Experimento conduzido no ano agrícola 1988/89.

⁴ Experimento conduzido no ano agrícola 1990/91.

O uso de doses mais baixas de inoculante após o primeiro cultivo da soja, ainda é utilizado por uma parte dos produtores, apesar de não haver estudos que suportem essa prática. Em um experimento de campo conduzido no ano agrícola de 1990/91, houve um ganho de 411 kg/ha de grãos, quando se elevou o nível de inoculante de 200 g para 1000 g/40 kg de semente (Tabela 5). O nível mais elevado do inoculante também elevou a ocorrência de serogrupos nos nódulos. A utilização de um inoculante especial com maior concentração de rizóbios, elevou a ocorrência nos nódulos dos serogrupos das estirpes inoculadas, embora o rendimento de grão ficasse inferior ao do tratamento com inoculante comum na dose mais elevada.

Todos esses resultados demonstram que é possível introduzir novas estirpes selecionadas de *B. japonicum* em solos sob cultivo de soja. A composição da população de estirpes estabelecidas no solo, o uso de altas doses e a qualidade do inoculante são fatores determinantes para o estabelecimento das estirpes inoculadas.

TABELA 5 - Efeito de doses e riqueza de células do inoculante na ocorrência de serogrupos de *Bradyrhizobium japonicum* nos nódulos e no rendimento de grãos de soja. Dados médios de quatro repetições.

Tratamentos ¹	Dose de inoculante ²	Ocorrência dos serogrupos nos nódulos (%)					Grãos
		29W	587	566	CB 1809	Sem reação	
	g	(%)					kg/ha
Testemunha	-	30	13	15	1	36	3575
Inoc. comum	200	28	15	15	4	39	3532
Inoc. especial	200	23	14	24	12	26	3528
Inoc. comum	1000	27	12	25	11	21	3943

¹ Os inoculantes foram preparados com as estirpes CPAC 7 e CPAC 15. Os inoculantes "comum" e "especial" continham concentrações aproximadas de 108 e 109 células/grama, respectivamente.

² Quantidade de inoculante por 40 kg de sementes.

Ocorrência de serogrupos de *B. japonicum* em solos sob cultivo de soja

A presença de estirpes de *B. japonicum* no solo, proveniente de inoculações realizadas em cultivos anteriores, tem sido citada como o principal fator restritivo à introdução e ao estabelecimento nos nódulos, de estirpes mais eficientes selecionadas pela pesquisa (Vargas et al. 1981 e Thies, 1990), limitando a obtenção de ganhos de produtividade através de reinoculação. Esse efeito está relacionado entre outros fatores, com a composição sorológica da população de *B. japonicum* no solo, conforme demonstrado no item anterior.

As recomendações de estirpes de rizóbio para soja é decidida em reunião bianual, denominada RELARE (Rede de Laboratórios para a Recomendação de estirpes de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e outros microrganismos fixadores de Nitrogênio). O lançamento de novas estirpes para soja, é realizado atualmente, após experimentação em rede no país. O IPAGRO (Instituto de Pesquisa Agropecuária, da Secretaria de Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul) mantém a coleção de culturas de rizóbio e é o órgão oficial para a distribuição das estirpes recomendadas para as indústrias brasileiras produtoras de inoculante. Dessa forma, após oficializada a recomendação das estirpes, todas as indústrias brasileiras passam a utilizar as mesmas estirpes na produção de inoculantes comerciais. Dentre as vantagens dessa estratégia, está a possibilidade do acompanhamento anual dos serogrupos de *B. japonicum* utilizados em todo o país.

Na Tabela 6 estão listadas as estirpes utilizadas em inoculantes comerciais para soja, desde 1956, segundo registros disponíveis no IPAGRO. A estirpe 29W, isolada no CNP-Biologia do Solo - EMBRAPA, possui um serogrupo distinto de todas as demais estirpes utilizadas no Brasil, e só passou a ser utilizada em inoculantes comerciais a partir de 1979 (Tabela 6). Contudo, em 1978, a estirpe 29W já apresentava dominância nos nódulos de soja não inoculadas, em propriedades do Triângulo Mineiro onde havia sido cultivado a soja inoculada com outras estirpes em anos anteriores (Tabela 7). Uma explicação para esse aparecimento da 29W nos solos, seria a introdução dessa estirpe através de sementes importadas, e sua posterior disseminação nos campos de multiplicação de sementes de soja.

TABELA 6 - Estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* utilizadas em inoculantes comerciais.

Ano	Estirpes										
1956	516	517	519	512	513	521	525				
1957	504	505	509	512	513	519	516				
1958	504	505	509	512	513	514	515	517	519	521	522
	524	526	526	531	574	535					
1959	512	513	516	517	519	521	534	535			
1960	511	512	513	516	517	521	525	527	530	534	535
1961	519	521	526	531	534	535					
1962 e 1963	509	510	513Re	519	527	531Re					
1964	504	513Re	531Re	527	543	506					
1965	513Re	532c	513Re	504							
1966 e 1967	532c	543	566								
1968	543	566	587								
1969	562c	543	566	587							
1970 a 1976	527	532c	566								
1977	527	566	586								
1978	527	532c	566								
1979 a 1991	587	29W									

Fonte: Vargas et al. (1992)

TABELA 7 - Ocorrência de serogrupos de *Bradyrhizobium japonicum* em nódulos de soja não inoculada, cultivada em propriedades localizadas no Triângulo Mineiro¹.

Local	Variedade	Nódulos pertencentes ao serogrupos ²			
		29W	587	566	CB 1809
		(%)			
Capinópolis	UFV-1	21	57	21	0
Tupaciguara	UFV-1	63	37	0	0
Tupaciguara	IAC-2	44	56	0	0
Tupaciguara	Bossier	39	50	11	-
Nova Ponte	Bossier	17	39	43	0
Perdizes	IAC-5	79	21	0	0
Perdizes	UFV-1	50	50	0	0
Sacramento	Paraná	14	57	14	14
Uberaba	Santa Rosa	50	50	0	0

¹ Vargas et al. (1981).

² A análise serológica foi efetuada em 40 nódulos por local, coletados no campo, de plantas não inoculadas.

Na Tabela 8 estão apresentados os dados referentes à ocorrência de estirpes de *B. japonicum* em nódulos de soja cultivada na área experimental do CPAC.

Na tipificação serológica dos nódulos realizada em 1978/79, observou-se que havia uma predominância na nodulação de estirpes pertencentes aos serogrupos 29W e 587, sendo a ocorrência de estirpes pertencentes ao serogrupo 566, praticamente em torno de zero. Na avaliação realizada em 1985, foi verificado um aumento expressivo na ocorrência de estirpes do serogrupo 566, mesmo em áreas onde essa estirpe nunca havia sido inoculada. Nas áreas destinadas aos trabalhos de melhoramento de soja, estirpes pertencentes ao serogrupo 566 tem chegado a participar em até 96% dos nódulos, apesar de nunca terem sido inoculadas nesses locais.

TABELA 8 - Ocorrência de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* em nódulos de soja não inoculada no campo experimental do CPAC¹.

Estirpes inoculadas ²	Ano de introdução	1978/79				1985/86			
		29w	587	566	965	29w	587	566	965
%									
29W, 587, 566	1976	52	30	2	1	40	22	35	-
29W, 965	1978	90	0	0	7	22	19	59	0

¹ Os solos foram coletados e distribuídos em vasos na casa de vegetação nos quais a soja foi semeada sem inoculação.

² Estirpes de *B. japonicum* usadas na inoculação no ano de implantação do experimento. Nos anos subsequentes, a soja foi sempre inoculada com as estirpes 29W e 587.

Na Tabela 9, são apresentados os resultados de um levantamento realizado em 1990, em 20 fazendas da região dos Cerrados, visando estudar a distribuição atual de serogrupos de *B. japonicum* nos solos da região. Dentre vinte fazendas amostradas, nove apresentaram a ocorrência de estirpes do serogrupo 566 em mais de 50% dos nódulos. Nas demais fazendas, a ocorrência de estirpes desse serogrupo variou de 13 a 40%.

Os dados observados na área experimental da EMBRAPA/CPAC e nas demais localidades amostradas, quando comparados aos obtidos por Vargas et al. (1981) referentes ao levantamento realizado na região do Triângulo Mineiro em 1978/79, sugerem que houve, ao longo da última década, uma modificação na composição serológica da população de *Bradyrhizobium japonicum* estabelecida nos solos da região dos Cerrados.

A estirpe 566 foi obtida originariamente a partir do inoculante americano produzido pela firma Dixie Inoc., tendo sido utilizada nos inoculantes comerciais brasileiros até o ano de 1978 (Tabela 6). A partir de 1980, quando se iniciou a expansão da cultura de soja nos cerrados, os inoculantes comerciais passaram a conter apenas as estirpes 587 e 29W. Essa ocorrência da estirpe 566 em solos onde nunca havia sido introduzida, pode ser atribuída ao seu transporte por vetores diretos, principalmente sementes oriundas das regiões tradicionais de cultivo da soja, localizadas no sul do país, onde houve uma maior comercialização de inoculantes contendo essa estirpe. Contudo, não existe uma explicação para a sua dominância nos nódulos, em detrimento das estirpes inoculadas e já estabelecidas no solo. Trabalhos preliminares conduzidos no CPAC indicaram variabilidade em fixar N_2 dentro dessa população de ocorrência "espontânea" nos solos de cerrados. Como aparentemente, não existe uma pressão seletiva que favoreça aos indivíduos com maior eficiência em fixar N_2 , a dominância de estirpes 566 de baixa eficiência, pode interferir no estabelecimento nos nódulos de outras estirpes inoculadas através das sementes e dessa for-

ma, limitar os tetos de produtividade da soja. Isso é pelo fato de que a ocorrência da estirpe 566 no solo pode interferir no estabelecimento nos nódulos de outras estirpes inoculadas através das sementes.

TABELA 9 - Percentagem de ocorrência de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* em alguns solos da região dos Cerrados.

Local ¹	Serogrupos						
	29W	587	566	532	CB 1809	965	Sem Reação
	(%)						
Tabatinga (DF)	28	11	38	9	0	0	14
Tabatinga (DF)	6	8	65	11	0	1	9
Rio Preto (DF)	27	15	39	3	0	0	16
Rio Preto (DF)	34	12	17	9	0	0	28
Jardim (DF)	30	35	14	10	0	0	11
PAD-DF	29	13	16	3	0	0	4
PAD-DF	16	16	69	-	-	-	-
PAD-DF	45	17	13	6	-	-	19
PAD-DF	26	17	40	3	0	0	13
PAD-DF	19	14	37	8	0	0	22
PAD-DF	22	22	17	23	0	0	16
Pipiripau (DF)	36	8	14	11	0	0	31
Taquara (DF)	11	2	62	10	0	0	15
Rio Preto (DF)	32	9	55	2	-	-	2
Jardim (DF)	23	1	54	12	0	0	10
Cristalina (GO)	33	23	17	11	0	0	16
Vilhena (RO)	8	20	72	-	-	-	-
Vilhena (RO)	19	16	65	-	-	-	-
São Gabriel do Oeste (MS)	23	13	63	-	-	-	2
Maracaju (MS)	21	25	51	3	-	-	-

Fonte: Vargas et al. (1993).

¹ O solo coletado em cada local era distribuído em vasos na casa de vegetação, nos quais a soja cultivar Doko, era semeada sem inoculação. Foram montados 3 vasos por local.

Referências Bibliográficas

- BHUVANESWARI, T.V.; TURGEON, B.G.; BAUER, W.D. Early events in the infection of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) by *Rhizobium japonicum*. I. Localization of infectable root cells. **Plant Physiol.**, v. 66, p.1027-1031. 1980.
- LAWN, R.J.; BRUN, W.A. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source-sink manipulations. **Crop. Sci.** v. n. 14, p.11-16, 1974.

- MUNNS, D.N. Mineral nutrition and the legume symbioses. In: HARDY, R.W.F.; GIBSON, A.J. eds. **A Treatise on dinitrogen fixation section IV-Agronomy and ecology**. New York: J. Wiley and Sons, 1977. p.353-391.
- PERES, J.R.R.; MENDES, I.C.; SUHET, I.C.; VARGAS, M.A.T. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para soja em solos de Cerrado. **R. bras. Ci. Solo**, v. 17, p.357-363, 1993.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Sobrevivência e competitividade de estirpes de *Rhizobium japonicum* em cultivares de soja em um solo de Cerrados. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2. Brasília, DF, 1980. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1981. p.766-777. 1981.
- PERES, J.R.R.; VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja. **Agronomia Sulriograndense**, v. 16, n. 2, p.205-219, 1980.
- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; VARGAS, M.A.T. Variabilidade na eficiência em fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. **Rev. bras. Ci. Solo**, v. 8, p.193-196, 1984.
- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; VARGAS, M.A.T. Sobrevivência de estirpes de *Rhizobium japonicum* na superfície de sementes de soja inoculadas. **Pesq. agropec. bras.**, v. 21, n. 5, p.849-853, 1986.
- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; VARGAS, M.A.T. Estabelecimento de *B. japonicum* num solo de Cerrado pela inoculação de sementes de arroz. **R. bras. Ci. Solo**. v. 13, p.35-39, 1989.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T. Variação na eficiência em fixar o N₂ dentro da mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 18. Salvador, BA, 1981. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1981. p.34.
- SCOTTI, M.R.; SA, N.M.; VARGAS, M.A.T.; DOBEREINER, J. Streptomycin resistance of *Rhizobium* isolates from brazilian Cerrados. **An. Acad. bras. Cien.**, v. 54, n. 4, p.733-738, 1982.
- SUHET, A.R.; PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T. Nitrogênio. In: GOEDERT, W.J. ed. **Solos dos Cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. São Paulo: Nobel/EMBRAPA, 1986. p.167-202.
- VARGAS, M.A.T. Competitiveness and rizosphere colonization of *Bradyrhizobium* sp strains on chickpea. **Pesq. agropec. bras.**, v. 25, n. 4, p.599-607, 1990.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R. PERES, J.R.R. Serological distribution of *Bradyrhizobium japonicum* from brazilian "cerrados" areas under soybean cultivation. **Rev. microbiol.**, v. 24, n. 4, p.239-243, 1993.

- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. Reinoculação da soja em função dos serogrupos de *Rhizobium japonicum* predominantes em solos de Cerrados. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2. Brasília, DF, 1980. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1981. p.715-722.
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. **Adubação nitrogenada e inoculação da soja em solos de Cerrado**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1982. 11p. (EMBRAPA-CPAC. Comunicado Técnico, 13).
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. Fixação de nitrogênio atmosférico pela soja em solos de Cerrados. **Informe agropec.**, v. 94, p.20-23, 1982b.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, v. 17, n. 8, p.1127-1132, 1982c.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de Cerrados. **Pesq. agropec. bras.**, v. 15, n. 3, p.343-347, 1980a.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeito da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja em um solo de Cerrado. **R. bras. Ci. Solo**, v. 4, p.17-21, 1980b.

FEIJOEIRO

Introdução

A cultura do feijoeiro é de grande expressão para a região de Cerrados. Em 1990, a área cultivada nesta região foi de 801.674 ha, alcançando 431.628 toneladas (Pereira et al. 1992), o que representou uma produtividade média de 538 kg/ha. Grande parte desta produção foi oriunda de pequenas propriedades, onde a utilização de insumos é pequena e, por isso, a produtividade é baixa.

A inoculação é pouco utilizada pelos produtores de feijão, principalmente por desconhecimento sobre o seu benefício como uma fonte suplementar de nitrogênio para as plantas. Concorrem também para a não adoção dessa prática, alguns históricos de insucessos com a inoculação, particularmente por grandes produtores que cultivam o feijão irrigado, e buscam altos níveis de produtividade. Algumas das causas desse insucesso podem ser atribuídas ao uso de inoculantes de má qualidade, ao tratamento de sementes com pesticidas incompatíveis com o rizóbio inoculado, ou à perda de eficiência das estirpes utilizados nos inoculantes comerciais.

Outros fatores capazes de afetar a eficácia da inoculação do feijoeiro são a presença de estirpes ineficientes de rizóbio nativas no solo (Graham, 1981 e Saito, 1982), o ciclo curto da cultura (Barradas et al. 1989), a senescência precoce dos nódulos (Hungria & Franco, 1988), a grande variabilidade genética entre as cultivares de feijão (Graham & Halliday, 1977; Graham & Rosas, 1977 e Duque et al. 1985) e os baixos níveis de fertilidade dos solos cultivados com o feijoeiro (Graham, 1981 e Pereira & Bliss, 1989).

Seleção de estirpe

O potencial de fixação do N_2 das estirpes nativas de rizóbios que se associam com o feijoeiro, foi avaliado através de teste com isolados provenientes de solos de cerrados virgens, em trabalhos conduzidos em vasos com solução nutritiva esterilizada. A maioria dos isolados mostrou-se ineficiente, ou de baixa infectividade. Através do isolamento de nódulos pré-selecionados por redução do acetileno, segundo o método proposto por Peres et al. (1984), foi possível a seleção de estirpes de alta eficiência fixadora de N_2 , a partir da população nativa do solo.

Duas das estirpes selecionadas, CPAC H-21 e CPAC V-23, foram testadas em um solo de várzea recuperada através de drenagem. Foram utilizadas duas cultivares de feijoeiro e incluídas estirpes provenientes de outros laboratórios (Figura 5).



FIG. 5 - Feijão cultivado em um solo de várzea sem adubação nitrogenada. Plantas não inoculadas (primeiro plano) e inoculada (fundo).

Nas Tabelas 10 e 11 estão apresentados os dados médios de nodulação e rendimento de grãos das duas cultivares. Verifica-se através da ausência de nódulos nas plantas do tratamento testemunha que a área na qual os experimentos foram instalados não possuía rizóbios capazes de nodular o feijoeiro. Isso deve-se ao fato dos solos de várzea permanecerem inundados antes de sua drenagem para o cultivo, criando um ambiente desfavorável para o rizóbio. Em contraste, solos bem drenados geralmente apresentam população nativa de rizóbio (Saito, 1982 e Vargas et al. 1991). À exceção dos tratamentos inoculados com as estirpes UMR 1025, na cultivar Capixaba Precoce e CPAC V-23 na cultivar CNPAF-178, todos os tratamentos com inoculação apresentaram nodulação inicial abundante, o que é extremamente desejável em plantas de ciclo curto como o feijoeiro (Barradas et al. 1989), uma vez que a planta passa a se beneficiar da simbiose a partir dos estádios iniciais do seu desenvolvimento. As estirpes UMR 1026, UMR 1135, UMR 1149 e CIAT 899 destacaram-se entre as mais noduladas nos dois experimentos. Além dessas, as estirpes UMR 1020, UMR 1049 e UMR 1166 na cultivar Capixaba Precoce e UMR 1024, UMR 1090 e UMR 1640 na cultivar CNPAF-178 destacaram-se nessa avaliação, formando em média 40 nódulos/planta. As duas cultivares apresentaram boa nodulação aos 12 D.A.E (dias após a emergência), embora tenham sido utilizados níveis mais baixos de fertilizantes e calcário no experimento com a Capixaba Precoce. A maior influência do pH ocorre no processo de infecção dos pelos radiculares (Vargas & Graham, 1989) e formação dos nódulos (Dughri & Bottomley, 1983). Assim, o bom nível de nodulação inicial da Capixaba Precoce pode ser atribuído à tolerância dessa cultivar à toxidez de alumínio.

Os níveis de produtividade dos tratamentos testemunha, assim como dos tratamentos com adubação nitrogenada, foram semelhantes nas duas cultivares (Tabelas 10 e 11). Por outro lado, as respostas à inoculação foram maiores na cultivar CNPAF-178, provavelmente devido a um maior potencial de fixação biológica dessa cultivar.

TABELA 10 - Número e peso de nódulos e rendimento de grãos da cultivar de feijão Capixaba Precoce, em função da adubação nitrogenada e da inoculação com estirpes de rizóbio. Dados médios de três repetições¹.

Tratamentos	Nódulos	
	12 D.A.E. ²	Grãos
 número/planta kg/ha
UMR 1020	41 a	1381 bcd
UMR 1024	27 bc	1661 ab
UMR 1025	10 de	1201 cdef
UMR 1026	41 a	1482 bcd
UMR 1049	42 a	1111 def
UMR 1090	34 ab	1190 def
UMR 1116	26 bc	776 fg
UMR 1135	42 a	1627 abc
UMR 1144	20 cd	1062 def
UMR 1149	40 a	1234 bcde
UMR 1166	44 a	1417 bcd
UMR 1632	26 bc	871 efg
UMR 1640	36 ab	1255 bcde
CIAT 899	39 a	1431 bcd
CENA C-05	34 ab	1090 def
CPAC H-21	25 bc	1354 bcd
CPAC V-23	26 bc	1653 ab
Testemunha	0 e	576 g
100 kg N/ha	0 e	1894 a
C.V. (%)	23	18

¹ Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

² Dias após a emergência.

TABELA 11 - Número e peso de nódulos e rendimento de grãos da cultivar de feijão CNPAF-178, em função da adubação nitrogenada e da inoculação com estirpes de rizóbio. Dados médios de três repetições¹.

Tratamentos	Nódulos	
	16 D.A.E. ²	Grãos
 número/planta kg/ha
UMR 1020	34 abc	2354 ab
UMR 1024	39 ab	1257 def
UMR 1025	24 cde	1681 bcde
UMR 1026	39 ab	1479 cde
UMR 1049	27 bcd	1902 abcde
UMR 1090	38 ab	1752 bcde
UMR 1116	23 cde	1182 ef
UMR 1135	43 a	2526 a
UMR 1144	24 cde	1773 bcde
UMR 1149	42 a	1759 bcde
UMR 1166	27 bcd	1702 bcde
UMR 1632	20 de	1437 cdef
UMR 1640	39 ab	1727 bcde
CIAT 899	40 ab	2056 abc
CENA C-05	20 de	1683 bcde
CPAC H-21	24 cde	1571 cde
CPAC V-23	12 ef	1413 cdef
Testemunha	0 f	750 f
100 kg N/ha	0 f	1991 abcd
C. V. (%)	26	23

¹ Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

² Dias após a emergência.

Houve um comportamento diferenciado entre as estirpes na eficiência em fixar N₂ nas duas cultivares testadas, provavelmente em função dos diferentes graus de especificidade hospedeira entre as estirpes e as cultivares, após o estabelecimento da simbiose. No experimento conduzido com a cultivar Capixaba Precoce, nenhuma das estirpes promoveu ganhos superiores ao tratamento com 100 kg/ha de N. As estirpes que mais se destacaram foram UMR 1024, UMR 1135 e CPAC V-23, que proporcionaram ganhos médios de 1071 kg/ha de grãos, em relação ao tratamento testemunha. As estirpes UMR 1116 e UMR 1632 apresentaram os menores ganhos de produção, cerca de 247 kg/ha de grãos, em relação à testemunha. As demais proporcionaram ganhos que variaram de 486 a 906 kg/ha de grãos.

No experimento conduzido com a cultivar CNPAF-178 as estirpes UMR 1020, UMR 1135 e CIAT 899 proporcionaram ganhos iguais ou superiores ao do tratamento com 100 kg/ha de N, sendo superiores em média, de 1562 kg/ha de grãos, em relação ao tratamento testemunha. As estirpes UMR 1024 e UMR 1116 obtiveram os menores ganhos de produção, cerca de 469 kg/ha em relação à testemunha. Para as demais estirpes os ganhos variaram de 663 a 1152 kg/ha de grãos. A baixa eficiência fixadora da estirpe UMR 1116 também foi reportada por Vargas & Graham (1989), que verificaram que à medida que aumentava sua participação na nodulação das cultivares Negro Argel e Preto 23, ocorria uma redução na matéria seca da parte aérea das plantas. Esses resultados evidenciaram as diferenças na eficiência fixadora das estirpes de rizóbio testadas e seu comportamento diferenciado com as cultivares de feijoeiro usadas, conforme também foi reportado por outros autores, com base em experimentos conduzidos em casa de vegetação (Pacovsky et al. 1984; Hungria & Neves, 1986 e 1987; Hungria & Ruschel, 1987 e Vargas & Graham, 1989) e em campo (Saito, 1982).

Resposta à inoculação e à adubação nitrogenada

Em três experimentos conduzidos em solos de cerrados sob condições de sequeiro, avaliou-se a resposta de sete cultivares de feijão à inoculação e à adubação nitrogenada. A ocorrência de nódulos aos 12 D.A.E. nas plantas do tratamento testemunha demonstra a presença de estirpes nativas de rizóbio nas áreas experimentais (Tabela 12). O número de nódulos por planta foi significativamente maior no tratamento com inoculação do que nos tratamentos testemunha e com nitrogênio, na avaliação aos doze dias. Todas as cultivares apresentaram, em média, mais de vinte nódulos por planta, numa fase bem inicial do ciclo. A precocidade de nodulação tem sido considerada de grande importância para o feijoeiro (Barradas et al. 1989) devido ao seu ciclo curto.

TABELA 12 - Número médio de nódulos por planta, aos 12 dias após a emergência de sete cultivares de feijão, em função da inoculação e adubação nitrogenada. Dados médios de três repetições.

Cultivar	Tratamento ¹	Nódulos/planta		
		1985	1986	1987
Carioca	Testemunha	7 b	1 b	4 b
	Inoculado	42 a	37 a	27 a
	Nitrogênio	8 b	2 b	2 b
Rio Tibagi	Testemunha	8 b	2 b	4 b
	Inoculado	21 a	22 a	19 a
	Nitrogênio	3 b	2 b	2 b
CNPAF-178	Testemunha	7 b	1 b	2 b
	Inoculado	35 a	25 a	21 a
	Nitrogênio	10 b	1 b	1 b
Negro Argel	Testemunha	10 b	1 b	4 b
	Inoculado	38 a	44 a	20 a
	Nitrogênio	5 b	4 b	2 b
CNF-10	Testemunha	12 b	3 b	-
	Inoculado	36 a	25 a	-
	Nitrogênio	17 b	2 b	-
CNF-2234	Testemunha	8 b	-	1 b
	Inoculado	29 a	-	23 a
	Nitrogênio	8 b	-	2 b
Capixaba Precoce	Testemunha	-	2 b	2 b
	Inoculado	-	29 a	14 a
	Nitrogênio	-	2 b	1 b

¹ Os inoculantes utilizados nos experimentos de 1985, 86 e 87 foram preparados com as estirpes DF H-6 + CENA C-05; CPAC V-23 + CENA C-05 e CPAC V-23 + UMR 1135, respectivamente. As doses de N foram 70, 100 e 75 kg N/ha para os três experimentos. As análises estatísticas foram efetuadas com correção da variância. Para um mesmo cultivar os valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5%. Para análise estatística, os valores foram transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

Na avaliação de nodulação realizada aos 37 D.A.E. (Tabela 13), o número e peso de nódulos do tratamento inoculado foram maiores do que os do tratamento testemunha, mas as diferenças só foram significativas, ao nível de 5% de probabilidade, para os cultivares Carioca (1985; número e peso de nódulos), Rio Tibagi (1986; número de nódulos), CNPAF-178 (1985; peso de nódulos) e Negro Argel (1986 e 1987; número e peso de nódulos). A nodulação medida nesta idade no experimento de 1986 foi muito baixa devido à ausência dos nódulos ocorrida em função do déficit hídrico causado por um veranico do 13° ao 42° D.A.E. das plantas. Sprent (1976) também cita o efeito de stress hídrico na nodulação. Nos experimentos de 1985 e 1987, verificou-se que o cultivar Rio Tibagi, em média, foi inferior aos demais, enquanto houve destaque para o Carioca, Negro Argel e CNF-2234, que apresentaram um maior número e peso de nódulos.

TABELA 13 - Número médio e peso de nódulos por planta, aos 37 dias após a emergência (D.A.E.), de sete cultivares de feijão, em função da inoculação e adubação nitrogenada. Dados médios de três repetições¹.

Cultivar	Tratamento ²	Nódulos/planta			Peso nódulos/planta		
		1985	1986	1987	1985	1986	1987
		n°			mg		
Carioca	Testemunha	15 b	1 a	5 a	5 b	1 a	4 a
	Inoculado	74 a	9 a	24 a	47 a	7 a	15 a
	Nitrogênio	20 b	0 b	1 b	11 b	0 a	1 a
Rio Tibagi	Testemunha	11 a	2 b	5 a	4 a	0 a	5 a
	Inoculado	12 a	16 a	10 a	9 a	8 a	11 a
	Nitrogênio	9 a	0 b	1 a	5 a	0 a	0 a
CNPAF-178	Testemunha	12 a	1 a	5 a	9 b	5 a	2 a
	Inoculado	44 a	13 a	14 a	37 a	6 a	13 a
	Nitrogênio	17 a	1 a	3 a	9 b	0 a	2 b
Negro Argel	Testemunha	21 a	4 b	7 b	13 a	3 b	8 b
	Inoculado	40 a	62 a	33 a	34 a	50 a	38 a
	Nitrogênio	22 a	1 b	1 b	18 a	0 b	2 b
CNF-10	Testemunha	10 b	4 a	-	5 a	1 a	-
	Inoculado	21 ab	9 a	-	13 a	3 a	-
	Nitrogênio	41 a	0 a	-	21 a	0 a	-
CNF-2234	Testemunha	26 a	-	7 b	23 a	-	10 b
	Inoculado	28 a	-	38 a	24 a	-	48 a
	Nitrogênio	37 a	-	2 b	14 a	-	1 b
Cap. Precoce	Testemunha	-	1 a	3 a	-	1 a	6 a
	Inoculado	-	13 a	17 a	-	13 a	31 a
	Nitrogênio	-	1 a	4 a	-	0 a	5 a

¹ No experimento de 1986 essa avaliação foi efetuada aos 61 dias após a emergência.

² Os inoculantes utilizados nos experimentos de 1985, 86 e 87 foram preparados com as estirpes DF H-6 + CENA C-05; CPAC V-23 + CENA C-05 e CPAC V-23 + UMR 1135, respectivamente. As doses de N foram 70, 100 e 75 kg N/ha para os três experimentos. As análises estatísticas foram efetuadas com correção da variância. Para uma mesma cultivar os valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tuckey a 5%. Para análise estatística, os valores de números de nódulos foram transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

As diferenças entre os níveis médios de produtividade dos três experimentos (Tabela 14), não puderam ser explicadas em função da distribuição de chuvas. No ano de 1986 foram obtidos os melhores níveis médios de produtividade (1250 kg/ha de grãos, em comparação com 688 e 993 kg/ha, nos experimentos de 1985 e 1987, respectivamente) e no entanto, foi o ano de menor precipitação no período de condução do experimento. Estes níveis maiores de produtividade podem ser atribuídos ao fato das condições climáticas terem sido adversas para o surgimento de doenças no feijoeiro e desfavoráveis à lixiviação do N mineralizado do solo. Observa-se que em dois casos apenas (1986, Negro Argel; 1987, Carioca) houve diferença estatisticamente significativa (5% de probabilidade) entre o tratamento inoculado e a testemunha.

TABELA 14 - Rendimento de grãos de sete cultivares de feijão em função da inoculação e adubação introgenada. Dados médios de três repetições.

Cultivar	Tratamento ¹	Grãos		
		1985	1986	1987
		kg/ha		
Carioca	Testemunha	584 b	1178 a	669 b
	Inoculado	800 ab	1342 ab	1158 a
	Nitrogênio	973 a	1629 a	1212 a
Rio Tibagi	Testemunha	580 a	1644 b	1052 a
	Inoculado	569 a	1866 ab	1331 a
	Nitrogênio	794 a	2099 a	1250 a
CNPAP-178	Testemunha	513 a	1041 b	703 b
	Inoculado	618 a	1222 ab	940 ab
	Nitrogênio	806 a	1516 a	1080 a
Negro Argel	Testemunha	579 a	1284 b	666 a
	Inoculado	878 a	1753 a	773 a
	Nitrogênio	886 a	1413 ab	933 a
CNF-10	Testemunha	472 a	555 a	-
	Inoculado	515 a	638 a	-
	Nitrogênio	731 a	766 a	-
CNF-2234	Testemunha	490 b	-	1095 a
	Inoculado	670 ab	-	1184 a
	Nitrogênio	932 a	-	1253 a
Capixaba Precoce	Testemunha	-	695 a	623 b
	Inoculado	-	835 a	868 b
	Nitrogênio	-	1040 a	1084 a

¹ Os inoculantes utilizados nos experimentos de 1985, 86 e 87 foram preparados com as estirpes DF H-6 + CENA C-05; CPAC V-23 + CENA C-05 e CPAC V-23 + UMR 1135, respectivamente. As doses de N foram 70, 100 e 75 kg N/ha para os três experimentos. As análises estatísticas foram efetuadas com correção da variância. Para um mesmo cultivar os valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem entre si.

A produção do tratamento inoculado no entanto foi consistentemente superior à do tratamento testemunha, com uma diferença média de 197 kg/ha. A única exceção foi o cultivar Rio Tibagi no experimento de 1985. Em diversos casos a produção com nitrogênio foi estatisticamente superior à do tratamento testemunha e em apenas um caso (Capixaba Precoce, em 1987), este tratamento foi estatisticamente superior ao tratamento inoculado. A cultivar CNF-10 apresentou o menor ganho com a inoculação. Esta cultivar teve, em termos relativos, a melhor resposta à adubação nitrogenada, em média, 234 kg/ha (cerca de quatro vezes mais do que a média de ganho com o tratamento inoculado), evidenciando um baixo potencial para a fixação do nitrogênio. Mesmo a cultivar Rio Tibagi, que apresentou os menores valores de nodulação, obteve ganhos de produção com a inoculação, fato também observado por Duque et al. (1985), indicando que mesmo em condições de pouca nodulação, estirpes eficientes são capazes de contribuir de forma expressiva para o rendimento de grãos do feijoeiro.

Os ganhos médios de produção obtidos nos três experimentos com a inoculação, para as cultivares Carioca, Rio Tibagi, CNPAF-178, Negro Argel, CNF-10, CNF 2234 e Capixaba Precoce, foram de: 90, 163, 174, 291, 63, 135 e 193 kg/ha, respectivamente. As respostas diferenciadas, em termos de ganhos de produção com a inoculação, demonstram a variabilidade no potencial de fixação do nitrogênio entre as diferentes cultivares de feijão, conforme verificado em outros trabalhos (Graham & Halliday, 1977; Rennie & Kemp, 1983; Duque et al. 1985; Hungria & Neves, 1986, 1987 e Vargas et al. 1991). A cultivar Carioca, que é uma das mais utilizadas na região dos cerrados, apresentou no experimento de 1987, um ganho com a inoculação de 489 kg de grãos, evidenciando um elevado potencial de resposta à inoculação, embora esta característica não tenha sido levada em consideração ao longo do processo de melhoramento genético dessa variedade.

Em todas as cultivares os ganhos médios obtidos com nitrogênio, foram superiores aos obtidos com a inoculação (461, 289, 380, 234, 235, 300 e 403 kg/ha, respectivamente).

Os resultados obtidos evidenciam a importância da continuidade dos trabalhos de seleção de estirpes com maior eficiência fixadora de nitrogênio e enfatizam a importância da avaliação da resposta das diferentes cultivares de feijão, à inoculação e adubação nitrogenada, antes do seu lançamento para utilização pelos agricultores, principalmente quando o potencial de fixação de N₂ não é uma característica considerada ao longo do processo de melhoramento.

Referências Bibliográficas

- BARRADAS, C.A.; BODDEY, L.H.; HUNGRIA, M.A. Seleção de cultivares de feijão e estirpes de *Rhizobium* para nodulação precoce e senescência tardia dos nódulos. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, v. 13, n. 2, p.169-179, 1989.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Levantamento semidetalhado dos solos de áreas do Ministério da Agricultura do Distrito Federal**. Rio de Janeiro, Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, 1966. 135p. (Boletim Técnico, 8).
- CARTWRIGHT, P.M. The effect of combined nitrogen on the growth and nodulation of excide roots of *Phaseolus vulgaris* L. **Ann. Bot. London**, v. 31, n. 1, p.309-321, 1967.
- DUGHRI, M.H.; BOTTOMLEY, P.J. Effect of acidity on the composition of an indigenous soil population of *Rhizobium trifolii* found in nodules of *Trifolium subterraneum* L. **Appl. Environm. Microb.**, v. 46, n. 5, p.1207-1213, 1983.
- DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L.; BODDEY, R.M. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N. **Pl. Soil**, Dordrecht, v. 88, n. 3, p.333-343, 1985.
- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*: a review. **Field crops res.**, Amsterdam, v. 4, n. 2, p.93-112, 1981.
- GRAHAM, P.H.; HALLIDAY, J. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In: VINCENT, J.M. ed. **Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture**. Hawaii: College of Tropical Agriculture, 1977. p.313-334 (Miscel. Publ., 145).

- GRAHAM, P.H.; ROSAS, J.C.C Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. **J. Agric. Sci.**, Cambridge, v. 88, n. 2, p.503-508, 1977.
- HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris*. **Trop. Agric.**, Trinidad, v. 65, n.4, p.341-346, 1988.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Ontogenia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 21, n. 7, p.715-730, 1986.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Interação entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação e transporte do nitrogênio. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 21, n. 1, p.27-140, 1986.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effect on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. **Pl. Soil**, Dordrecht, v. 103, n. 1, p.111-121, 1987.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Cultivar and *Rhizobium* strain effect on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. **Pl. Soil**, Dordrecht, v. 103, n. 1, p.111-121, 1987.
- HUNGRIA, M.; RUSCHEL A.P. Atividade da nitrogenase e evolução do hidrogênio pelos nódulos de *Phaseolus vulgaris*. **Rev. bras. Ci. Solo**, v. 11, n. 3, p.269-274, 1987.
- PACOVSKY, R.S.; BAYNE, H.G.; BETHLENFAIVAY, G.J. Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Sci.**, Madison, v. 24, n. 1, p.101-105, 1984.
- PEREIRA, P.A.A.; BLISS, F.A. Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for N₂ fixation at different levels of available phosphorus under field environmentally - controlled conditions. **Pl. Soil**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p.75-82, 1989.
- RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. 1. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. **Agron. J.**, Madison, v. 75, n. 4, p.640-644, 1983a.
- RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. 2. Effects of cultivars of beans. **Agron. J.**, Madison, v. 75, n. 4, p.645-649, 1983b.
- SAITO, S.M.T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 17, n. 7, p.999-1006, 1982.
- SPRENT, J. Nitrogen fixation by legumes subjected to water and light stresses. In: NUTMAN, P.S., ed. **Symbiotic nitrogen fixation in plants**. London, Cambridge University Press, p.308-329, 1976.
- SUHET, A.R.; PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T. Nitrogênio. In: GOEDERT, W.J. **Solos dos Cerrados**. Planaltina, Nobel/EMBRAPA, 1986, p.167-202.

- VARGAS, A.A.T.; GRAHAM, P. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. **Pl. Soil**, Dordrecht, v. 117, n. 2, p.195-200, 1989.
- VARGAS, A.A.T.; SILVEIRA, J.S.M.; ATHAYDE, J.T.; PACOVA, B.E.V. Comparação entre genótipos de feijão quanto à capacidade nodulante e à produtividade com inoculação com rizóbios e ou adubação de N-mineral. **R.bras.Ci.Solo**, Campinas, v. 15, n. 3, p.267-272, 1991.
- VARGAS, A.A.T.; ATHAYDE, J.T.; GRAHAM, P. Métodos de inoculação do feijoeiro com *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli*. **Rev. Microb.**, São Paulo, v. 21, n. 1, p.5-10, 1990.
- VARGAS, A.A.T.; SILVEIRA, J.S.M.; ATHAYDE, J.T.; PACOVA, B.E.V. Comparação entre genótipos de feijão quanto à capacidade nodulante e à produtividade com inoculação com rizóbios e/ou adubação de N-mineral. **R.bras.Ci.Solo**, Campinas, v. 15, n. 1, p.267-272, 1991.
- VARGAS, M.A.T. e SUHET, A.R. Efeitos da inoculação e de deficiência hídrica no desenvolvimento da soja em um solo de Cerrado. **R.bras.Ci.Solo**, v. 4, n. 1, p.17-21. 1980.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164p.

**LEGUMINOSAS DE
INVERNO**

LEGUMINOSAS DE INVERNO

Ervilha

A ervilha (*Pisum sativum* L.) é uma leguminosa de inverno, tradicionalmente cultivada em regiões de clima temperado ou subtropical. É uma cultura que exige temperaturas amenas durante o seu ciclo e desenvolve-se bem em regiões próximas ao equador, quando cultivada em altitudes mais elevadas.

A viabilidade da cultura da ervilha nos cerrados foi demonstrada a partir dos trabalhos conduzidos no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC (Galvão et al. 1974), sendo obtidas produções de até 3200 kg/ha de grãos. Este trabalho demonstrou que a semeadura dessa leguminosa de abril até meados de maio, possibilita o seu desenvolvimento em uma época de temperaturas amenas e a sua colheita no período seco, permitindo a obtenção de grãos com baixa umidade e com menor incidência de problemas fitossanitários.

A partir dos estudos de manejo e seleção de variedades de ervilha conduzidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da EMBRAPA, ela passou a ser considerada como uma alternativa economicamente viável para os agricultores da região.

A adubação nitrogenada para a ervilha era uma prática rotineira, devido principalmente à baixa eficiência das estirpes de *Rhizobium* utilizadas nos inoculantes comerciais. A recomendação para a fertilização desta cultura incluía o uso de formulações com nitrogênio para a adubação no plantio, e cerca de 150 kg/ha de nitrato de amônia aplicado

em cobertura (Giordano et al. 1981). Trabalhos posteriores conduzidos no CPAC por Peres et al. 1984 e em 1989 demonstraram que a ervilha pode ser cultivada nos cerrados sem adubos nitrogenados, quando inoculada com estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* (Figura 6).

Na Tabela 15 estão alguns dados de um experimento conduzido num latossolo de cerrado. Não ocorreram nódulos nas cultivares sem inoculação (dados não apresentados), demonstrando a inexistência de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* no solo. A inoculação promoveu um aumento significativo na produção de matéria seca e no nitrogênio total das plantas, apenas na variedade Cobri e um aumento significativo no rendimento de grãos, em todas as variedades estudadas, exceto na variedade 86-295, que foi a que apresentou as menores produtividades. Os ganhos com a inoculação variaram de 63 a 240% em relação à testemunha. Os rendimentos de grãos das plantas inoculadas atingiram valores de até 2582 kg/ha e foram iguais ou superiores aos obtidos com 80 kg/ha de N, demonstrando a eficiência da fixação biológica do N₂ na ervilha. Apesar do valor do nitrogênio total acumulado nos grãos das plantas ter sido sempre superior ao da testemunha, apenas na variedade Cobri esta diferença foi estatisticamente significativa.

TABELA 15 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada em seis cultivares de ervilha¹.

Variedade	Tratamento	Parte aérea		Grãos (kg/ha)	
		Mat. seca (g planta)	N total (mg planta)	Total	N total
86-081	Inoculado	1,23 a	52,3 a	2582 a	95,7 a
	80 kg N	1,82 a	41,3 a	2512 a	85,3 a
	Testemunha	1,29 a	31,8 a	1634 b	43,5 a
86-082	Inoculado	1,38 a	55,9 a	2382 a	90,0 a
	80 kg N	2,18 a	54,8 a	2252 a	76,3 a
	Testemunha	1,57 a	42,2 a	1105 b	32,7 a
86-084	Inoculado	1,42 a	46,8 a	2537 a	90,3 a
	80 kg N	1,83 a	42,5 a	1588 b	50,6 a
	Testemunha	1,98 a	53,6 a	1377 b	35,3 a
86-295	Inoculado	1,03 a	35,8 a	1396 a	45,4 a
	80 kg N	1,98 a	56,3 a	1321 a	44,1 a
	Testemunha	1,21 a	30,4 a	734 a	21,5 a
Triofin	Inoculado	2,14 a	88,0 a	2390 a	86,5 a
	80 kg N	2,17 a	42,5 a	2049 a	67,8 a
	Testemunha	1,84 a	48,8 a	1016 b	27,7 a
Cobri	Inoculado	1,80 a	77,1 a	1824 a	65,9 a
	80 kg N	1,38 ab	35,3 b	1357 b	42,8 b
	Testemunha	1,03 b	23,8 c	773 c	22,9 c

¹ Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste Duncan a 5%.



FIG. 6 - Ervilha não inoculada (primeiro plano) e inoculada (fundo).

Em um experimento conduzido num solo Gleí Pouco Húmico distrófico com a cultivar Caprice, não ocorreram nódulos no tratamento testemunha (Tabela 16), demonstrando a inexistência de estirpes de rizóbio capazes de nodular a ervilha, resultado similar ao apresentado anteriormente. As estirpes CPAC EV6 e SEMIA 3007 foram as que apresentaram maior número de nódulos, enquanto que para o peso de nódulos, a estirpe SEMIA 3007 foi estatisticamente superior às demais. Todas as estirpes elevaram significativamente a percentagem de N nos grãos, sendo a SEMIA 3007 e a mistura das estirpes, superior à adubação nitrogenada para essa variável, exceto pelo nível de 160 kg/ha de N (Tabela 16). A produtividade obtida no tratamento testemunha (sem N e sem inoculação), foi relativamente elevada, provavelmente devido ao N inorgânico mineralizado da matéria orgânica do solo. Isso poderia explicar também o

alto rendimento de grãos no tratamento com a SEMIA 374, que apresentou baixa nodulação.

Mesmo com a alta produtividade obtida no tratamento testemunha, a inoculação com as estirpes CPAC EV6 e SEMIA 3007 aumentou em mais de 800 kg/ha de grãos a produtividade da ervilha. A quantidade de N extraída pelos grãos nesses tratamentos inoculados foi ao redor de 130 kg/ha de N, enquanto que na testemunha a extração foi de 63 kg/ha. A extração de N pelos grãos no tratamento onde foi aplicado 160 kg/ha de N foi de 100 kg/N/ha indicando que a eficiência da adubação nitrogenada foi baixa, mesmo nas condições de irrigação em que foi conduzido o experimento, onde teoricamente as perdas por lixiviação são minimizadas.

TABELA 16 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada na ervilha cultivar Caprice, cultivada num solo Gley Pouco Húmico de cerrado¹.

Tratamentos	Nodulação/planta			Grãos	
	Número	Peso (mg)	% N	N total (kg/ha)	Rendimentos (kg/ha)
Testemunha	0	0	2,4 d	63 d	2558 d
40 kg N/ha	0	1	3,2 c	92 c	2869 bcd
80 kg N/ha	0	0	3,3 bc	91 c	2746 cd
120 kg N/ha	0	0	3,3 bc	85 c	2554 d
160 kg N/ha	0	0	3,7 a	100 bc	2705 d
CPAC EV6	24 a	32 b	3,6 ab	119 ab	3301 abc
SEMIA 374	0 b	2 c	3,1 c	90 c	2869 bcd
SEMIA 3007	18 a	67 a	3,9 a	131 a	3395 ab
Mistura de estirpe	12 b	33 b	3,8 a	132 a	3507 a

¹ Valores seguidos da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste Duncan a 5%.

A Figura 7 mostra a atividade da nitrogenase durante o ciclo da ervilha, cultivar Caprice. A fixação do N₂ atingiu seu máximo no início do enchimento dos grãos, e

mesmo tendo se reduzido algum tempo após essa data, manteve-se num nível relativamente alto até o final do ciclo das plantas. Esses dados mostram que a simbiose é capaz de suprir a ervilha em nitrogênio durante todo o seu ciclo, e atinge o seu nível mais alto no período de enchimento dos grãos, quando a demanda de nitrogênio pelas plantas é maior. Na Figura 8 é apresentada uma área cultivada com ervilha inoculada e sem o uso de fertilizantes nitrogenados.

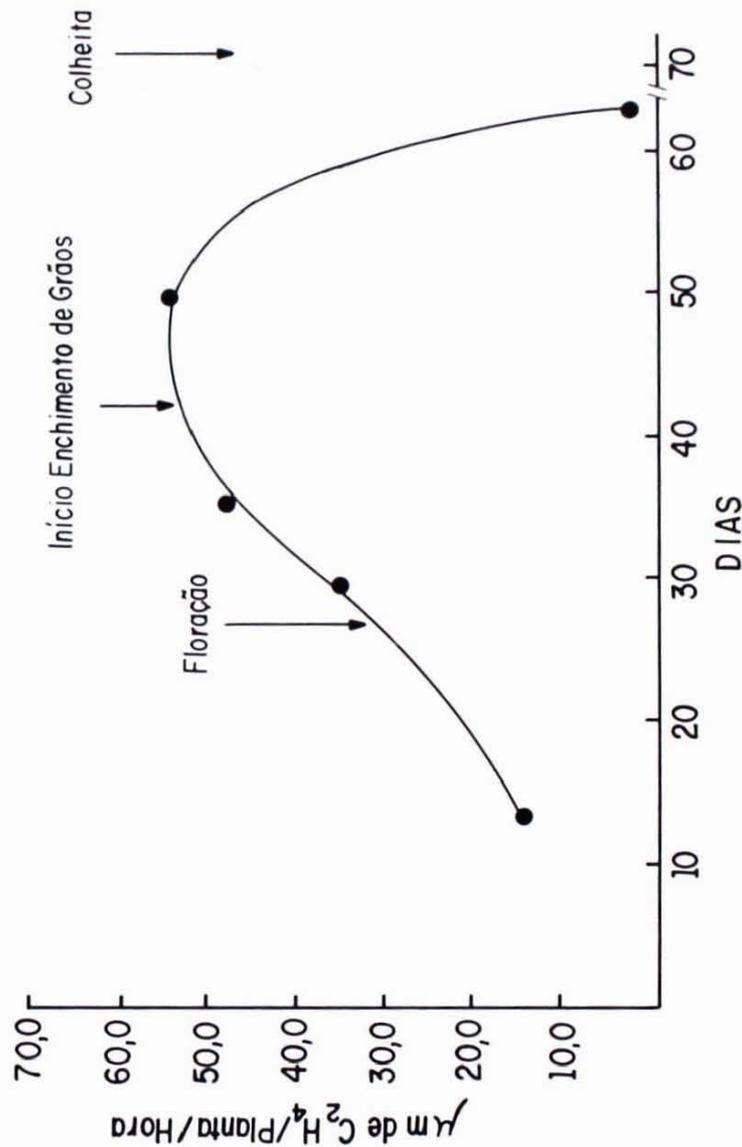


FIG. 7 - Fixação do N₂ em diferentes estádios de desenvolvimento de ervilha (Caprice) em um solo Gley Pouco Húmico de cerrado.



FIG. 8 - Ervilha inoculada, cultivada sem o uso de fertilizantes nitrogenados.

Lentilha

A lentilha (*Lens esculenta* Moench) vem sendo introduzida nos cerrados brasileiros como uma cultura alternativa de inverno. Em associação com *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* ela converte o nitrogênio atmosférico numa forma assimilável pela planta. Apesar desse potencial, essa leguminosa tem sido cultivada nos cerrados sem a prática da inoculação, a qual tem sido preterida pelo uso de fertilizantes nitrogenados, devido, principalmente, à inexistência de estirpes de *R. leguminosarum* eficientes e adaptadas aos solos da região.

A partir de isolados obtidos em solos de cerrados anteriormente cultivados com lentilha, foram selecionadas estirpes que apresentaram alto potencial de fixação de N₂ em vasos com solo. Algumas dessas estirpes foram testadas no campo com a cultivar "Híbrida Precoce".

A ausência de nódulos no tratamento testemunha (Tabela 17) sugere que não havia *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* na área experimental. Apesar do isolado CPAC-L6 ter apresentado tendência de aumento da massa nodular em relação aos demais, apenas o CPAC-L12 diferiu estatisticamente dos outros tratamentos nessa variável, pelo teste Duncan a 5%. Em termos de produção de matéria seca da parte aérea das plantas, os tratamentos com inoculação não diferiram entre si e nem do tratamento com nitrogênio, mas foram estatisticamente superiores ao tratamento testemunha. Para o rendimento e N dos grãos, os tratamentos com inoculação foram significativamente superiores aos tratamentos testemunha e com N mineral, confirmando observações de Kumar et al. (1988) e Bhattacharyya & Sen Gupta (1981) sobre a resposta da lentilha à inoculação em solos onde não existe população estabelecida de *R. leguminosarum* biovar *viceae*.

TABELA 17 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada no peso de nódulos e da matéria seca da parte aérea, determinados 35 dias após a emergência, e no rendimento e N total dos grãos de lentilha, variedade híbrida precoce. Dados médios de quatro repetições ⁽¹⁾.

Tratamentos	Peso dos nódulos mg/planta	Matéria seca da parte aérea g/planta	Grãos	
			Rendimento	N total
			kg/ha	
Testemunha	0 c	0,72 b	1050 c	27,0 c
60 kg N-uréia/ha	0 c	1,11 a	2153 b	58,0 b
SEMIA 344	18 b	1,01 a	2706 a	85,3 a
CPAC-L3	16 b	1,01 a	3026 a	89,3 a
CPAC-L6	21 ab	1,14 a	2665 a	78,2 a
CPAC-L10	15 b	1,12 a	2784 a	83,2 a
CPAC-L11	18 b	1,10 a	2654 a	78,1 a
CPAC-L12	26 a	1,24 a	3006 a	95,4 a
Coefficiente de variação(%)	35	15	11	16

(¹) Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si (teste Duncan A 5%)

Fonte: Vargas et al. 1994.

Os isolados CPAC-L3, CPAC-L10 e CPAC-L11 foram derivados das estirpes SEMIA 344 e SEMIA 362. Devido ao fato de terem sido isolados de solos de cerrados, a partir de nódulos que apresentaram alta atividade específica da nitrogenase, supunha-se que seriam mais eficientes e adaptados aos cerrados do que as estirpes originais. Contudo, apenas trabalhos detalhados de caracterização poderiam definir se os isolados realmente diferiam das estirpes originais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos de inoculação na produção e N dos grãos. Contudo, os isolados CPAC-L3 e CPAC-L12 mostraram nestas duas variáveis valores mais elevados de que os dos demais tratamentos. Na produção de grãos a diferença entre o isolado CPAC-L3 e a estirpe SEMIA 344 foi de 320 kg/ha e entre o isolado CPAC-L12 e a estirpe SEMIA 344 foi de 300 kg/ha. Os maiores rendimentos obtidos nos tratamentos com inoculação em relação ao tratamento com 60 kg/ha de N comprovam as vantagens econômicas da inoculação. Além de propiciar menor custo de produção, a inoculação promoveu ganhos adicionais de até 873 kg/ha de grãos em relação ao tratamento com nitrogênio.

Referências Bibliográficas

- BHATTACHARYYA, P. & SENGUPA, K. Effect of seed inoculation with *Rhizobium* on grain yield in lentil. **Ind. Biol.**, Índia, v. 14, p.31-35, 1981.
- GALRÃO, E.Z.; VARGAS, M.A.T.; LOBATO, E.; OLIVEIRA, H.A. Época de semeadura de ervilha (*Pisum sativum*) para a produção de sementes no Brasil Central. **Pesq.agropec.bras.**, Sér.agron., v.9, n.10, p.117-119, 1974.
- GIORDANO, L.B.; ANDREOLI, C.; CARRIJO, O.A. **Cultivo de ervilha (*Pisum sativum* L) nas condições de cerrado**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1981. (EMBRAPA-CNPQ. Instruções Técnicas, 1).
- KHUMAR, A.; MALIK, M.K.; AHMAD, N. Effect of mixed culture inoculation of *Rhizobium* and *Azotobacter* on yield, nutrient uptake and quality of lentil in calcareous soil. **Lens Newsletter**, Aleppo, Síria, v. 15, n. 2, p.21-27, 1988.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. **Inoculação de ervilha com *Rhizobium leguminosarum* em solos de Cerrados**. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1984. (EMBRAPA-CPAC. Comunicado Técnico, 33).

- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; VARGAS, M.A.T. Fixação de nitrogênio atmosférico pela ervilha em solos de Cerrados. **Inf. agropec.**, Belo Horizonte, v. 158, p.16-19, 1989.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Variabilidade na eficiência em fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. **R.bras.Ci.Solo**, v. 8, p.193-196, 1984.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; PERES, J.R.R.; SUHET, A.R. Resposta da lentilha à inoculação e à adubação nitrogenada em um solo de cerrados. **R.bras.Ci.Solo**, v. 18, p.147-149, 1994.

LEGUMINOSAS

FORRAGEIRAS

LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS

Introdução

Nos cerrados, tanto em áreas virgens, quanto em cultivadas é frequentemente observada a ocorrência natural de nódulos em plantas de várias espécies de leguminosas forrageiras. Essa nodulação está associada à ocorrência generalizada de *Rhizobium* nos solos da região, chegando a atingir valores de até 10⁶ células/g de solo (número mais provável, utilizando-se o siratro como planta teste). Norris (1956) chama a atenção sobre a ocorrência generalizada de *Rhizobium* sp, em solos tropicais, capazes de formar associações com leguminosas promíscuas (leguminosas que se associam a vários grupos de rizóbio). Vários autores têm mencionado a ocorrência de nódulos efetivos em leguminosas não inoculadas em solos da África (Adegbola & Onayinka, 1966 e Horrel & Court, 1965), Ásia (Chandapillai, 1972) e nos cerrados do Brasil (Vargas & Suhet, 1981). Entretanto, não há informações sobre a contribuição desta nodulação em termos de nitrogênio para as plantas.

A maior parte das leguminosas forrageiras apresentam-se promíscua em termos de sua especificidade hospedeira em relação ao *Rhizobium*. Essas leguminosas, incluindo a *Galactia*, *Calopogonium*, *Dolichos*, *Vigna*, *Zornia*, *Pueraria*, *Neonotonia*, *Macroptilium*, dentre outras, são passíveis de inoculação cruzada, ou seja, nodulam efetivamente com estirpes de *Rhizobium* que se associam a outras espécies, sendo, portanto, improvável a sua resposta à inoculação em condições de solos tropicais.

O gênero *Stylosanthes* foi classificado inicialmente como promiscuo (Galli, 1958 e Norris, 1956) mas, posteriormente comprovou-se a ocorrência de especificidade hospedeira em algumas espécies deste gênero, mesmo entre variedades e ecotipos da mesma espécie (Norris, 1967 e Souto et al. 1972). Também a *Centrosema* apresenta certa especificidade hospedeira (Bowen, 1959 e Dobereiner, 1970) e a *Leucaena* nodula apenas com estirpes específicas de *Rhizobium* sp. (Trinick, 1968).

Os trabalhos de pesquisa em fixação biológica do N₂ em leguminosas forrageiras iniciaram-se nos Cerrados em 1979. As pesquisas concentraram-se na avaliação do potencial de fixação do N₂ das estirpes nativas em associação com leguminosas forrageiras promiscuas, em levantamentos da necessidade de inoculação, e na seleção de estirpes de *Rhizobium* para *Leucaena* e *Centrosema*.

Fixação de N₂ por estirpes nativas

Foram efetuadas avaliações em leguminosas forrageiras cultivadas no campo, sem inoculação, visando estudar a contribuição das estirpes nativas na economia de nitrogênio das plantas, utilizando-se a técnica de redução do acetileno. Dentre as forrageiras testadas, a *Galactia striata*, *Calopogonium mucunoides*, *Macroptilium atropurpureum*, *Zornia brasiliensis* e vários ecotipos de *Stylosanthes guyanensis*, *S. viscosa* e *S. scabra* apresentaram um nível de atividade de nitrogenase de média a alta (1 a 9 μ moles de etileno/planta/h), enquanto que os ecotipos de *S. capitata* e *S. macrocephala* apresentaram-se quase sempre com poucos nódulos. Entretanto, as plantas dessas espécies apresentaram-se sempre bem desenvolvidas e sem sintomas visuais de deficiência de N.

Em trabalhos posteriores, ficou comprovado que a baixa nodulação do *S. capitata* e *S. macrocephala* era devido à sua maior sensibilidade ao N mineral do solo. Em um

experimento conduzido em casa de vegetação, a adição de palha de arroz ao solo para reduzir o N mineral elevou acentuadamente a nodulação e a atividade de nitrogenase de *S. capitata* e *S. macrocephala* (Tabela 18). A nodulação de *S. guyanensis* não foi muito alterada pela adição de palha, indicando ser esta espécie pouco sensível ao N natural do solo. Por outro lado, não houve efeito da adição de palha no N total da parte aérea, demonstrando que nas plantas com baixa nodulação no tratamento sem palha, o nitrogênio do solo foi suficiente para suprir as necessidades das plantas nesse nutriente.

O efeito inibidor do N natural na formação de nódulos, pode ser também uma explicação para a baixa nodulação que ocorre na maioria das leguminosas forrageiras, após o primeiro ano do seu estabelecimento. A elevação do teor de N do solo seria acentuada pelo acúmulo de restos vegetais das leguminosas, além da contínua mineralização do nitrogênio orgânico.

TABELA 18 - Efeito da adição de palha de arroz na simbiose e desenvolvimento de *Stylosanthes* spp. Dados por planta em média de três repetições.

Espécie	Níveis de palha(g/vaso)	Nódulos		Atividade da nitrogenase (μ moles et./h)	Matéria seca (g)	Nitrogênio total (mg)
		Número	Peso (mg)			
<i>S. capitata</i>	0	3,9	0,3	0,1	0,34	10,0
"	6	18,7	3,9	1,9	0,52	12,0
"	12	24,8	4,8	2,3	0,49	11,1
<i>S. macrocephala</i> 139	0	9,8	1,3	0,7	0,49	12,0
"	6	26,0	5,0	2,9	0,59	12,3
"	12	38,5	8,7	4,0	0,60	13,8
<i>S. guyanensis</i> 135	0	39,9	4,2	2,3	0,81	17,3
"	6	42,9	6,0	2,7	0,89	18,7
"	12	45,1	7,1	2,2	0,77	18,0

Nas Figuras 9 e 10 estão apresentados os valores de avaliações de nódulos individuais de algumas leguminosas forrageiras cultivadas no campo, sem o uso de inoculantes. Há grande variabilidade de atividade entre os nódulos, sendo que em algumas espécies a maioria dos nódulos é inativa. A atividade da nitrogenase dos nódulos pode ser influenciada pela sua idade e por fatores ambientais diversos, mas a alta incidência de nódulos com baixa atividade em plantas jovens é um indício da presença, no solo, de uma população ineficiente e, provavelmente, competitiva. O isolamento dessas estirpes seguido de teste em vasos esterilizados pode fornecer informações mais precisas sobre a eficiência dessa população. O estudo da competitividade dessas estirpes é de importância relevante para se avaliar a possibilidade de sucesso da inoculação de leguminosas promiscuas com estirpes eficientes.

Para estes estudos seria necessário a introdução de gens marcadores nas estirpes de *Rhizobium* sp, tais como a resistência a antibióticos, já que o pequeno tamanho dos nódulos e a possível existência de reações cruzadas entre as estirpes nativas invalidaria o uso da técnica de imunoglutinação. Por outro lado, a ocorrência de estirpes com alta resistência a antibióticos, principalmente estreptomicina (Sá et al. 1983) exige o uso de mais de uma marca genética, além de níveis elevados de resistência.

A maior parte das espécies estudadas (Figuras 9 e 10), apresentou nódulos com alta atividade de nitrogenase, comparável a sistemas reconhecidamente mais eficientes tais como os nódulos de soja, que apresentam atividade média de 100 nanomoles de etileno/nódulo/h em condições semelhantes. A atividade de nitrogenase pode ser usada como critério de seleção de nódulos para o isolamento de estirpes de *Rhizobium* eficientes. Peres et al. (1981) trabalhando com soja demonstraram a correlação altamente significativa entre a atividade da nitrogenase dos nódulos individuais e a eficiência dos inoculantes preparados com estirpes isoladas deles.

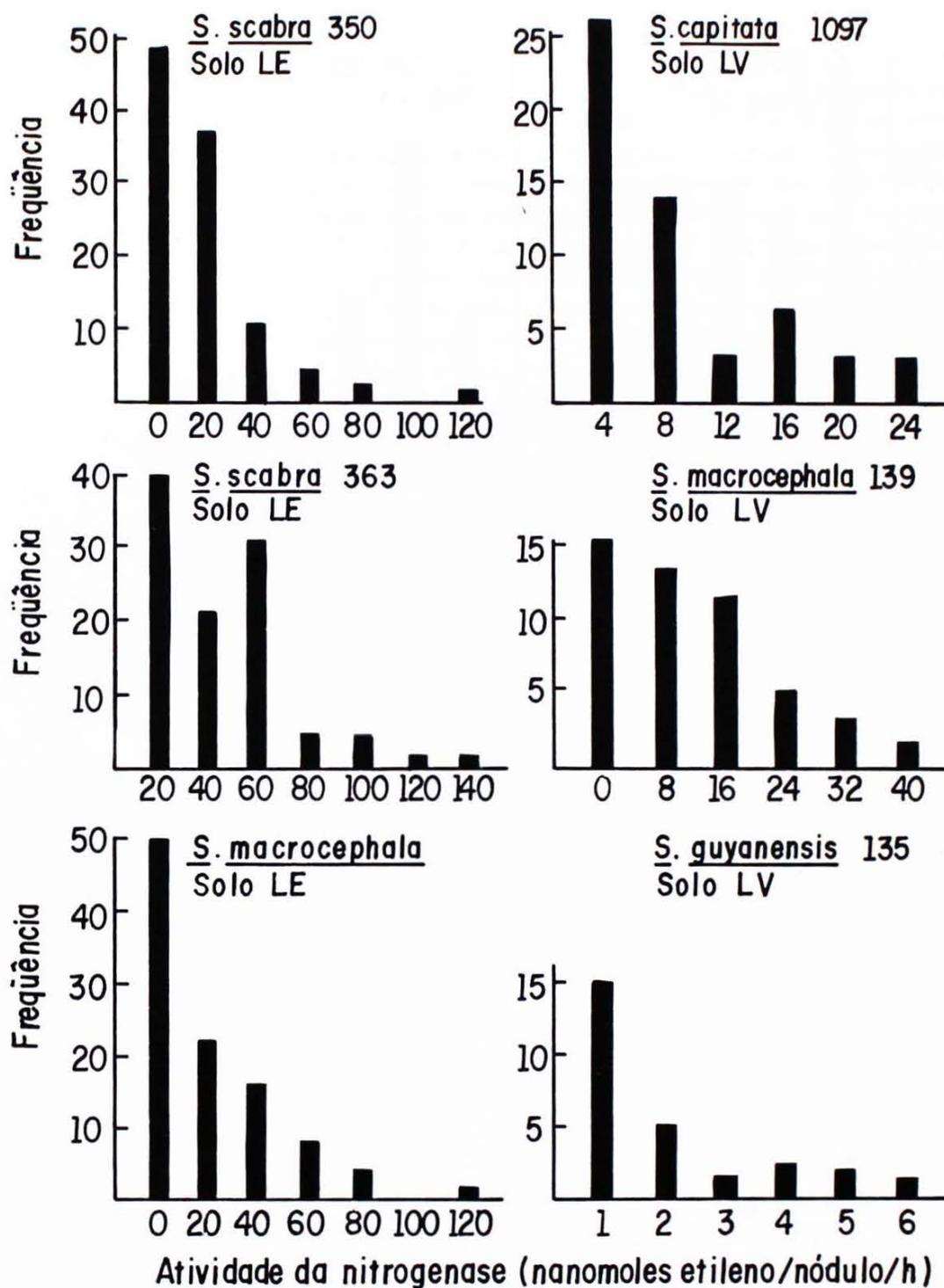


FIG. 9 - Fixação do N₂ por estirpes de *Rhizobium* sp nativas nos cerrados, associados a *Stylosanthes* spp.

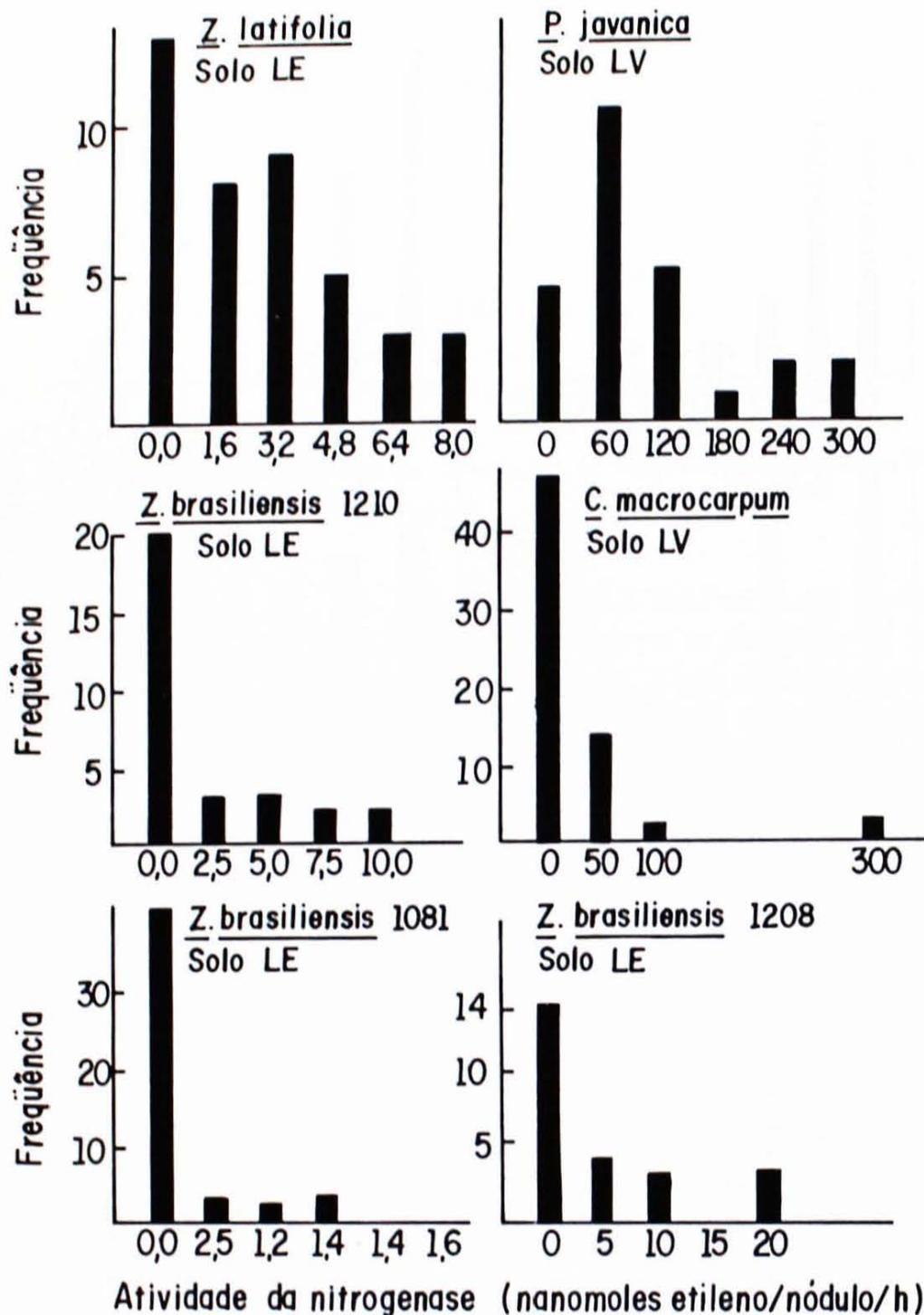


FIG. 10 - Fixação do N₂ por estirpes de *Rhizobium* sp nativas nos cerrados, associadas a *Zornia brasiliensis*, *Z. latifolia*, *Centrosema macrocarpum* e *Pueraria javanica*.

Em outro trabalho, conduzido em vasos com areia e solução nutritiva foram testadas estirpes de *Rhizobium* nativas, isoladas em vários solos de cerrados (Sá et al. 1983). A eficiência das estirpes está apresentada na Figura 11, distribuídas em intervalos de classe e tomando-se como parâmetro de classificação a sua produção de matéria seca em relação a plantas que receberam adubação nitrogenada. Apenas 35% das estirpes de *S. grandifolia* foram classificadas como efetivas ou muito efetivas (rendimento de matéria seca igual ou superior a 90% do obtido com a adubação nitrogenada) enquanto que no *S. guyanensis* apenas 30% das estirpes receberam essa classificação. Esses dados mostram a grande variabilidade em eficiência das estirpes nativas de *Rhizobium* sp e a alta porcentagem de estirpes com baixa ou média eficiência em fixar N₂.

Atualmente as espécies de gênero *Stylosanthes* são cultivadas nos cerrados sem o uso de inoculantes (Figura 12).

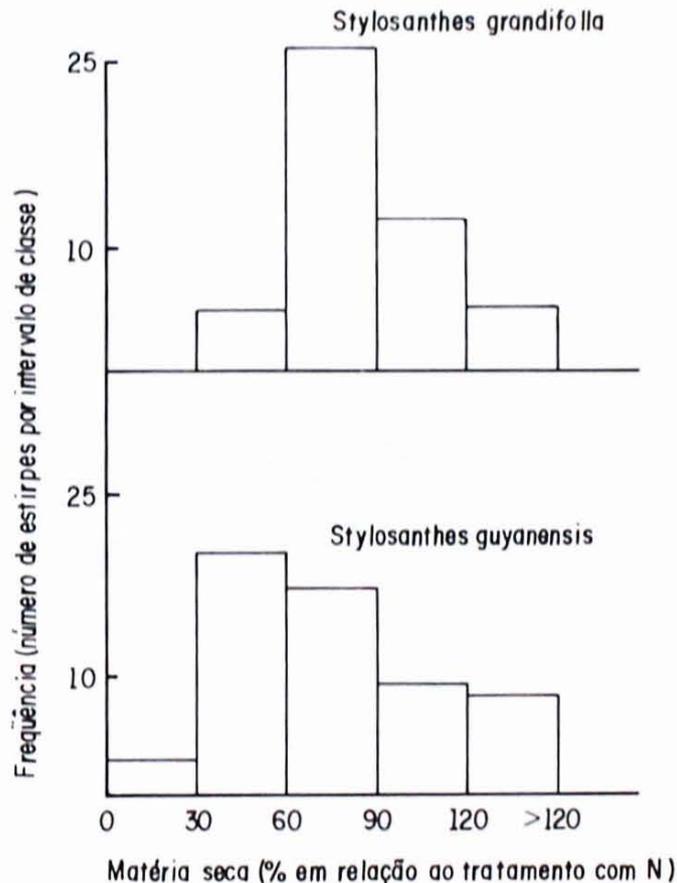


FIG. 11 - Distribuição das frequências de 105 estirpes de *Rhizobium* sp isoladas em *Stylosanthes grandifolia* e *S. guyanensis*, inoculadas em vasos Leonard, no hospedeiro homólogo.

Fonte: Sá et al. 1983.



FIG. 12 - *Stylosanthes guyanensis* cultivado sem inoculação e sem fertilizantes nitrogenados.

Inoculação e adubação nitrogenada

Em contraste com a maior parte das leguminosas forrageiras, a *Centrosema macrocarpum* e *C. pubescens* geralmente apresentam-se com baixa nodulação, em concordância com as informações de Bowen (1959) e Dobereiner (1970) sobre a especificidade hospedeira desse gênero. Isolados de nódulos dessa leguminosa formados com as estirpes de *Rhizobium* nativas nos cerrados, apresentam baixa eficiência, determinando a necessidade de inoculação de *Centrosema macrocarpum* com estirpes eficientes (Vargas et al. 1993)

Essa especificidade hospedeira parece ser mais acentuada na leucena. Plantas desse gênero, cultivadas sem

inoculação, apresentam-se sempre com baixa nodulação (Figura 13). A partir de isolados de *Rhizobium* sp em solos cultivados anteriormente com leucena inoculada foi obtida uma estirpe, identificada como DF-15, que mostrou-se acentuadamente mais eficiente que as estirpes até então utilizadas na inoculação de leucena nos cerrados. Em um experimento de campo a inoculação da *L. leucocephala* com a estirpe DF-15 elevou em 76% a produção de matéria seca desta leguminosa (Tabela 19). Esta estirpe mostrou-se superior à estirpe CB-81 selecionada na Austrália, e nas parcelas em que foi inoculada, não houve resposta para a adubação com 80 kg/ha de N.



FIG. 13 - Leucena não inoculada (primeiro plano) e inoculada (fundo).

TABELA 19 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada na *L. leucocephala* cv. Cunningham. Dados por planta em média de quatro repetições¹

Estirpe	Adubação nitrogenada (g/vaso)	Nodulação		Atividade da nitrogenase (μ moles et. h)	Matéria seca (g)	Nitrogênio total (mg)
		Número	Peso (mg)			
Testemunha	0	1,2 d	3,5 d	0,4 d	3,23 b	92,2 d
DF-15	0	12,7 a	52,4 a	10,2 a	5,69 a	190,0 a
CB-81	0	6,5 bc	29,1 b	6,1 b	4,97 ab	153,3 ab
DF-15	20	6,3 bc	25,5 bc	5,9 b	5,24 a	158,7 ab
DF-15	80	3,4 cd	11,7 cd	1,9 cd	5,31 a	174,8 ab

¹ Os valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5%.

Em um experimento de campo, Vargas & Suhet (1981), estudaram o efeito da inoculação de seis leguminosas forrageiras com estirpes comerciais comparando-as à adubação com 75 kg/ha de N (Tabela 20). Pode-se observar que o tratamento com adubação nitrogenada foi superior ao tratamento com inoculação para o peso da parte aérea e do N total das espécies *Centrosema pubescens*, *Galactia striata*, *Calopogonio mucunoides* e *Macroptilium atropurpureum*. Isto indica que a simbiose não foi capaz de suprir satisfatoriamente estas espécies com nitrogênio e que os inoculantes, possuindo estirpes reconhecidamente eficientes para estas quatro espécies, não foram capazes de produzir uma nodulação satisfatória com estas leguminosas, em razão de algum fator do solo ou de competição com o *Rhizobium* nativo.

Por outro lado, nas espécies de *Stylosanthes*, a adubação com 75 kg/ha de N não elevou a produção de massa seca e nitrogênio total, indicando uma maior eficiência das estirpes nativas de *Rhizobium* para estas espécies. Na *Centrosema pubescens* notou-se um efeito positivo da inoculação, consistentes em todas as avaliações, enquanto que nas demais espécies, as diferenças entre os tratamentos testemunha e com inoculação não chegaram a ser significativas.

TABELA 20 - Efeito da inoculação e da adubação nitrogenada em seis leguminosas forrageiras. Dados médios de quatro repetições.^a

Espécie	Tratamentos	Nódulos planta		μ moles C ₂ H ₄ por planta/h	Parte aérea/planta	
		Número	Peso (mg)		Peso (g) ^b	N total (mg)
<i>C. pubescens</i>	Testemunha	3,6	14,6*	1,37	1,53	58
	Inoculação	7,5	30,1	1,95	1,97	77
	Inoc. + N	1,4	0,7*	0,04*	5,32*	219*
	Inoc. + Calcário	10,3	45,9	2,96	3,45*	129*
Coef. de variação (%)		71	43	46	11	18
T. de normalidade (%) ^c		91	85	97	68	97
<i>S. capitata</i>	Testemunha	2,8	12,3	1,78	17,92	477
	Inoculação	3,9	21,0	1,86	16,72	287
	Inoc. + N	3,4	12,2	0,43	26,71	794
	Inoc. + Calcário	15,7 (1)	2,3	0,57	3,66	118
Coef. de variação (%)		21	55	84	22	57
T. de normalidade (%)		70	91	86	50	82
<i>S. bracteata</i>	Testemunha	39,1(1)	11,1	5,06	7,28	238
	Inoculação	36,2 (1)	8,1	3,25	8,34	254
	Inoc. + N	6,6*	1,1*	0,70*	6,20	209
Coef. de variação (%)		39	47	39	48	47
T. de normalidade (%)		76	64	64	74	45

TABELA 20 (Continuação)

Espécie	Tratamentos	Nódulos planta		μ moles C_2H_4 por planta/h	Parte aérea/planta	
		Número	Peso (mg)		Peso (g) ^b	N total (mg)
<i>M. atropurpureum</i>	Testemunha	2,8	12,3	1,78	17,92	477
	Inoculação	3,9	21,0	1,86	16,72	487
	Inoc. + N	3,4	12,2	0,43	26,71	794
Coef. de variação (%)		76	70	45	34	27
T. de normalidade (%)		96	71	83	3	97
<i>G. striata</i>	Testemunha	32,0(1)*	61,7	9,30	10,29	386
	Inoculação	27,5	56,2	8,22	10,01	377
	Inoc. + N	10,8*	6,0	1,18	15,31*	560*
Coef. de variação (%)		7	36	39	30	29
T. de normalidade (%)		89	37	60	67	90
<i>C. mucunoides</i>	Testemunha	37,7	18,3	3,37	6,84	205
	Inoculação	46,7	19,8	3,24	8,78	245
	Inoc. + N	26,0	11,4	1,08*	17,25*	562*
Coef. de variação (%)		34	55	11	14	12
T. de normalidade (%)		97	75	75	58	99

^a As médias seguidas de asterisco diferem significativamente do tratamento com inoculação pelo teste de Student ao nível de 5%. A análise estatística foi efetuada por espécie de leguminosa.

^b Para análise estatística os dados referentes ao *Stylosanthes capitata* foram transformados em $\sqrt{x+1}$.

^c Teste de normalidade segundo Shapiro & Wilk (1965). Os dados que apresentaram valores superiores a 50% para esse teste foram considerados como apresentando uma distribuição normal.

Em um outro experimento de campo foram testadas duas estirpes comerciais (inoculante A) e três estirpes selecionadas a partir da população de *Rhizobium* sp nativa nos cerrados (inoculante B) em três espécies de *Stylosanthes* (*S. capitata* CPAC 706, *S. macrocephala* 139 cv. Pioneiro e *S. guyanensis* 135 cv. Bandeirante). A inoculação não promoveu nenhum efeito benéfico nas espécies estudadas, e mostrou tendência em reduzir a nodulação de *S. macrocephala* e *S. guyanensis* (Tabela 21). Resultados semelhantes foram obtidos por Franco & Dobereiner (1969) e Vargas & Suhet (1981). Contudo, esse efeito negativo da inoculação na nodulação não chegou a refletir na produção de matéria seca e N total das plantas. A não resposta do *Stylosanthes* à inoculação, apesar das informações da literatura sobre a especificidade hospedeira de alguns dos seus ecotipos, pode ser atribuída à grande variabilidade genética da população de *Rhizobium* sp nativa do solo. Não houve efeito com adubação de 75 kg/ha de N, aparentemente demonstrando que, dentro do nível de fertilização utilizado a simbiose com as estirpes nativas foi capaz de suprir todas as necessidades das plantas em nitrogênio. Também não houve diferença entre os níveis de 1,0 e 2,45 t de calcário/ha.

TABELA 21 - Efeito da inoculação, da adubação nitrogenada e de dois níveis de calcários em três espécies de Stylosantes.

Espécie	Tratamentos		145 dias			346 dias	
	Calcário	Fontes de N	Nódulos planta Número	Peso mg	Atividade da nitrogenase μ moles etil. planta h	Materia seca t ha	N total kg ha
<i>S. capitata</i> CPAC 706	1,00	Test	40 ab	6,4 ab	1,69 a	4,67 a	76,3 a
"	1,00	75 kg/ha	26 bc	2,4 c	0,59 b	5,17 a	86,7 a
"	1,00	Inoculante A	35 abc	5,7 ab	1,42 a	5,95 a	94,1 a
"	1,00	Inoculante B	46 a	7,8 a	1,75 a	4,43 a	71,9 a
"	2,45	Test	39 ab	5,7 ab	1,45 a	5,18 a	85,4 a
"	2,45	75 kg/ha	24 c	2,4 c	0,35 b	4,32 a	81,2 a
"	2,45	Inoculante A	33 abc	4,5 bc	1,42 a	4,16 a	72,6 a
"	2,45	Inoculante B	44 a	7,2 a	1,71 a	4,99 a	85,2 a
Coefficiente de variação			25%	27%	31%	23%	23%
<i>S. macrocephala</i> 139*	1,0	Test	63 ab	9,1 ab	2,23 bc	5,61 ab	103,6 a
"	1,0	75 kg/ha	46 bcd	5,0 cd	1,25 cd	4,80 b	97,6 a
"	1,0	Inoculante A	56 abc	9,6 a	2,35 ab	5,08 ab	93,8 a
"	1,0	Inoculante B	68 a	10,7 a	2,76 ab	4,98 ab	95,5 a
"	2,45	Test	67 a	10,8 a	3,01 a	5,27 ab	98,4 a
"	2,45	75 kg/ha	30 d	3,2 d	0,75 d	4,96 a	99,5 a
"	2,45	Inoculante A	55 abc	8,5 abc	2,26 abc	5,04 ab	97,6 a
"	2,45	Inoculante B	40 cd	5,6 bcd	1,60 cd	5,98 ab	120,4 a
Coefficiente de variação			23%	29%	32%	13%	17%
<i>S. guyanensis</i> 135	1,0	Test	79 a	9,3 a	0,43 a	3,94 a	79,8 ab
"	1,0	75 kg/ha	29 d	2,7 d	0,13 b	4,37 a	103,9 a
"	1,0	Inoculante A	45 bcd	4,0 cd	0,15 b	4,26 a	91,8 ab
"	1,0	Inoculante B	33 d	3,0 d	0,17 b	4,40 a	89,6 ab
"	2,45	Test	68 ab	7,8 ab	0,64 a	4,44 a	86,4 ab
"	2,45	75 kg/ha	24 d	1,6 d	0,06 b	2,99 a	62,17 b
"	2,45	Inoculante A	62 abc	6,3 bc	0,16 b	4,08 a	72,9 ab
"	2,45	Inoculante B	39 cd	4,0 cd	0,16 b	4,00 a	79,9 ab
Coefficiente de variação			32%	36%	66%	26%	28%

* cv. Pioneiro

* cv. Bandeirante

Estudos em meio agarizado

Para trabalhos conduzidos em tubos com meio agarizado, o meio Jensen modificado tem se mostrado satisfatório para todas as leguminosas forrageiras testadas, exceto para *Stylosanthes*. Para esse gênero, o nível de fósforo tem que ser reduzido de 150 ppm para 8 ppm para se obter um bom desenvolvimento das plantas. Na Tabela 22 pode-se observar que o melhor desenvolvimento das plantas e nodulação ocorreu com o meio com baixo fósforo, nos quatro *Stylosanthes* testados. A redução do teor de P diminui o poder tamponante do meio, e o pH final atinge valores de até 7,5. Essa elevação de pH não chegou a afetar os testes de infecção de plantas, efetuados com plantas desse gênero. Entretanto, não é um meio adequado para as avaliações de número mais provável para contagem da população de *Rhizobium* nativo no solo por permitir a alta contaminação com outros microorganismos que inibem a multiplicação do *Rhizobium* dentro dos tubos, após a diluição. Por outro lado, a redução do fósforo na solução nutritiva utilizada em vasos de Leonard não permite bom desenvolvimento do *Stylosanthes*. Plantas cultivadas nesse sistema, com areia, vermiculita e solução nutritiva apresentam-se sempre pouco desenvolvidas e mal noduladas.

TABELA 22 - Comparação entre o meio de cultura Jensen (1942) e o meio modificado para *Stylosanthes*.

Espécie	Meio de cultura*	pH final [†]	Matéria seca (mg/tubo)	Peso dos nódulos (mg/tubo)
<i>S. scabra</i>	Comum	6,3	09	0,0
"	Modificado	7,6	47	2,8
<i>S. guyanensis</i> 135	Comum	6,3	09	0,0
"	Modificado	7,7	39	1,0
<i>S. guyanensis</i> Cook	Comum	6,1	19	3,0
"	Modificado	5,9	65	10,0
<i>S. capitata</i> 1097	Comum	6,1	03	0,0
"	Modificado	7,4	59	0,5

* Meio Comum = meio Jensen (1942) com 150 ppm de fósforo; modificado = meio Jensen (Vincent, 1970) com P reduzido para 8 ppm.

[†] O pH inicial do meio comum foi de 6,3 e do meio modificado foi de 5,3.

Referências Bibliográficas

- ADGBOLA, A.A.; ONAYINKA, B. Some observations on the responses of *Stylosanthes gracilis* to seed inoculation. **Niger. agric.**, v. 3, p. 35-38, 1966.
- BOWEN, G.D. Specificity and nitrogen fixation in the *Rhizobium* symbiosis of *Centrosema pubescens* Benth. **Qd. Agric. Sci.**, v. 16, p. 267-282, 1959.
- CHANDAPILLAI, M.M. Studies on the nodulation of *Stylosanthes guyanensis* Aubl. I. Effect of added organic matter in four types of Malaysian soil. **Trop. Agric.**, Trinidad, v. 49, n. 3, p. 205-213, 1972.
- DOBEREINER, J. Inoculação cruzada e eficiência na simbiose de leguminosas tropicais. In: SEMINÁRIO SOBRE METODOLOGIA E PLANEJAMENTO DE PESQUISA COM LEGUMINOSAS TROPICAIS. Rio de Janeiro, IPEACS, 1970. **Anais...** Rio de Janeiro: IPEACS, 1970. p. 181-192.
- FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. Eficácia de nodulação natural de cinco leguminosas forrageiras tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 12, Curitiba, 1969. **Anais.** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Equipe de Pedologia e Fertilidade do solo.
- GALLI, F. Inoculações cruzadas com bactérias dos nódulos de leguminosas tropicais. **Rev. Agric.**, Piracicaba, v. 33, n. 3, p. 139-150, 1958.
- HORREL, C.R.; COURT, M.N. Effect of the legume *Stylosanthes gracilis* on pasture yields at Serere, Uganda. **J. Br. Grass. Sov.**, v. 20, p. 72-76, 1965.
- NORRIS, D.O. Legumes and the *Rhizobium* symbiosis. **Emp. J. Exp. Agric.**, v. 24, p. 247-70, 1956.
- NORRIS, D.O. The intelligent use of inoculant and line pelleting for tropical legumes. **Tropical grasslands**, v. 1, p. 107-121. 1967.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Variação na eficiência em fixar N₂ dentro da mesma estirpe de *R. japonicum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 18. Salvador, 1981. **Anais.** Salvador: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1981. p. 34.
- SÁ, N.M.H.; SCOTTI, M.R.M.L.; VARGAS, M.A.T.; DOBEREINER, J. Resistência natural a estreptomicina e eficiência de estirpes de *Rhizobium* nativas nos Cerrados, associadas a *Stylosanthes*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 213-218, 1983.
- SOUTO, S.M.; COSER, A.V.; DOBEREINER, J. Especificidade de uma variedade nativa de alfafa do nordeste na simbiose com *Rhizobium*. **Pesq. agropec. bras.**, Série Zootec., v. 7, p. 1-5, 1972.
- TRINICK, M.J. Nodulation of tropical legumes. I - Specificity in the *Rhizobium* symbiosis of *Leucena leucocephala*. **Exper. agric.**, London, v. 4, n. 3, p. 243-253, 1968.

- VARGAS, M A T.; SUHET, A.R. Eficiência de inoculantes comerciais e de estirpes de *Rhizobium* para seis leguminosas forrageiras em um solo de Cerrado. **Pesq. agropec. bras.**, v. 16, n.3, p.357-362, 1981
- VARGAS, M A T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J R R. **Fixação biológica do nitrogênio em centrosema em solos de cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1993. 14p. (EMBRAPA-CPAC. Boletim de Pesquisa, 35).
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164p.

