

ESTABELECIMENTO DE *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* NUM SOLO DE CERRADO PELA INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE ARROZ⁽¹⁾

J. R. R. PERES⁽²⁾, A. R. SUHET⁽²⁾ & M. A. T. VARGAS⁽²⁾

RESUMO

Embora exista tecnologia adequada para inoculação da soja, tem-se observado freqüentemente insucesso dessa prática, quando cultivada em áreas de cerrado de primeiro ano de cultivo. Com o objetivo de reduzir tais riscos, estudou-se a possibilidade de estabelecimento do *Bradyrhizobium japonicum* no solo através da inoculação de sementes de arroz cultivado em área a ser plantada com soja no ano subsequente. Para isso, foi conduzido um trabalho em condição de campo, no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Brasília (DF), num latossolo vermelho-amarelo, argiloso, sem *B. japonicum* nativo ou naturalizado. Dividiu-se uma área ao meio, semeando-se arroz inoculado numa parte e não inoculado em outra. No ano agrícola seguinte, foram conduzidos dois experimentos com soja nessas áreas, tendo diferentes doses de inoculante como tratamentos (0, 250, 500 e 1000g de inoculante/40kg de semente). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições. Houve efeito da inoculação da soja em todas as variáveis analisadas no experimento da área do arroz sem inoculação. No de arroz inoculado, no entanto, não se verificou nenhum efeito benéfico da inoculação da soja, mostrando que a inoculação do arroz foi suficiente para garantir uma nodulação satisfatória da soja. O aumento de rendimento devido exclusivamente ao *Bradyrhizobium* estabelecido através do arroz foi de 983kg de grãos de soja/hectare. Esses resultados mostram a viabilidade de introdução de estírpes de *B. japonicum* através da inoculação de sementes de arroz, constituindo prática tecnicamente viável para tentar evitar os insucessos da inoculação da soja cultivada em áreas de primeiro ano.

Termos de indexação: Soja, *Glycine max*, *Rhizobium japonicum*.

SUMMARY: THE ESTABLISHMENT OF BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM IN CERRADO SOIL BY INOCULATION OF RICE SEEDS

Although adequate technology exist for soybean inoculation, this practice is frequently unsuccessful in the first year soybean cultivation in the Cerrado. With the objective of reducing the risk of unsuccessful inoculation, a study was conducted to determine the possibility of establishing *Bradyrhizobium japonicum* by inoculating rice seeds planted the year before the soybean crop. A field study was conducted at the Cerrados Agricultural Research Center, Brasília, DF, Brazil, on a clayey Red Yellow Latosol without native or introduced *B. japonicum*. Half the area was sown with inoculated rice seeds and the other half with uninoculated rice seeds. During the next growing season soybeans were sown on both parts with different rates of inoculant as treatments (0, 250, 500, and 1000 g of inoculant per 40 kg of

Trabalho realizado no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) - EMBRAPA. Recebido para publicação em outubro de 1987 e aprovado em dezembro de 1988.

⁽¹⁾pesquisador do CPAC - EMBRAPA, Caixa Postal 70.0023, CEP 73301 Planaltina(DF).

seeds). The experimental design was a randomized complete block with three replications. Soybeans responded to inoculation in the area where rice seeds had not been inoculated. However, no additional response of soybeans to inoculation was observed, where rice seeds had been inoculated, showing that the rice inoculation was sufficient to provide satisfactory nodule formation in soybeans. The increase in soybean production due to establishment of bradyrhizobia with rice seeds was 983 kg of grain/ha. These results demonstrate that strains of B. japonicum may be introduced through inoculation of rice seeds, thereby providing a practical technique for overcoming the risks involved in inoculating soybeans in the first year of cultivation.

Index terms: Soybean, Glycine max, Rhizobium japonicum.

INTRODUÇÃO

A inoculação é uma prática indispensável no cultivo da soja para o aproveitamento do N atmosférico pela fixação simbiótica. Embora exista tecnologia adequada para inoculação, tem-se constatado freqüentemente insucesso dessa prática, especialmente em solos de cerrado onde a soja é cultivada pela primeira vez. Suas causas são variadas e, algumas vezes, difíceis de identificar. Podem estar relacionadas à qualidade do inoculante, a altas temperaturas atingidas nos reservatórios das plantadeiras e no solo no dia da semeadura, ou aos fatores de solo que dificultam o estabelecimento do *Bradyrhizobium* (Peres & Vidor, 1980; Vargas et al., 1981; Subet et al., 1986). Em condições onde o solo já possui uma população de *Bradyrhizobium* estabelecida, esses fatores não têm efeito apreciável sobre a nodulação (Peres et al., 1981). Nos solos de cerrado, essa condição só se verifica onde já se cultivou soja pelo menos por um ano.

Autores têm demonstrado a possibilidade de introduzir o *Bradyrhizobium* no solo através da inoculação de não-leguminosas. Rovira (1961) demonstrou, em condições de campo, que a rizosfera de *Paspalum* apresentava uma população de *Bradyrhizobium* superior à encontrada em áreas adjacentes sem plantas desse gênero. Diatloff (1969) encontrou um fator de multiplicação de estípites de *Bradyrhizobium japonicum* de até 2.400, quando introduzidas no solo através da inoculação de sementes de cevada. A população de *Bradyrhizobium* que se estabeleceu foi capaz de nodular satisfatoriamente a soja cultivada subsequentemente na área. Segundo esses autores, a proliferação do *Bradyrhizobium* na rizosfera de não-leguminosas se dá pelo aproveitamento de exsudatos das raízes. Robinson (1967) observou um efeito estimulante das raízes de uma gramínea nativa, no crescimento de *Rhizobium* de trevo e alfafa.

O sistema de produção mais tradicional da região dos Cerrados consta do cultivo do arroz por um ou mais anos antes da primeira semeadura de soja. Assim, estudou-se a possibilidade de estabelecer uma população de *Bradyrhizobium japonicum* no solo, através da inoculação de semente de arroz, esperando que essa população fosse capaz de nodular satisfatoriamente a soja cultivada no ano subsequente.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos em condições de campo, no Centro de Pesquisa Agropecuária dos

Cerrados, Brasília, DF, num latossolo vermelho-amarelo, de textura argilosa, com as seguintes características químicas: pH 5,2; 0,29meq de Al^{3+} /100ml; 0,44meq de Ca^{2+} + Mg^{2+} /100ml; 0,6 ppm de P e 16 ppm de K. A análise microbiológica, pelo método do "número mais provável" (NMP) (Vincent, 1970) revelou que não havia *Bradyrhizobium japonicum* no solo.

A área experimental foi desmatada e mantida com a vegetação herbácea natural por vários anos. No ano agrícola de 1980/81, o solo foi preparado por meio de uma aração, duas gradagens com grade leve e uma rasplagem manual. Foram aplicados 1.750kg/ha de calcário dolomítico (PRNT = 100%) e feita uma adubação a lanço com 120kg/ha de P₂O₅ (superfosfato simples), 100kg/ha de K₂O (cloreto de potássio) e 6kg/ha de Zn (sulfato de zinco). A área foi então dividida ao meio, para os dois experimentos, semeando-se metade com arroz inoculado com *Bradyrhizobium* e metade com arroz não inoculado. O espaçamento entre sulcos foi de 0,5m. A adubação no sulco de semeadura do arroz constituiu-se de 40kg/ha de P₂O₅, 30kg/ha de K₂O e 10kg/ha de N (uréia). Aos 32 dias após a emergência do arroz, foi feita a adubação em cobertura com 10kg/ha de nitrogênio.

Na inoculação das sementes do arroz, usou-se a dose de 1kg de inoculante/60kg de sementes e uma solução de sacarose a 25% para preparar a pasta. O inoculante foi preparado com as estípites 29W (UAPNPBS/RJ) e SEMIA 587 (IPAGRO/RS) e continha aproximadamente 10^8 células/grama. As sementes foram previamente tratadas com Thiram.

Paralelamente ao cultivo do arroz no campo, foi conduzido um ensaio em casa de vegetação, que consistiu no cultivo de soja (IAC-2) em vasos Leonard, com areia e vermiculita, e em vasos contendo solo coletado em sete épocas diferentes (35, 112, 179, 218, 287, 331 e 373 dias após a semeadura do arroz), na linha do arroz inoculado, para permitir uma avaliação mais detalhada do estabelecimento das duas estípites introduzidas. Para a inoculação em vasos Leonard, foi obtida uma suspensão de *Bradyrhizobium* a partir de três sementes de arroz inoculadas. As plantas cultivadas em vasos com solo não foram inoculadas, sendo deixadas três por vaso, com três repetições.

No ano agrícola de 1981/82, foram instalados dois experimentos com soja (IAC-2): um na área onde foi cultivado arroz inoculado e outro na do arroz sem inoculação.

Para a semeadura da soja, aplicaram-se 200kg/ha de P₂O₅, 60kg/ha de K₂O e 20kg/ha de FTE-BR12 no sulco de semeadura. As parcelas mediram 5m de comprimento por 6m de largura. A densidade de semeadura foi de 30 sementes/metro e o espaçamento entre os sulcos, de 0,5m, sendo que seis linhas foram localizadas no mesmo lugar das linhas de arroz e seis nas entrelinhas do cereal. A área útil foi de 12m².

O delineamento estatístico dos dois experimentos foi de blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos foram: 0, 250, 500 e 1000g de inoculante/40kg de sementes. O inoculante foi preparado com as estirpes 29W e 587 e a metodologia de inocolação foi a mesma usada para o arroz.

No arroz, avaliou-se o número de células de *Bradyrhizobium* aderidas por semente (NMP) e a produtividade média da cultura em cada área. Avaliou-se também o número de células de *Bradyrhizobium* (NMP) no solo coletado sobre a linha de arroz inocolado, 75 dias após sua semeadura.

No ensaio de casa de vegetação foi avaliado o número de nódulos em seis épocas (35, 112, 179, 218, 287 e 331 dias da semeadura do arroz). No cultivo em vasos Leonard e em quatro épocas (35, 112, 179 e 373 dias após a semeadura do arroz) dos cultivos em vaso com solo, foi avaliada a percentagem de ocorrência de cada estirpe de *Bradyrhizobium* nos nódulos das plantas, na época da floração. Foram usados 40 nódulos por repetição, os quais foram tipificados através da reação de aglutinação entre os mesmos e os antissoros específicos para as duas estirpes usadas, segundo metodologia descrita por Vincent (1970).

Nos experimentos de soja conduzidos no campo, foi avaliada a nodulação (peso e número de nódulos) na época da floração e o rendimento de grãos. A nodulação, coletando-se doze plantas por parcela, e o rendimento de grãos, colhendo-se as oito linhas internas e desprezando-se 1m de cada extremidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença entre a produtividade do arroz nas áreas com e sem inocolação (2.260 e 2.560kg/ha respectivamente), mostrando que a inocolação das sementes de arroz não prejudicou nem beneficiou a cultura.

Pela inocolação, foram aderidas mais de 1.000 células de *Bradyrhizobium* (NMP) por semente de arroz, proporcionando uma contagem de mais de cem células de *Bradyrhizobium*/grama de solo coletado sobre a linha de arroz inocolado, na camada de 0 a 20cm, 75 dias após a semeadura. Isso evidencia a manutenção do *Bradyrhizobium japonicum* na rizosfera do arroz, o que já havia sido observado por Rovira (1961) e Diatloff (1969) em outras gramíneas e cereais.

A nodulação no ensaio de soja conduzido em casa de vegetação foi abundante em todas as épocas avaliadas, atingindo, em média, 57, 35, 68, 48, 47 e 41 nódulos/planta, nos cultivos feitos nos solos coletados,

respectivamente, aos 35, 112, 179, 218, 287 e 331 dias após a semeadura do arroz. Essa nodulação demonstra o efetivo estabelecimento do *Bradyrhizobium* no solo através da semeadura de arroz inocolado, confirmando os resultados obtidos por Diatloff (1969) com *Bradyrhizobium japonicum* introduzido por meio da inocolação de sementes de cevada. A nodulação observada na última data evidencia que o *Bradyrhizobium* permaneceu no solo mesmo na ausência de hospedeiro específico ou não-específico.

A figura 1 mostra os resultados obtidos no ensaio de casa de vegetação, quanto à ocorrência relativa das estirpes nos nódulos da soja. Os dados referentes à primeira data foram obtidos em vasos Leonard, com areia e vermiculita, e os demais em vasos com solo. Os resultados da primeira data revelam que a estirpe 29W ocorreu em 75% dos nódulos, quando se utilizou como fonte de inóculo uma suspensão do inoculante obtido a partir de três sementes de arroz inocoladas. Segundo Peres & Vidor (1980), a intensidade de ocorrência dessas duas estirpes nos nódulos está estreitamente relacionada com as concentrações de células no inoculante. Como as duas estirpes utilizadas se comportam de modo semelhante ao cultivar IAC-2, pode-se inferir que o inoculante usado se constituía, aproximadamente, de 75% de células da estirpe 29W e de 25% da 587.

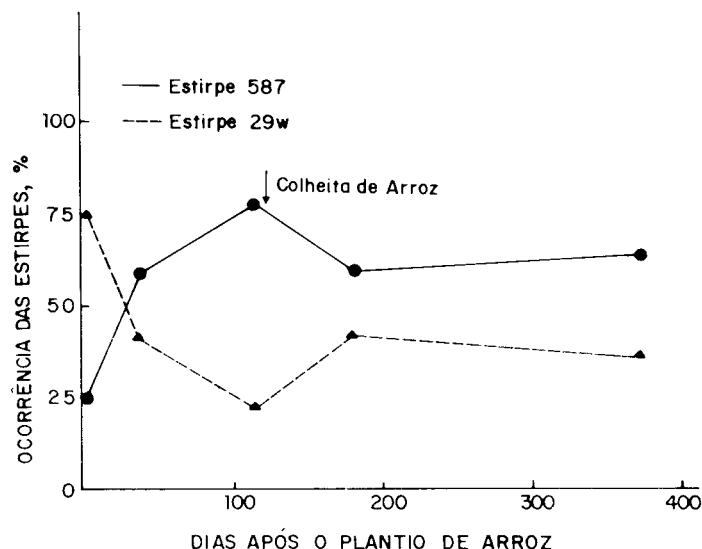


Figura 1. Ocorrência das estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* 29W e 587 nos nódulos de soja cultivada em solo coletado da área onde as estirpes foram introduzidas através da inocolação de sementes de arroz (IAC-25).

O estudo do estabelecimento de cada estirpe no solo, cujos dados são apresentados a partir da segunda data, revela um efeito diferenciado da cultura do arroz sobre as estirpes, prejudicando a 29W ou beneficiando a 587. Aos 35 dias após a semeadura do arroz – 22-12-80 – já havia uma inversão na proporção das estirpes, em relação à proporção contida no inoculante. Nessa data a estirpe 29W induziu a formação de apenas 41% dos nódulos. A percentagem caiu mais ainda até a data relativa ao estádio de maturação fisiológica do arroz – 112 dias após a semeadura – quando essa estirpe induziu a formação de apenas 22% dos nódulos. Essa

redução pode ser devida a algum exsudato tóxico do arroz específico para a estirpe 29W. Tal hipótese é reforçada ao se verificar que nas avaliações efetuadas após a colheita do arroz, a ocorrência dessa estirpe nos nódulos voltou a aumentar, atingindo 43% na avaliação de 15-05-81, que corresponde a 179 dias após a semeadura ou a 58 dias da colheita do arroz. Esses resultados sugerem a necessidade de estudar o comportamento das estirpes individuais em contato com outros cultivares de arroz, como também com plantas de outras espécies que podem ser utilizadas para introduzir o *Bradyrhizobium* no solo antes da semeadura da soja.

Os resultados dos dois experimentos com soja conduzidos no campo são apresentados no quadro 1. Após a análise estatística dos experimentos em separado, decidiu-se pela análise conjunta, com base na homogeneidade das variâncias (Cochran & Cox, 1957). Em todas as variáveis estudadas, houve efeito altamente significativo para a interação entre experimentos e níveis de inoculante. Assim, aplicou-se o teste de Duncan para classificação das médias dos tratamentos de níveis de inoculante dentro de cada experimento e para a comparação dos experimentos dentro de cada nível de inoculante.

Quadro 1. Nodulação e rendimento de soja (IAC-2) em função de níveis de inoculante, em dois experimentos de campo, conduzidos num latossolo vermelho-amarelo de cerrado⁽¹⁾

Doses de inoculante	Nodulação/planta		Rendimento de grãos
	Número	Peso	
g/40kg de semente		mg	kg/ha
Experimento da área de arroz sem inoculação			
0	1c*	8b*	1327d*
250	30b	287a	2032c
500	42ab	320a*	2212b
1000	52a	357a*	2318a
Experimento da área de arroz inoculado			
0	30	167	2310a
250	36	226	2106b
500	37	209	2221a
1000	41	202	2262a
C.V. (%)	23	26	3

(1) As médias seguidas das mesmas letras, em cada coluna, dentro de cada experimento, não se diferenciam entre si pelo teste de Duncan; as médias do experimento da área de arroz sem inoculação, seguidas de asterisco, diferenciam-se pelo teste de Duncan das médias dos tratamentos correspondentes do experimento da área de arroz inoculado.

Observando-se os dados do experimento da área onde o arroz não foi inoculado, verifica-se que houve uma resposta altamente significativa à inoculação da soja, em todas as variáveis avaliadas (Quadro 1). A maior diferença, tanto na nodulação quanto no rendimento, foi verificada entre o tratamento testemunha e o tratamento com 250g de inoculante/40kg de semente.

Verifica-se, no entanto, que a produtividade aumentou significativamente até o nível de 1.000g de inoculante, cujo rendimento foi 991kg/ha superior ao do tratamento sem inoculante, confirmando-se a indicação que se faz para o uso dessa dose de inoculante para solos de cerrado de primeiro ano de cultivo (Vargas & Suhet, 1980; Suhet et al., 1986).

No experimento da área onde o arroz havia sido inoculado, não se encontrou resposta à inoculação da soja, indicando que a população de *Bradyrhizobium* estabelecida através da inoculação do arroz foi suficiente para garantir uma nodulação satisfatória da soja (Quadro 1). Esses dados estão de acordo com os obtidos por Vargas et al. (1981), que não encontraram resposta à inoculação, na soja cultivada em área com população estabelecida de *Bradyrhizobium*. Não foi detectada a causa da redução de rendimento no tratamento com 250g de inoculante em relação aos demais.

Comparando ambos os experimentos, encontrou-se uma diferença significativa entre eles, em todas as variáveis, para o tratamento em que a soja não foi inoculada. O aumento de rendimento devido exclusivamente à introdução do *Bradyrhizobium* através do arroz foi de 983kg de grãos de soja/hectare. Com relação às diferenças observadas entre os dois experimentos nos demais tratamentos, não se encontrou uma explicação satisfatória.

O baixo número de nódulos no tratamento testemunha do experimento da área de arroz sem inoculação (um nódulo/planta), indica que a população de *Bradyrhizobium japonicum* nativo ou naturalizado na área era muito pequena e que, praticamente, não houve contaminação das parcelas. Os coeficientes de variação das três variáveis conferem alto grau de precisão aos experimentos.

Numa análise global dos experimentos, verificou-se que tanto a introdução do *Bradyrhizobium* através da inoculação do arroz como a inoculação da soja para semeadura em áreas de primeiro ano, apresentaram resultados satisfatórios. A inoculação do arroz possibilitou a colonização do solo pelo *Bradyrhizobium* com antecedência de um ano da semeadura da soja. Essa prática pode ser indicada por ser tecnicamente viável, como alternativa para tentar evitar os insucessos da inoculação no cultivo da soja, muitas vezes devidos a baixo número de células viáveis de *Bradyrhizobium* nos inoculantes comerciais ou ao efeito de altas temperaturas sobre elas.

CONCLUSÃO

Foi viável a introdução e estabelecimento de estípites de *Bradyrhizobium japonicum* em solo de cerrado através da inoculação do arroz.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Técnico Agrícola Osmar Teago, aos Técnicos de Laboratório Ademildo Santos

da Silva e Vilderete de Castro Alves e ao Auxiliar de Laboratório Emílio José Taveira, a participação na instalação e condução do ensaio e dos experimentos.

LITERATURA CITADA

- COCHRAN, W.G. & COX, G.M. Experimental designs. 2.ed. New York, John Wiley, 1957. 611p.
- DIATLOFF, A. The introduction of *Rhizobium japonicum* to soil by seed inoculation of non-host legumes and cereals. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., Victoria, 9:357-360, 1969.
- PERES, J.R.R.; VARGAS, M.A.T. & SUHET, A.R. Sobrevivência e competitividade de estípulas de *Rhizobium japonicum* em culturais de soja em um solo de cerrados. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., Brasília, 1981. Anais. Brasília, EMBRAPA-CNPSO, 1981. p.766-777.
- PERES, J.R.R. & VIDOR, C. Relação entre concentração de células no inoculante e competição por sítios de infecção nodular entre estípulas de *Rhizobium japonicum* em soja. R. bras. Ci. Solo, Campinas, 4:139-143, 1980.
- ROBINSON, A.C. The influence of host on soil and rhizosphere populations of clover and lucerne root nodule bacteria in the field. J. Aust. Inst. Agric. Sci., Victoria, 33:207, 1967.
- ROVIRA, A.D. Rhizobium numbers in the rhizospheres of red clover and paspalum in relation to soil treatment and the numbers of bacteria and fungi. Aust. J. Agric. Res., Victoria, 12:77-83, 1961.
- 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. Planaltina, EMBRAPA/CPAC/São Paulo, Nobel, 1986. p.167-202.
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R. & SUHET, A.R. Reinoculação da soja e ocorrência de serogrupos de *Rhizobium japonicum* em solos de cerrado. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., Brasília, 1981. Anais. Brasília, EMBRAPA/CNPSO, 1981. p.715-721.
- VARGAS, M.A.T. & SUHET, A.R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de cerrados. Pesq. agrop. bras., Brasília, 115(3):343-347, 1980.
- VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. London, International Biological Programme, 1970. 164p.