

## COMPORTAMENTO DE SEIS ESTIRPES DE *RHIZOBIUM JAPONICUM*, FRENTE AO CULTIVAR PELICANO DE SOJA, *GLYCINE MAX* (L) MERRIL \*

ILO VASCONCELOS \*\*

FERNANDO MONTEIRO DE PAULA \*\*\*

A especificidade das bactérias do gênero *Rhizobium*, em sua simbiose com as leguminosas, pode chegar até ao nível de variedade ou mesmo cultivar, principalmente no caso do *R. japonicum* em relação com a soja, *Glycine max* (L) Merrill. Referido fenômeno, que revela extraordinária capacidade de adaptação da bactéria a diferentes leguminosas simbiotes, tem notável influência na formação dos nódulos e no processo da fixação do nitrogênio, de modo a constituir fator de primordial importância na seleção de estirpes. ARAÚJO & KUSTER(2), BATHYANY *et al.*(3), BONNIER & BRAKEL (4), DOBEREINER *et al.*(5,6), ERDMAN (8), H. A. MASCARENHAS *et al.*(10) e POCHON & BARJAC(11), dentre outros, tratam da matéria, abordando-a sob diferentes aspectos.

O presente trabalho, que faz parte de uma série, em andamento no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, objetivando a seleção de estirpes nativas para a preparação de inoculantes e seu emprego na agricultura, relata o resultado de um ensaio de competição entre seis estirpes de *R. japonicum* isoladas direta-

mente de nódulos do cultivar Pelicano de soja, cultivado no Ceará.

### MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido em sacos de polietileno com solo de textura arenosa, pobre em nitrogênio, sob condições de casa-de-vegetação, no Centro de Ciências Agrárias da U.F.C., Fortaleza, Ceará, Brasil.

O solo utilizado pertence a um Podzol Bruno Acinzentado, Série Pici, segundo LIMA *et al.*(9) e sua análise, realizada no Laboratório de Solo do Centro acima referido, discrimina-se a seguir:

Nitrogênio	0,03%
Carbono	0,29%
Fósforo	14,00 ppm
Potássio	22,00 ppm
Cálcio + magnésio	2,00 me%
pH	7,00

Cada parcela, constituída de um saco de polietileno com 6 kg de solo, recebeu, antes da semeadura, uma adubação básica de 30 ml de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a

3,5% + 6 ml da seguinte solução: 150,0 mg de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O + 15,8 mg de

CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O + 8,9 mg de ZnSO<sub>4</sub>·

7H<sub>2</sub>O + 1,0 mg de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> + 0,5 mg

de NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O + 20,0 mg de FeSO<sub>4</sub>·

7H<sub>2</sub>O + 20,0 mg de ácido cítrico,

completada a 1 000 ml com água destilada.

\* Trabalho realizado com a colaboração do CNPq.

\*\* Professor do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

\*\*\* Aluno de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Ceará, Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.

Os sacos foram perfurados para fins de drenagem e plantaram-se, em cada 20 sementes de soja, cultivar Pelicano, fornecidas pelo Departamento de Fito-tecniã do Centro de Ciências Agrárias da U.F.C. A germinação ocorreu normalmente, dentro de 4 dias após a se-meadura, procedida em 12-9-75, e fo-ram deixadas 5 plantas por parcela ao término do desbaste. A cultura foi re-gada com água proveniente de poço profundo, uma ou duas vezes por dia, de acordo com as necessidades das plantas.

Durante os 45 dias que transcorre-ram entre a sementeira e a colheita do experimento, observaram-se a tempe-ratura do ar, na casa-de-vegetação, e a do solo, nos sacos plásticos. Esta foi obtida com o auxílio de um geotermô-metro colocado em um dos sacos, es-colhido ao acaso, sendo as leituras realizadas nos dias pares da semana, às 8,00 e às 14,00 horas. Quanto à tem-peratureira do ar, tomaram-se a máx-ima e a mínima, uma vez por semana. Os dados de temperatura são mostrados na Tabela I.

Adotou-se o modelo experimental em blocos casualizados, com 3 repeti-ções e os seguintes tratamentos:

- A) UFC-507.12
- B) UFC-510.12
- C) UFC-511.12
- D) UFC-512.12
- E) UFC-524.12
- F) UFC-527.12
- G) Testemunha (sem inoculação)

A inoculação, procedida no dia da sementeira, realizou-se pela imersão das sementes em cultura preparada no Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro anteriormente mencionado, após crescimento durante 12 dias no meio Extrato de Levedura-Manitol (meio "79"), ALLEN(1), acrescido de azul de bromotimol. As culturas estavam acondicionadas em frascos de Erlenmeyer de 250 ml, obturados com algodão, e foram incubados à temperatura am-biente (26 a 29°C), sem aeração forçada. Na data da inoculação, apresenta-vam-se com boas características, reve-ladas por forte turvação e cor azul intensa.

Todas as estirpes testadas pertencem à Coleção do Laboratório de Mi-crobiologia acima referido, tendo sido obtidas de acordo com o método de seleção rápida para leguminosas tro-picais, de BONNIER & BRAKEL(4), e fo-

TABELA I

Temperaturas do Ar, na Casa-de-Vegetação, e do Solo do Experimento Sobre o Comportamento de Seis Estirpes de *Rhizobium japonicum*, Frente ao Cultivar Pelicano de Soja, *Glycine max* (L) Merrill. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1975.

Temperaturas do Ar na Casa-de-Vegetação (°C)			TEMPERATURAS DO SOLO (°C)					
SETEMBRO			SETEMBRO			OUTUBRO		
Dia	Mx	Mn	Dia	8 horas	14 horas	Dia	8 horas	14 horas
15	39,0	24,0	15	31,0	39,2	1	29,8	37,8
22	40,0	23,0	17	32,0	39,0	3	28,0	38,4
29	40,0	24,0	19	32,0	39,0	6	33,6	38,8
			22	30,0	39,4	8	29,8	37,6
			24	32,4	38,2	10	29,8	39,4
						13	31,0	38,2
			26	28,6	39,0	15	29,6	37,0
			29	29,8	39,2	17	30,8	38,6
						20	29,2	39,0
						22	29,2	39,0
						24	29,4	39,0
						27	28,6	39,2
OUTUBRO								
6	38,5	25,0						
13	40,0	25,0						
20	40,5	25,0						
27	41,0	25,0						

ram isoladas diretamente de nódulos de matrizes de soja Pelicano, cultivadas em território do Estado do Ceará. Tratam-se, ainda, de estirpes aprovadas em teste de nodulação a que foram submetidas antes da instalação do experimento.

A avaliação do ensaio constou da observação da cor e do aspecto geral das plantas e da análise da variância dos dados relativos ao peso seco, tamanho e N total das plantas, e ao número e peso dos nódulos secos, de par com o estudo comparativo entre as médias das referidas variáveis.

Para efeito da determinação dos parâmetros acima indicados, procedeu-se ao corte das plantas ao nível do coleto e a mensuração da parte aérea, seguida do seu dessecamento em estufa à temperatura de cerca de 65°C, até peso constante. Os nódulos foram retirados após cuidadosa eliminação da terra aderida às raízes, com o auxílio de jato d'água, contados e postos a secar nas condições acima discriminadas. O teor de N das folhas foi determinado pelo método de Kjeldahl. Procedeu-se, ainda, ao estudo da correlação entre o N total da parte aérea das plantas e o peso dos nódulos secos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na ocasião da colheita observou-se que as plantas inoculadas apresentavam maior porte que as não inoculadas e com a cor das folhas variando do verde intenso ao verde claro, enquanto que as últimas ostentavam uma folhagem verde pálido e algumas folhas albinas. Observou-se, igualmente, moderado, porém, generalizado ataque de ácaro em todas as parcelas, o que afetou, naturalmente, a coloração da folhagem.

As análises de variância, apreciadas pelo teste F, apresentaram os seguintes resultados para tratamentos: número de nódulos, peso dos nódulos secos e tamanho da parte aérea das plantas = significância ao nível de 1%; peso seco da parte aérea das plantas e N total das folhas = significância ao

nível de 5%. Os dados referentes ao número de nódulos foram transformados em  $\sqrt{x}$ , em concordância com o que recomendam SNEDECOR & COCHRAN(12).

Na Tabela II estão discriminados os dados relativos às médias de peso seco e porte da parte aérea das plantas, N total das folhas, número e peso dos nódulos secos, os percentuais com relação à testemunha e os valores pertinentes aos coeficientes de variação e às diferenças mínimas significativas, para efeito do estudo comparativo entre as referidas médias, adotado o teste de Tukey ao nível fiducial de 5%.

Podemos constatar uma superioridade geral de todos os tratamentos inoculados confrontados com a testemunha, embora diversos deles hajam se nivelado estatisticamente a esta no que respeita a uma ou outra dentre as variáveis consideradas. O teste de Tukey revelou ser a estirpe UFC-507.12 a de melhor *performance*, uma vez que foi a única estatisticamente superior à testemunha em todos os casos.

A ocorrência de nódulos grandes e rosados nas plantas não inoculadas, indica a presença de uma população nativa eficiente, de *R. japonicum*, no solo usado no experimento, a despeito de o mesmo jamais ter sido cultivado com soja.

Os coeficientes de variação dos parâmetros estudados podem ser considerados razoáveis, embora os relativos ao peso seco das plantas e N total das folhas tenham sido altos para experimentos conduzidos em casa-de-vegetação. Constatou-se, por fim, a existência de correlação positiva entre o N total e o peso dos nódulos, já observado por DOBEREINER *et al.*(7), encontrando-se um valor de  $r = 0,73$ , significativo ao nível de 1%.

## CONCLUSÕES

— Houve diferenças entre as estirpes estudadas, principalmente entre as selecionadas e os rizóbios da população autóctone.

— A estirpe UFC-507.12 revelou-se a mais promissora, merecendo maior

TABELA II

Médias de Três Repetições dos Dados de Peso Seco da Parte Aérea e do Tamanho das Plantas, Nitrogênio Total das Folhas, Número e Peso dos Nódulos Secos, Percentuais em Relação com a Testemunha, Diferenças Mínimas Significativas e Coeficientes de Variação do Experimento Sobre o Comportamento de Seis Estirpes de *Rhizobium japonicum*, em Simbiose com o Cultivar Pelicano de Soja, *Glycine max* (L) Merrill. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1975.

TRATAMENTOS (Estirpes)	P L A N T A S		N T O D U L O S		P E S O S E C O			
	Peso Seco Parte Aérea		N Total Folhas		Número		Peso Seco	
	g/parcela	% T	cm	g/parcela	p/parcela	% T	g/parcela	% T
A) UFC-507.12	21,55 a	205	57,0 a	0,67 a	15,26* a	237,2**	1,74 a	212
B) UFC-510.12	18,88 ab	180	41,8 abc	0,69 a	18,75 a	356,3	2,34 a	285
C) UFC-511.12	14,72 ab	140	38,3 bc	0,49 ab	17,47 a	309,5	1,98 a	242
D) UFC-512.12	19,05 ab	181	40,9 bc	0,64 a	19,35 a	378,7	2,54 a	310
E) UFC-524.12	16,98 ab	162	47,9 ab	0,53 ab	15,27 a	237,5	1,77 a	216
F) UFC-527.12	18,42 ab	175	37,4 bc	0,67 a	16,44 a	274,6	2,15 a	262
G) Testemunha (s/inoculação)	10,50 b	100	27,2 c	0,22 b	6,88 b	51,7	0,82 b	100
D. M. S. 5%	9,7	15,9	0,38	0,38	5,95	0,91	0,91	0,91
C. V. %	19,7	13,4	23,9	23,9	13,3	16,8	16,8	16,8

\* Dados transformados  $p/\sqrt{x}$

\*\* Médias retransformadas

Valores seguidos das mesmas letras não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Tukey

atenção nos futuros testes de seleção.

— A fixação do N está positivamente correlacionada com o peso dos nódulos, e

— Possui o solo empregado ativa população de *R. japonicum*, embora jamais tenha sido cultivado com soja, fato que justifica o trabalho de seleção de estirpes a partir de isolamentos feitos diretamente de nódulos de plantas não inoculadas, cultivadas em nossa região.

## SUMMARY

In this paper the authors studied the behavior of six strains of *Rhizobium japonicum* inoculated in Pelicano soybean, *Glycine max* (L) Merrill, and cultivated in a gray-brown Podzol soil under greenhouse condition, in Fortaleza, Ceará, Brazil.

The experiment consisted of seven treatments (UFC-507.12; 510.12; 511.12; 512.12; 524.12; 527.12 and Control) with three replications in a randomized complete-block design.

The strains of *rhizobia* were isolated from plants cultivated in the State of Ceará and belongs to the collection of the "Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará".

Fourty five days after germination the plants were harvested. Dry weight, total N, height of the plants, number and dry weight of nodules were determined. Significatives differences among these parameters were found and the strain UFC-507.12 showed the best performance.

## LITERATURA CITADA

1. ALLEN, O.N. 1957. Experiments in Soil Bacteriology. Burgess Publishing Co., 3rd Ed., Minneapolis, 177 p.
2. ARAÚJO, S.C. & J.C. KUSTER. 1967/1970. Comportamento de sete estirpes de *Rhizobium japonicum* frente a uma variedade de soja, *Glycine max* (L) Merrill. Arq. de Biologia e Tecnologia, Curitiba, XIII: 93-100.
3. BATTHYANY, C.; J. ECHENAGUSIA & C. JAURECHE. 1965. Selección de *Rhizobium* 1964. In IDIA, suplemento 15, Actas de la Reunión Latino-americana sobre inoculantes para leguminosas, Buenos Ayres.
4. BONNIER, C. & J. BRAKEL. 1969. Lutte Biologique Contre la Faim — Légumineuses — *Rhizobium*. Éditions J. Duculot, S.A., Gembloux, 148 p., ilustr.
5. DOBEREINER, J., A.A. FRANCO & I. GUZMÁN. 1970. Estirpes de *Rhizobium japonicum* de excepcional eficiência. Pesq. Agropec. Bras., Rio de Janeiro, 5: 155-161.
6. DOBEREINER, J., N.B. DE ARRUDA & A. DE FIGUEIREDO PENTEADO. 1966. Especificidade hospedeira em variedade de soja, na simbiose com *Rhizobium* Pesq. Agropec. Bras. Rio de Janeiro, 1: 207-210.
7. ————. 1966. Avaliação da fixação do nitrogênio em leguminosas pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. Pesq. Agropec. Bras., Rio de Janeiro, 1: 233-237.
8. EDDMAN, L.W. 1959. Legume inoculation: what it does. Farmer's Bulletin n.º 2003 — United States Department of Agriculture, Washington, D.C., p. 16, ilustr.
9. LIMA, F.A.M., E.G.S. MOREIRA & F. A.W. IPIRAJÁ. 1974. Contribuição ao Estudo dos Solos do Município de Fortaleza. III — Classificação de um Solo. Relatório de Pesquisas do Departamento de Engenharia Agrícola e Edafologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 7 pp. (mimeografado).
10. MASCARENHAS, H.A.A.; S. MIYASAKI, D. WEBER *et. al.* 1968. Comportamento de cinco variedades de soja cujas sementes foram inoculadas com diferentes misturas de estirpes do *Rhizobium*. Anais da IV Reunião Latino-Americana sobre Inoculantes para Leguminosas, Porto Alegre, pp. 366-380.
11. POCHON, J. & H. DE BARJAC. 1958. Traité de Microbiologie des Sols — Applications Agronomiques. Dunod, Paris, 685 pp., Ilustr.
12. SNEDECOR, G.W. & W.G. COCHRAN. 1967. Statistical Methods. 6th Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 593 p.