



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

**ESTABELECIMENTO DE ESTIRPES DE
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM/B. ELKANII E
SEUS EFEITOS NA REINOCULAÇÃO DA SOJA
EM SOLOS DE CERRADO**

Iêda C. Mendes
Milton A. T. Vargas
Mariangela Hungria

ISSN 1517-5111

Doc. - Embrapa Cerrados	Planaltina	n.20	p.1-18	Dez. 2000
-------------------------	------------	------	--------	-----------

Copyright © Embrapa – 2000
Embrapa Cerrados. Documentos, 20

Exemplares desta publicação podem ser solicitados a:

Embrapa Cerrados
BR 020, km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73301-970 – Planaltina, DF
Telefone (61) 388-9898 – Fax (61) 388-9879

Tiragem: 100 exemplares

Comitê de Publicações:

Ronaldo Pereira de Andrade (Presidente), Maria Alice Bianchi, Leide Rovênia Miranda de Andrade, Carlos Roberto Spehar, José Luiz Fernandes Zoby e Nilda Maria da Cunha Sette (Secretária-Executiva).

Coordenação editorial: Nilda Maria da Cunha Sette

Revisão gramatical: Maria Helena Gonçalves Teixeira

Normalização bibliográfica: Maria Alice Bianchi

Diagramação e arte-final: Jussara Flores de Oliveira

Capa: Chaile Cherne S. Evangelista

Impressão e acabamento: Jaime Arbués Carneiro / Divino Batista de Souza

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação do Copyright © (Lei n° 9.610).

M538e Mendes, Iêda C.
Estabelecimento de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*/*B. elkanii* e seus efeitos na reinoculação da soja em solos de Cerrado / Iêda C. Mendes, Milton A.T. Vargas, Mariângela Hungria. – Planaltina : Embrapa Cerrados, 2000.
18p.— (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111 ; n.20)

1. *Bradyrhizobium japonicum* - Soja - Cerrado. 2. *Bradyrhizobium elkanii* - Soja - Cerrado. 3. Fixação de nitrogênio. I. Vargas, Milton A.T. II. Hungria, Mariângela. III. Título. IV. Série.

631.46 - CDD 21

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO	7
METODOLOGIA	9
RESULTADOS	10
CONSIDERAÇÕES FINAIS	16
AGRADECIMENTOS	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

ESTABELECIMENTO DE ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*/B. *ELKANII* E SEUS EFEITOS NA REINOCULAÇÃO DA SOJA EM SOLOS DE CERRADO¹

Iêda C. Mendes²; Milton A. T. Vargas³; Mariangela Hungria⁴

RESUMO – Neste trabalho são apresentados os resultados de um estudo para avaliar o estabelecimento de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* / *B. elkanii*, na resposta da soja à reinoculação em solos de Cerrado. O experimento, que teve duração de seis anos, foi iniciado em 1994 num Latossolo Vermelho de primeiro cultivo, isento de populações de rizóbio capazes de nodular a soja. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições e a cultivar de soja utilizada foi a Doko RC. A ocupação dos nódulos foi avaliada por técnicas de imuno-aglutinação. No primeiro ano do experimento (safra 1993/1994), as estirpes CPAC 7, CPAC 15, 29W e SEMIA 587 (sorogrupos CB1809, SEMIA 566, 29W e SEMIA 587, respectivamente) foram introduzidas no solo por meio da inoculação das sementes da soja Doko RC. Também foi incluído um tratamento sem inoculação, com as parcelas cultivadas com arroz. No ano seguinte (safra 1994/1995), as parcelas foram subdivididas em três subparcelas, e a soja foi cultivada sob três tratamentos: a) CPAC 7, b) CPAC 15 e c) sem inoculação. No terceiro ano (safra 1995/1996), todo o experimento recebeu a soja inoculada com a estirpe CPAC 7. No quarto e no quinto anos de condução do experimento (safras 1997/1998 e 1998/1999), a soja foi cultivada sem inoculação. No ano agrícola 1996/1997 a área foi deixada em repouso. Para os tratamentos com inoculação foram utilizados inoculantes turfosos (8,0 x 10⁸ células/g) na proporção de 1 kg de inoculante por 50 kg de sementes. As estirpes introduzidas no solo no primeiro ano influenciaram a ocorrência da estirpe CPAC 7 nos nódulos obtidos no terceiro ano de condução do experimento. Nos tratamentos onde a CPAC 7 foi introduzida no primeiro ano, sua ocorrência nos nódulos foi, em média, de 70%, enquanto nos outros tratamentos variou entre 25% e 44%. No quarto e quinto anos, quando a soja foi cultivada sem inoculação, estirpes do sorogrupo SEMIA 566 predominaram na nodulação (mais de 44% dos nódulos). No quinto ano do experimento,

¹ Trabalho conduzido com recursos do CNPq-PRONEX, Grupo de Excelência em Fixação Biológica do Nitrogênio (41.96.0884.00).

² Embrapa Cerrados. mendesi@cpac.embrapa.br.

³ Bioagri Laboratórios Caixa Postal 08.287, Planaltina, DF Brasil CEP 73-301-970.

⁴ Embrapa Soja, Caixa Postal 231, Londrina-PR, Brasil, CEP 86-001-970.

mesmo nos tratamentos onde essa estirpe jamais foi inoculada, a ocorrência do sorogrupo SEMIA 566 foi de 74% dos nódulos, evidenciando sua elevada capacidade competitiva. Futuras estratégias para reinoculação da soja em solos de Cerrado com as estirpes CPAC 7 e CPAC 15 deverão levar as observações desse estudo em consideração.

Palavras-chave: fixação biológica do nitrogênio, sorogrupos.

ESTABLISHMENT OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* AND *B. ELKANII* STRAINS ON BRAZILIAN CERRADOS SOILS

ABSTRACT – In the present study we examined the effects of the establishment of *Bradyrhizobium elkanii* strains SEMIA 5019 and SEMIA 587 and *B. japonicum* SEMIA 5079 and SEMIA 5080, on the soybean response to reinoculation. The experiment was conducted during six years in a dark-red oxisol that had never been inoculated before, i.e., did not present any *Bradyrhizobium* able to establish an effective symbiosis with soybean. The experimental design was a completely randomized block design with four replicates. On the first year, besides an uninoculated control, four serologically distinct serogroups were introduced in the soil: SEMIA 5019, SEMIA 587, SEMIA 5080 and SEMIA 5079 (serogroups 29W, 587, CB 1809 and 566, respectively). The inoculation was carried out with a peat inoculant ($8,0 \times 10^8$ cells/g) in the proportion of 1kg per 50 kg of seeds. On the second year, the main plots were split into three sub-plots and the treatments were an uninoculated control, SEMIA 5080 and SEMIA 5079. On the third year, the whole area was inoculated with strain SEMIA 5080. On the 4th and 6th years, the plots were planted with soybean without inoculation, and on the 5th year the plots were left fallow. The experiment was performed with cultivar Doko and nodule occupancy by the different serotypes was evaluated by the immuno-agglutination assay. The results showed that the strains introduced on the first year influenced the occurrence of strain SEMIA 5080 on the nodules evaluated on the third year. On the treatments where strain SEMIA 5080 was introduced on the first year, its occurrence on nodules on the third year was on average 70%, whereas in the other treatments it ranged from 25 to 44%. On the 4th and 6th years, when the soybean was cultivated without inoculation, strains from serogroup 566 dominated the nodules (more than 44%) even in the control plots (74% of the nodules). These results evidence the high competitive ability of strains from serogroup 566. Future strategies for soybean reinoculation in the Brazilian Cerrados must take this fact into consideration.

Key words: biological nitrogen fixation; serogroups.

INTRODUÇÃO

Pelo processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN), bactérias, chamadas de modo coletivo como rizóbio, associam-se às raízes de diversas leguminosas, suprindo-as com o nutriente N. Nesse contexto, dentre os aspectos que viabilizaram a expansão da soja no Cerrado, destacam-se os trabalhos do Sistema Cooperativo de Pesquisa Agropecuária, que permitiram a redução do custo de produção dessa cultura, substituindo a adubação nitrogenada pela inoculação com bactérias fixadoras de N_2 . As estirpes de *Bradyrhizobium* 29W (SEMIA 5019) e SEMIA 587 foram lançadas em 1980 (Peres & Vidor, 1980; Vargas & Suhet, 1980) e sua utilização nos inoculantes comerciais tornou desnecessário o uso de adubos nitrogenados no cultivo da soja, gerando economia anual, para o Brasil, de aproximadamente US\$ 1 bilhão.

Como no início da década de 1980, o cultivo de soja estava expandindo-se no Cerrado, a grande maioria das áreas era de primeiro cultivo e/ou nunca haviam sido cultivadas com soja inoculada anteriormente. Por essa razão, os trabalhos iniciais de seleção de estirpes foram conduzidos principalmente nesses solos, que eram isentos de populações de rizóbios capazes de nodular a soja.

Como ocorre em outras regiões do mundo, no Cerrado, os cultivos sucessivos de soja, em uma mesma área, promovem o estabelecimento no solo de estirpes de rizóbio. Isso pode ocorrer pela introdução de estirpes com as primeiras inoculações ou pela contaminação com estirpes trazidas de outros locais por vetores diversos, particularmente pelas sementes. As populações de rizóbio que se estabelecem no solo interferem na formação dos nódulos pelas estirpes inoculadas e, dessa forma, podem reduzir a resposta da soja à inoculação com estirpes mais eficientes.

Em vários países do mundo, a inoculação de sementes de leguminosas, em solos com populações estabelecidas, não tem apresentado resultados satisfatórios, em termos de aumento de rendimento de grãos e ocorrência, nos nódulos das estirpes inoculadas (Abel & Erdman, 1964; Boonkerd et al., 1978; Caldwell & Vest,

1970; Chan et al., 1976; Triplett & Sadowsky, 1992). Dentre os principais fatores responsáveis por esses resultados destacam-se a baixa concentração de células rizobianas nas sementes inoculadas, o tamanho da população e a capacidade competitiva das estirpes estabelecidas no solo (Dowling & Broughton, 1986).

Dois fatos observados na região do Cerrado despertaram a atenção dos pesquisadores: 1) Em 1978, um ano antes do lançamento da estirpe 29W para utilização nos inoculantes comerciais, Vargas et al. (1993) observaram sua predominância em nódulos de soja não inoculada, em propriedades do Triângulo Mineiro, que haviam sido inoculadas com outras estirpes em anos anteriores; 2) Em 1986, no campo experimental da Embrapa Cerrados, foi verificada pela primeira vez a dominância nos nódulos da soja de estirpes pertencentes ao sorogrupo da estirpe SEMIA 566 (que havia sido utilizada em inoculantes comerciais no período de 1966 a 1978), mesmo em áreas onde essa estirpe jamais havia sido introduzida. Estirpes pertencentes ao sorogrupo SEMIA 566 também foram encontradas em diversos locais do Brasil nunca cultivados anteriormente, inclusive na Amazônia (Ferreira, 1999). Nos Estados Unidos, a dominância do sorogrupo USDA 123, que apresenta reação de aglutinação com a SEMIA 566, particularmente no meio-oeste americano, é amplamente relatada (Damirgi et al., 1967; Ham et al., 1971; Moawad et al., 1984) bem como no Canadá (Semu & Hume, 1979). Todas essas observações foram motivo de preocupação entre os rizobiologistas brasileiros envolvidos nos trabalhos de seleção de estirpes para a soja, uma vez que a disseminação, no solo, de estirpes de rizóbio de baixa eficiência fixadora e alta competitividade pelos sítios de infecção nodular, poderia reduzir os níveis de produtividade da soja, comprometendo seu cultivo no País. Por essa razão, os trabalhos de seleção de estirpes que eram conduzidos em rede nacional, em solos de primeiro cultivo, foram redirecionados e passaram a incluir, também, áreas com populações estabelecidas de rizóbios.

Mendes et al., (1994) observaram que, em áreas com populações estabelecidas de rizóbio, onde os sorogrupos 29W e SEMIA 587 ocorriam em mais de 70% dos nódulos do tratamento-testemunha sem inoculação, a inoculação com as estirpes CPAC 7 (SEMIA

5080) e CPAC 15 (SEMIA 5079) promovia aumentos mais expressivos na ocorrência dos seus sorogrupos nos nódulos, do que naquelas onde havia predominância de estirpes pertencentes ao sorogrupo SEMIA 566. Esses dados indicaram que a composição da população de rizóbios, estabelecida no solo, poderia influenciar na ocorrência da estirpe inoculada nos nódulos.

Esse trabalho relata um estudo conduzido por seis anos, com a finalidade de avaliar o estabelecimento de estirpes de *B.japonicum*/*B.elkanii* na resposta da soja à reinoculação, em solos de Cerrado, com populações estabelecidas de estirpes pertencentes ao mesmo sorogrupo ou a sorogrupos distintos.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na estação experimental da Embrapa Cerrados, teve duração de seis anos, e foi iniciado na safra 1993/1994, em um Latossolo Vermelho de primeiro cultivo, sem populações de rizóbio capazes de nodular a soja. Além do rendimento de grãos, as avaliações consistiram de determinações, na fase de floração, da massa da parte aérea seca, do número e massa de nódulos secos, bem como da percentagem de ocorrência das estirpes em nódulos, esta última avaliada pela técnica de imuno-aglutinação segundo Vincent (1970). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições.

No primeiro ano do experimento (safra 1993/1994), as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* CPAC 7 e CPAC 15, e *B. elkanii* 29W e SEMIA 587 (sorogrupos CB1809, SEMIA 566, 29W e SEMIA 587, respectivamente) foram introduzidas no solo através da inoculação de sementes de soja, cultivar Doko RC. Também foi incluído um tratamento sem inoculação, com as parcelas cultivadas com arroz. Na safra seguinte (1994/1995), as parcelas foram subdivididas em três subparcelas, e a soja foi cultivada sob três tratamentos: a) CPAC 7, b) CPAC 15 e c) sem inoculação. No terceiro ano (safra 1995/1996), todo o experimento recebeu a soja inoculada

com a estirpe CPAC 7. No quarto e quinto anos de condução do experimento (safras 1997/1998 e 1998/1999), a soja foi cultivada sem inoculação. No ano agrícola de 1996/1997 a área foi deixada em repouso. Para os tratamentos com inoculação, foram utilizados inoculantes turfosos ($8,0 \times 10^8$ células g^{-1}) na proporção de 1 kg de inoculante por 50 kg de sementes.

RESULTADOS

No segundo ano de condução do experimento (safra 1994/1995), quando as parcelas foram subdivididas em três subparcelas, e a soja foi cultivada sob três tratamentos: CPAC 7, CPAC 15 e sem inoculação, não foram constatados efeitos significativos desses tratamentos no rendimento de grãos da soja (Tabela 1). Isso pode ser atribuído ao baixo potencial de resposta da variedade Doko RC. Quanto à ocorrência das estirpes nos nódulos, observa-se na Tabela 1, que em todos os tratamentos as estirpes inoculadas no primeiro ano foram as que predominaram na nodulação. A percentagem de ocorrência nos nódulos das estirpes, introduzidas no segundo ano (CPAC 7 e CPAC 15), nas áreas que haviam sido inoculadas anteriormente com as estirpes 29W e 587, variou entre 13% e 26% (Tabela 1).

No terceiro ano (safra 1995/1996), todo o experimento recebeu a soja inoculada com a estirpe CPAC 7, que apresentava capacidade de FBN elevada, mas menor capacidade competitiva do que as estirpes do sorogrupo SEMIA 566. Para facilitar a discussão dos resultados, os tratamentos de inoculação do primeiro, segundo e terceiro anos (safras 1993/1994, 1994/1995 e 1995/1996, respectivamente), serão especificados nessa ordem. Na Tabela 2, são apresentados os dados de nodulação, massa da parte aérea seca e rendimento de grãos relativos ao terceiro ano. Os tratamentos CPAC 7/sem inoculação/CPAC 7; CPAC 7/CPAC 7/CPAC 7, CPAC 15/CPAC 7/CPAC 7 e sem inoculação/CPAC 7/CPAC 7 apresentaram os menores números e massa de nódulos, embora não refletindo no

rendimento de grãos. Esses dados confirmam, portanto, que as estirpes do sorogrupo CB 1809 apresentam alta eficiência de FBN, isto é, capacidade de fixar N₂ em taxas elevadas com menor massa nodular (Neves et al., 1985; Nishi et al., 1996; Nishi & Hungria, 1996). O tratamento CPAC 7/sem inoculação/CPAC 7 foi o que apresentou o maior rendimento de grãos (3205 kg/ha), enquanto os tratamentos SEMIA 587/CPAC 15/CPAC 7 e CPAC 15/sem inoculação/CPAC 7 apresentaram os menores (2680 e 2665 kg/ha, respectivamente).

TABELA 1. Efeito do histórico da inoculação na ocorrência de sorogrupos de *B. japonicum*/*B. elkanii* na ocorrência de sorogrupos em nódulos da soja Doko RC. Dados médios de três repetições referentes ao segundo ano do experimento (safra 1994/95).

Inoculação anterior		Ocorrência dos sorogrupos nos nódulos ¹ (%)				Grãos ² (kg/ha)
Ano 1(1993/94)	Ano 2 (1994/95)	29W	587	566	CB1809	
29W	Sem inoc.	90.0	0.0	4.6	0.6	2185
	CPAC 7	72.0	0.0	0.0	24.6	2218
	CPAC 15	68.6	0.0	26.2	0.0	2205
SEMIA 587	Sem inoc.	1.3	92.6	0.6	1.3	2213
	CPAC 7	0.6	72.0	2.6	22.0	2127
	CPAC 15	2.6	78.0	13.3	0.0	2139
CPAC 7	Sem inoc.	0.0	0.0	3.3	96.6	2073
	CPAC 7	0.0	1.3	2.6	95.3	2007
	CPAC 15	0.6	0.6	17.3	78.0	2176
CPAC 15	Sem inoc.	0.6	0.0	97.3	0.0	2173
	CPAC 7	0.0	1.3	74.6	20.6	2128
	CPAC 15	0.0	1.3	96.6	0.0	2159
Sem inoc.	Sem inoc.	44.6	29.3	19.3	2.0	2071
	CPAC 7	0.6	0.6	0.0	98.6	2192
	CPAC 15	6.0	2.6	90.0	0.0	2185

¹ As estirpes CPAC 7 e CPAC 15 pertencem aos sorogrupos CB 1809 e SEMIA 566, respectivamente.

² As diferenças de produtividade não foram estatisticamente significativas.

TABELA 2. Efeito do histórico da inoculação da soja na nodulação, produção de matéria seca e rendimento de grãos da soja Doko RC, inoculada no terceiro ano, com a estirpe CPAC 7. Dados médios de quatro repetições referentes ao terceiro ano do experimento (safra 1995/96).

Inoculação anterior			Nodulação/planta		Parte aérea	Grãos ²
Ano 1	Ano 2	Ano 3	Número	Massa (mg)	g/planta	(kg/ha)
29W	Sem inoc. ¹	CPAC 7	117 abc	243 ab	17,3 ab	2874 ab
29W	CPAC 7	CPAC 7	110 abc	252 ab	18,0 a	2776 ab
29W	CPAC 15	CPAC 7	108 abc	222 ab	13,3 b	2806 ab
SEMIA 587	Sem inoc. ¹	CPAC 7	128 ab	277 a	16,1 ab	2771 ab
SEMIA 587	CPAC 7	CPAC 7	95 abc	204 ab	15,7 ab	2717 ab
SEMIA 587	CPAC 15	CPAC 7	134 a	271 a	16,8 ab	2680 b
CPAC7	Sem inoc. ¹	CPAC 7	83 bc	174 b	17,6 a	3205 a
CPAC7	CPAC 7	CPAC 7	81 bc	175 b	16,0 ab	2937 ab
CPAC7	CPAC 15	CPAC 7	102 abc	243 ab	15,5 ab	2790 ab
CPAC15	Sem inoc. ¹	CPAC 7	100 abc	239 ab	14,3 ab	2665 b
CPAC15	CPAC 7	CPAC 7	70 c	172 b	16,3 ab	2808 ab
CPAC15	CPAC 15	CPAC 7	83 bc	223 ab	16,0 ab	2854 ab
Sem inoc. ¹	Sem inoc. ¹	CPAC 7	126 ab	274 a	14,8 ab	2943 ab
Sem inoc. ¹	CPAC 7	CPAC 7	76 c	200 ab	14,4 ab	2945 ab
Sem inoc. ¹	CPAC 15	CPAC 7	98 abc	207 ab	14,6 ab	2973 ab
Coeficiente de variação (%)			24	21	14	9

¹ No primeiro ano foi cultivado arroz sem inoculação (Sem inoc. = Sem inoculação).

² Letras referem-se a comparações dentro da mesma coluna. Valores seguidos pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

Em relação à ocorrência das estirpes nos nódulos observa-se, na Tabela 3, que a inoculação no primeiro ano (safra 1993/1994) foi determinante na dominância da estirpe CPAC 7, inoculada no terceiro ano (safra 1995/1996). Quando a CPAC 7 foi introduzida no primeiro ano, ou quando o solo não foi inoculado mas recebeu a CPAC 7 no segundo ano, a ocorrência dessa estirpe nos nódulos variou de 60% a 81%, enquanto para os outros tratamentos, esse número variou de 25% a 44%. A inoculação, no primeiro ano, também foi determinante na dominância da estirpe CPAC 15, independentemente dos tratamentos de inoculação do segundo e terceiro anos. Quando a CPAC 15 foi introduzida no primeiro ano, a ocorrência dessa estirpe nos nódulos

variou de 62% a 72%, ao passo que nos tratamentos onde ela foi introduzida no segundo ano, esse número variou de 22% a 45%. Para as estirpes 29W e SEMIA 587, os efeitos da inoculação, no primeiro ano, foram menos acentuados. Verifica-se que nos tratamentos 29W/sem inoculação/CPAC 7 e SEMIA 587/sem inoculação/CPAC 7, as ocorrências nos nódulos dos sorogrupos 29W e SEMIA 587 no terceiro ano do experimento foram inferiores (43% e 41%, respectivamente), aos níveis de ocorrência das estirpes CPAC 7 e CPAC 15 nas mesmas condições (69% e 67% para os tratamentos CPAC 7/sem inoculação/CPAC 7 e CPAC 15/sem inoculação/CPAC 7, respectivamente). Esses resultados evidenciam a maior capacidade competitiva das estirpes CPAC 7 e CPAC 15, quando presentes no solo, em relação às estirpes 29W e SEMIA 587.

TABELA 3. Efeito do histórico da inoculação na ocorrência de sorogrupos de *B. japonicum*/*B. elkanii*, em nódulos da soja Doko RC, inoculada no terceiro ano com a estirpe CPAC7. Dados médios de quatro repetições referentes ao terceiro ano do experimento (safra 1995/96).

Inoculação das sementes			Ocorrência dos sorogrupos nos nódulos ¹ (%)				
Ano 1	Ano 2	Ano 3	29W	587	CPAC 15	CPAC 7	S/reação
29W	Sem inoc.	CPAC 7	43 a	3 b	8 f	33 cd	7
29W	CPAC 7	CPAC 7	43 a	1 b	10 ef	44 c	0
29W	CPAC 15	CPAC 7	35 a	2 b	22 efd	36 cd	3
SEMIA 587	Sem inoc.	CPAC 7	9 bcd	41 a	7 f	33 cd	1
SEMIA 587	CPAC 7	CPAC 7	3 cd	34 a	18 efd	43 c	1
SEMIA 587	CPAC 15	CPAC 7	5 bcd	39 a	22 efd	30 cd	1
CPAC 7	Sem inoc.	CPAC 7	17 bc	2 b	8 f	69 ab	1
CPAC 7	CPAC 7	CPAC 7	5 bcd	5 b	15 efd	71 ab	0
CPAC 7	CPAC 15	CPAC 7	5 bcd	2 b	31 cde	60 b	0
CPAC 15	Sem inoc.	CPAC 7	2 d	3 b	67 a	26 d	0
CPAC 15	CPAC 7	CPAC 7	5 bcd	1 b	62 ab	29 d	0
CPAC 15	CPAC 15	CPAC 7	0 d	1 b	72 a	25 d	3
Sem inoc. ²	Sem inoc.	CPAC 7	19 b	10 b	35 bc	30 cd	0
Sem inoc. ²	CPAC 7	CPAC 7	5 bcd	5 b	9 ef	81 a	0
Sem inoc. ²	CPAC 15	CPAC 7	12 bcd	11 b	45 bc	30 cd	0
Coeficiente de variação (%)			54	61	41	18	

¹ As estirpes CPAC 7 e CPAC 15 pertencem aos sorogrupos CB 18099 e 566, respectivamente

² No primeiro ano foi cultivado arroz sem inoculação (Sem inoc. = S/ inoc. = Sem inoculação).

As estirpes 29W, SEMIA 587 e CPAC 15, introduzidas no primeiro ano, interferiram diferenciadamente na formação de nódulos pela estirpe CPAC 7 no terceiro ano do experimento, independentemente dos tratamentos de inoculação do segundo ano (Tabela 3). Observou-se que nos tratamentos inoculados com a CPAC 7 no terceiro ano e onde a 29W e a SEMIA 587 foram introduzidas no primeiro ano, a percentagem de ocorrência nos nódulos da estirpe CPAC 7 (44% e 43%, respectivamente) foi superior à dos tratamentos onde a CPAC 15 foi introduzida no primeiro ano (29% em média). Esses resultados estão de acordo com Mendes et al. (1994), que também observaram a influência de estirpes altamente competitivas do sorogrupo SEMIA 566 (o mesmo da CPAC 15) presentes no solo, na formação de nódulos pela estirpe CPAC 7, utilizada no inoculante. Cabe destacar que o trabalho de Mendes et al. (1994) foi conduzido em áreas com populações naturalizadas de estirpes do sorogrupo SEMIA 566, enquanto o estudo atual foi realizado numa área de primeiro cultivo onde uma estirpe do sorogrupo SEMIA 566 (estirpe CPAC 15) foi estabelecida nela através da inoculação no primeiro ano.

No quarto e quinto anos de condução do experimento (safras 1997/1998 e 1998/1999), quando a soja foi cultivada sem inoculação, o sorogrupo SEMIA 566 apresentou-se dominante nos nódulos em todos os tratamentos, com valores acima de 44% (Tabela 4). Deve ser destacado que mesmo nos tratamentos onde a estirpe CPAC 15 jamais foi inoculada (por exemplo, sem inoculação/sem inoculação/CPAC 7/sem inoculação/sem inoculação), a ocorrência do sorogrupo SEMIA 566 no quarto ano foi de 65% dos nódulos. Resultados semelhantes foram verificados no Rio Grande do Sul (Freire et al., 1983) e no Cerrado (Vargas et al., 1993) e indicam a capacidade competitiva elevada dessas estirpes, particularmente após o terceiro ano, passando a constituir o sorogrupo dominante mesmo em áreas não inoculadas anteriormente. A dispersão de estirpes desse sorogrupo, estabelecendo-se no solo de maneira generalizada também foi confirmada por Ferreira (1999).

TABELA 4. Efeito do histórico da inoculação na ocorrência de sorogrupos de *B. japonicum*/*B. elkanii*, em nódulos da soja Doko Rc., no quarto e quinto anos de condução do experimento (safras 1996/1997 e 1998/1999, respectivamente)*.

1993/1994	Ano / estirpe inoc. ¹				Avaliação em 1996/1997 ²				Avaliação em 1998/1		
	1994/1995	1995/1996	1996/1997	1998/1999	29W	587	CPAC 15	CPAC 7	29W	587	CPAC 15
29W	Sem inoc.	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	32 a	6 c	54 cde	8 cde	19	9	58 bcd
29W	CPAC 7	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	32 a	8 c	47 e	12 bcde	24	14	45 cd
29W	CPAC 15	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	27 a	8 c	55 cde	5 e	20	10	61 abcd
SEMIA 587	Sem inoc.	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	5b	29 ab	58 cde	7 de	9	18	65 ab
SEMIA 587	CPAC 7	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	3b	34 a	59 bcde	4 e	11	21	57 bcd
SEMIA 587	CPAC 15	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	7 b	29 ab	60 bcde	4 e	11	18	55 bcd
CPAC 7	Sem inoc.	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	4 b	11 c	68 abcde	17 bcd	28	12	48 cd
CPAC 7	CPAC 7	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	7 b	8 c	63 bcde	20 ab	13	14	54 bcd
CPAC 7	CPAC 15	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	7 b	5 c	70 abcd	18 abc	15	10	57 bcd
CPAC 15	Sem inoc.	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	3 b	5 c	86 a	5 e	23	8	55 abc
CPAC 15	CPAC 7	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	1 b	8 c	80 ab	10 bcde	8	13	62 abc
CPAC 15	CPAC 15	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	6 b	6 c	80 ab	7 de	13	5	74 a
Sem inoc.	Sem inoc.	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	11 b	13 c	65 abcde	10 bcde	14	7	64 ab
Sem inoc.	CPAC 7	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	12 b	12 c	49 de	28 a	21	12	51 bcd
Sem inoc.	CPAC 15	CPAC 7	Sem inoc.	Sem inoc.	11 b	11 c	74 abc	2	11	10	62 abc
CV (%)					53	73	17	51	55**	56**	14

¹ As estirpes CPAC 7 e CPAC 15 pertencem aos sorogrupos CB 18099 e 566, respectivamente.

² Letras referem-se a comparações dentro da mesma coluna. Valores seguidos pelas mesmas letras nas colunas não diferem estatisticamente entre si.

* Na tabela, não estão apresentados os dados dos nódulos sem reação.

** Diferenças não significativas estatisticamente.

A redução acentuada na ocorrência nos nódulos da estirpe CPAC 7 (sorogrupo CB 1809), no quinto ano de condução do experimento, também merece destaque. Essa estirpe, que no segundo ano do experimento ocorria em 95% dos nódulos do tratamento CPAC 7/CPAC 7 (Tabela 1), teve no quinto ano uma participação de apenas 8% nos nódulos desse mesmo tratamento (CPAC 7/CPAC 7 /CPAC 7/sem inoculação/sem inoculação). Esses resultados indicam, portanto, a necessidade de reinoculação anual dessa estirpe para maximizar os benefícios da FBN.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Futuras estratégias para a reinoculação da soja em solos de Cerrado devem levar em conta obrigatoriamente a composição da população de rizóbios estabelecida no solo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o valioso auxílio do técnico agrícola Osmar Teago de Oliveira e dos funcionários do Laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Cerrados Emílio J. Taveira, Maria das Dores Silva, Odete J. dos Santos e Vilderete Castro Alves, na montagem, condução e avaliação dos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, H.; ERDMAN, L.W. Response of "Lee" soybeans to different strains of *Rhizobium japonicum*. **Agronomy Journal**, Madison, v.56, p.423-424, 1964.

BOONKERD, N.; WEBER, D.F.; BEZDICEK, D.F. Influence of *Rhizobium japonicum* strains and inoculation methods in soybean grown in rhizobia populated soil. **Agronomy Journal**, Madison, v.70, n.4, p.547-549, 1978.

- CALDWELL, B.E.; Vest, G. Effects Rhizobium strains on soybean yields **Crop. Science**, Madison, v.10, n.1, p.19-21, 1970.
- CHAN, K.Y.; BRISTKOVICH, M.O.; VANDEVENTER, J.W. Effect of cropping history on soybean growth and nodulation and soil Rhizobia. **Agronomy Journal**, Madison, v.68, n.3, p.513-517, 1976.
- DAMIRGI, S.M.; FREDERICK, L.R; ANDERSON, I.C. Serogroups of Rhizobium japonicum in soybean nodules as affected by soil types. **Agronomy Journal**, Madison, v.59, p.10-12, 1967.
- DOWLING, D.N.; BROUGHTON, W.J. Competition for nodulation of legumes. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, CA, v.40, p.131-157, 1986
- FERREIRA, M.C. **Caracterização morfológica, fisiológica e genética de estirpes de Bradyrhizobium capazes de nodular a soja e isoladas de solos sob vegetação nativa**. Londrina:UEL, 1999. Dissertação Mestrado.
- FREIRE J.R.J., KOLLING, J., VIDOR, C., PEREIRA, J.S., KOLLING, I.G.; MENDES, N.G. Sobrevivência e competição por sítios de nodulação de estirpes de Rhizobium japonicum na cultura da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.7, p.47-53, 1983.
- HAM, G.E; CALDWELL, V.B.; JOHNSON, H.W. Evaluation of Rhizobium inoculants in soils containing naturalized populations of rhizobia. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p.301-303, 1971.
- MENDES, I.C., PERES, J.R.R., SUHET, A.R., VIVALDI, L.; VARGAS, M.A.T. Efeitos do trifluralin e da inoculação com rizóbio na soja cultivada em solo de Cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.433-440, 1994
- MOAWAD, H.A.; ELLIS, W.R.; SCHIMIDT, E.E. Rhizosphere response as a factor in competition among three serogroups of indigenous of indigenous Rhizobium japonicum for nodulation of field-grown soybeans. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v.47, p.607-612, 1984

- NEVES, M.C.P.; DIDONET, A.D.; DUQUE, F.F.; DOBEREINER, J. Rhizobium strain effects on nitrogen transport and distribution in soybeans. **Journal of Experimental Botany**, London, v.36, p.1179-1192, 1985.
- NISHI, C.Y.M.; HUNGRIA, M. Efeito da reinoculação na soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em um solo com população estabelecida com as estirpes SEMIA 566, 586, 5019, 5079 e 5080. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.5, p.359-368, 1996.
- NISHI, C.Y.M.; BODDEY, L.H.; VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Morphological, physiological and genetic characterization of two new Bradyrhizobium strains recently recommended as Brazilian commercial inoculants for soybean. **Symbiosis**, Rehovot, Israel, v.20, p.147-162, 1996.
- 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**, Porto Alegre, v.16, p.205-219, 1980.
- SEMU, E.; HUME, D.J. Effects of inoculation and fertilizer N levels on N₂ fixation and yields of soybeans in Ontario. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.59, p.1129-1137, 1979.
- TRIPLETT, E.W.; SADOWSKY, M.J. Genetics of competition for nodulation of legumes. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, CA, v.46, p.399-428, 1992.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeitos de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, p.343-347, 1980.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio. In: SIMPÓSIO SOBRE CULTURA DA SOJA NOS CERRADOS, 1992, Uberlândia, MG, 1992. Cultura da soja nos Cerrados. **Potafos**: Potafos, 1993. p159-182. Editado por N.E. Arantes e P.I.M. Souza.