

Estudos sobre a inoculação da soja

JOSÉ GOMES DA SILVA

Assistente da Secção de Cereais e Leguminosas do Instituto
Agronômico do Estado de São Paulo

I — INTRODUÇÃO

É uma particularidade das leguminosas utilizar, em condições normais, o azoto atmosférico para atender às suas necessidades de vegetação e produção.

Isso é conseguido graças a uma associação simbiótica que tais plantas mantêm com certas bactérias fixadoras de azoto, em nodosidades das suas raízes.

Esse assunto, entre nós, tem sido encarecido por vários autores em publicações diversas. D'Utra (4), em 1919, lembrando o que ocorrera na França, Alemanha e nos Estados Unidos, atribuía os insucessos até então verificados entre nós com a cultura da soja "à falta de micróbios específicos no solo". Mendes (8) fez idêntica observação para certos adubos verdes, nos quais notou deficiência de fixação de azoto. Lembrou ainda a necessidade dum laboratório que produzisse e fornecesse bactérias selecionadas.

Pacheco (9) e recentemente Carvalho (2) ressaltaram a importância do assunto sob o ponto de vista do enriquecimento do solo em azoto.

Grças às suas vantagens econômicas, a inoculação de sementes de leguminosas tornou-se prática agrícola generalizada nos países mais adiantados, permitindo ainda o desenvolvimento de indústrias produtoras de inoculantes comerciais. Segundo Calland (1), 87% dos plantadores de soja da área central de Illinois inocularam as suas sementes no ano de 1944, apesar de cultivarem essa leguminosa há muitos anos no mesmo terreno. Num único ano, as instituições oficiais distribuí-

ram nos Estados Unidos cerca de 1.500,000 de unidades para tal mister, apesar de a maior parte do fornecimento de inoculantes ser feita por laboratórios particulares.

II — NECESSIDADE DA INOCULAÇÃO

Existem diversos fatores ligados à cultura das leguminosas que fazem da inoculação artificial das sementes uma prática agrícola bastante importante. Esses fatores são os seguintes:

1) Nem sempre as bactérias existem no solo em número suficiente para determinar a formação de nódulos nas raízes de todas as plantas de uma cultura; às vezes cultiva-se a leguminosa pela primeira vez num determinado terreno e as bactérias existentes no solo, e que se multiplicam naturalmente, não têm uma distribuição generalizada que garanta uma nodulação eficiente;

2) Em certos grupos de inoculação cruzada, é muito pequeno o número de leguminosas suscetíveis de serem invadidas pela mesma espécie do gênero **Rhizobium**; já em outros grupos, o **Rhizobium** é comum a muitas espécies de diferentes gêneros; o **Rhizobium** do cowpea, **Vigna sinensis**, por exemplo, é capaz de formar nódulos no feijão de porco, **Canavalia ensiformis**, em kudzú, **Pueraria thumbergiana**, em amendoim, **Arachis hypogaea**, em feijão guandu, **Cajanus indicus**, em mucuna, **Stizolobium deeringianum**, em **Crotalaria**, **Desmodium**, **Lespedeza**, etc.; por outro lado, a bactéria da soja é específica, isto é, o **Rhizobium japonicum** Kirchner é capaz de formar nódulos apenas na espécie botânica **Glycine max**; o mesmo acontece para o chamado grupo do feijoeiro: o **Rhizobium phaseoli** Dangeard forma nódulos apenas em **Phaseolus vulgaris**, **P. angustifolia** e **P. multifolia**. Devido ao menor número de plantas hospedeiras, a distribuição no solo dessas duas últimas espécies de **Rhizobium** é muito menos generalizada e, como consequência, a inoculação torna-se ainda mais necessária;

3) Um fator que torna importante a inoculação artificial mesmo em solos já anteriormente cultivados com leguminosas do mesmo grupo de inoculação cruzada, é a melhor qualidade de nódulos produzidos por linhagens selecionadas; os nódulos

produzidos pelas bactérias naturalmente existentes no solo são pequenos, distribuídos em diversos pontos das raízes secundárias, indicando infecções em diferentes períodos da vida da planta; por outro lado, as linhagens selecionadas produzem nódulos localizados na raiz principal, próximos ao colo, mostrando simbiose precoce, de que a planta desde cedo se beneficia; essa nodulação inicial determinada pelas boas estirpes de *Rhizobium* confere à planta, segundo alguns autores, uma certa resistência à penetração de linhagens menos ativas ou mesmo produtoras de nodosidades parasíticas; é preciso ressaltar ainda que as linhagens melhoradas possuem uma grande capacidade fixadora de azoto; isso nem sempre ocorre com todas as linhagens de *Rhizobium*;

4) Têm sido demonstradas, em inúmeras experiências, as vantagens proporcionadas pela rotação de culturas, principalmente quando nessa rotação entra uma leguminosa; quando se pratica a inoculação, os efeitos benéficos que a leguminosa exerce sobre a cultura subsequente são bastante aumentados;

5) Pode parecer, à primeira vista, ser vantajoso cultivar uma leguminosa anos sucessivos no mesmo terreno, onde o número de bactérias no solo iria aumentando; isso seria verdade, se as leguminosas, particularmente a soja, não fossem atacadas por nematóides e outras moléstias e pragas, quando cultivadas anos seguidos no mesmo lugar; aqui aparece a rotação, como prática recomendável, e a única objeção — a diminuição das bactérias do solo — é facilmente compensada com a prática simples e barata de inoculação de sementes.

III — TRABALHO EXPERIMENTAL

A questão da inoculação de sementes de leguminosas constitui, em outros países, assunto de grande importância, pois, contribui diretamente para o aumento das colheitas e para o enriquecimento, em azoto, do solo.

A questão não tem sido ainda estudada entre nós sob base experimental. Apenas Cuba (3) demonstrou experimentalmente, para o caso da alfafa, as vantagens da aplicação de bactérias, quando usada juntamente com calcáreo e fosfato.

Com a finalidade de verificar a influência da inoculação na cultura da soja, instalamos, no ano agrícola de 1947/48, quatro ensaios nas estações experimentais do Instituto Agrônomo, localizadas em Pindorama, Ribeirão Preto, Mococa e Campinas, abrangendo quatro diferentes tipos de solo. Foi feita a análise química desses solos, antes da instalação dos ensaios, a fim de se verificar a possível influência das suas qualidades químicas nos resultados obtidos. Os resultados dessas análises, constam do quadro I.

QUADRO I

Análise química do solo (*)

LOCALIDADE	Tipo de terra	pH	Teor total % N	Teor trocável ME por 100 gr de solo sêco a 110° C		
				Po ⁴	K	Ca
Pindorama	arenosa	5,90	0,045	0,53	0,250	1,66
Ribeirão Preto	roxa	5,60	0,158	1,98	0,072	5,88
Mococa	massapé	6,00	0,091	0,79	0,140	2,46
Campinas	roxa misturada	5,35	0,130	0,60	0,210	2,66

(*) -- Análises feitas pela Seção de Agrogeologia do Inst. Agrônomo

Finalidades: — Visamos determinar nesses ensaios: a) a influência da inoculação das sementes na produção, rendimento, e riqueza dos grãos e do feno; b) a influência da inoculação das sementes no número de nódulos das raízes; c) o comportamento de três inoculantes diferentes.

Tratamentos: Os tratamentos usados foram os seguintes:

- 1) **Bactérias em agar:** bactérias multiplicadas em meio de Fred-Waksman (6) modificado;

- 2) "Urbana Humus Inoculator": inoculante comercial americano, do tipo sólido;
- 3) Bactérias em turfa: linhagem 101 multiplicada em meio sólido de turfa, preparada segundo Lochhead (7);
- 4) Testemunha: sementes sem inoculação.

Plano: 6 blocos ao acaso.

Canteiros: 60 m², isto é, 10 linhas espaçadas a 60 cm, com 10 m. de comprimento; as covas a 20 cm; cinco sementes em cada cova, deixando 2 plantas após o desbaste.

Adubação: não foi feita.

Variedade empregada: "Abura".

Colheita: das 8 linhas centrais de cada canteiro.

1 — ENSAIO DE PINDORAMA

O ensaio foi instalado em 27-11-47. Constatou-se a germinação em 5-12-47; o desbaste foi feito em 16-12-47, o florescimento verificou-se em 29-1-48 e a colheita em 15-4-48.

Foram feitas determinações sobre o número inicial de falhas (18-12-47) e o número de falhas na colheita (15-4-48). Foram pesadas, separadamente, as produções por canteiro.

De cada canteiro foi feita a contagem do número de nódulos no sistema radicular de 10 plantas colhidas ao acaso. Com 5 outras plantas, de cada canteiro, também escolhidas ao acaso, foi analisado o produto colhido, fazendo-se determinações de:

- a) peso de 1.000 sementes;
 - b) percentagem de grãos defeituosos;
 - c) rendimento, isto é, o quociente entre o peso de grão e o peso total da vagem (o rendimento exprime a melhor ou pior granação das sementes);
 - d) análise da riqueza das sementes em proteína e óleo.
- Os resultados obtidos figuram no quadro II.

QUADRO II

Ensaio de Inoculação de soja, Pindorama 1947-48

Tratamento	Produção kg/ha	Falhas		Número médio de nódulos p/ planta	Rendimento %	Peso de 1000 grãos gr	Grãos defeituosos %	Riqueza das sementes (%)	
		inicial %	final %					proteína	óleo
1. Bactérias de agar (linhagem 103)	1.390	11	25	144	56,1	167	13,0	45,39	17,21
2. "Urbana Humus Inoculator	1.560	9	20	124	56,7	173	15,8	45,39	17,24
3. Bactérias em tur- fa (")	454	81	85	8	45,2	161	14,8	39,56	19,80
4. Testemunha	730	13	19	6	47,0	142	23,6	40,65	20 2
									$d = \pm 173$

(^o) Análises feitas pelo Sr. J. Pio Néri, da Secção de Tecnologia, do Instituto Agrônômico.

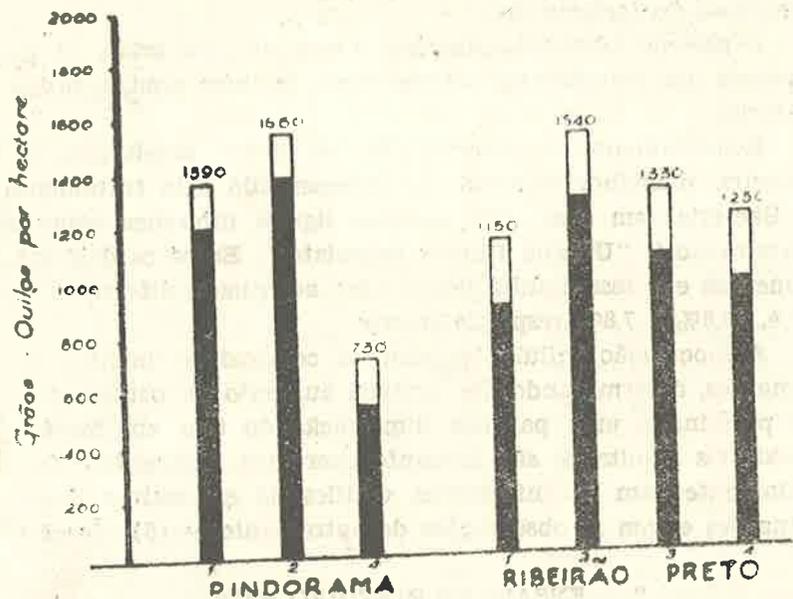
(^o) A cultura usada neste ensaio estava contaminada, conforme verificamos posteriormente em amostra guardada no laboratório. (A preparação de culturas em meio sólido é bastante delicada, porquanto não se percebem as contaminações que ocorrem durante a manipulação da turfa. Há necessidade de condições especiais de assepsia, de que não dispúnhamos.

Resultados: O ensaio foi plantado na época normal para a soja, isto é, fins de novembro. Constatou-se, logo de início, péssima germinação em todos os canteiros do tratamento 3. Nos demais, a percentagem de falhas no início foi relativamente baixa, de ordem de 12%, com pequena diferença a favor do tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator". No final, para os três tratamentos, a percentagem de falhas era quase o dobro da inicial, isto é, 21% em média. Praticamente, os tratamentos 2 e 4 apresentaram o mesmo número de falhas.

Foi feita a análise da variância da produção, excluindo-se o tratamento 3, Bactérias em turfa, dada a péssima germinação observada, o que resultou numa acentuada queda da produção. O ensaio deu resultados altamente significativos: $F = 63.69$ (para $P = 0,01\%$, $n_1 = 2$; $n_2 = 10$, $F = 13.81$).

A diferença mínima significativa foi igual a 173 kg/ha.

Vemos que o tratamento melhor foi o 2, "Urbana Humus Inoculator", com uma produção média de 1.560 kg/ha, ou sejam 114% a mais sobre o testemunha. A diferença entre o tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator", e o tratamento 1, Bactérias em agar, foi de 170 kg/ha, bem próximo do limite de significância (gráfico).



O emprego de bactérias selecionadas tem, como era de se esperar, notável influência sobre o número de nódulos das raízes. Assim é que os tratamentos 1, Bactérias em agar, e 2, "Urbana

hana Humus Inoculator", apresentaram, em média, respectivamente 144 e 124 nódulos por plantas, ao passo que nos tratamentos 3, Bactérias em turfa, (cultura contaminada), e 4, sem inoculação, o número de nódulos por planta foi apenas de 8 e 6 respectivamente. Constatou-se ainda que os nódulos do tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator", eram mais desenvolvidos que os do tratamento 1, Bactérias em agar.

Pudemos verificar, pelos dados obtidos, que o emprêgo de bactérias selecionadas influi consideravelmente sôbre o produto colhido.

Quanto ao rendimento, os dados mostram que houve maior proporção de grãos nas vagens das plantas inoculadas. Influíu ainda aqui a qualidade do inoculante. O rendimento do tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator", foi um tanto superior ao do tratamento 1, Bactérias em agar, e nitidamente superior ao do testemunha.

O peso de 1.000 grãos exprime o tamanho dos grãos. A influência dos tratamentos acompanhou, também aqui, a ordem anterior.

Relativamente à percentagem de grãos defeituosos na amostra, o melhor resultado foi apresentado pelo tratamento 1, Bactérias em agar, que mostrou ligeira diferença sôbre o tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator". Entre os dois tratamentos e o testemunha houve uma acentuada diferença, isto é, 10,6% e 7,8% respectivamente.

A inoculação influiu também na composição química das sementes, determinando um sensível aumento na percentagem de proteína e uma paralela diminuição do teor em matéria graxa. Os resultados são bastante coerentes. Concordam perfeitamente com as influências verificadas em outras determinações e com as observações de outros autores (5) (10) etc.

2 — ENSAIO DE RIBEIRÃO PRETO

Este ensaio foi instalado, seguindo o mesmo plano anterior, em 17-11-47. Verificou-se a germinação a 25-11-47; o desbaste foi efetuado em 12-12-47; o florescimento se deu em 5-2-48. Colheita, em 3-4-48.

Foram feitas determinações sobre o número inicial de falhas 18-12-47 e o número de falhas na colheita.

Foram pesadas, separadamente, as produções por canteiro.

Em 10 plantas escolhidas ao acaso dentro de cada canteiro, foi analisado o produto colhido, fazendo-se determinações de:

- a) peso de 1.000 sementes;
 - b) percentagem de grãos defeituosos;
 - c) rendimento;
 - d) análise da riqueza das sementes em óleo e proteína.
- Os resultados obtidos figuram no quadro III.

QUADRO III

Ensaio de Inoculação de soja. Ribeirão Preto, 1947/48

Tratamentos	Produção kg/ha	Falhas		Rendimento %	Peso de 1000 grãos gr	Grãos defeituosos %	Riqueza das sementes (
		inicial %	final %				proteína %	óleo
1. Bactérias em agar (linhagem 101)	1.150	9,7	13,0	54	135	5,5	41,74	18,36
2. "Urbana Humus Inoculator"	1.540	11,0	16,5	60	146	5,4	45,39	17,04
3. Bactérias em turfa	1.330	14,0	16,5	60	131	5,3	39,92	19,95
4. Testemunha	1.230	10,5	15,0	56	130	6,5	41,02	19,31
	d = ± 249							

(*) Análises feitas pelo Sr. J. Pio Néri, da Seção de Tecnologia, do Instituto Agronômico.

Resultados: Neste ensaio, o número de falhas, tanto inicial como final, foi relativamente pequeno e não houve, praticamente, diferença entre os tratamentos. O tratamento 3, Bactérias em turfa, não influu na germinação das sementes, devido, naturalmente, ao fato de não ter sido contaminada a cultura inicial.

O ensaio foi significativo : $F = 4,27$ (para $P = 0,05$, $n_1 = 3$; $n_2 = 15$, $F = 3,29$). A diferença mínima significativa foi igual a 249 kg/ha. Como no ensaio de Pindorama, o melhor tratamento foi "Urbana Humus Inoculator", que produziu 25% a mais que o testemunha. Os outros dois tratamentos não produziram aumentos significativos (gráfico).

Houve, também aqui, influência dos tratamentos sobre o produto colhido, conforme se depreende do exame dos dados relativos ao rendimento, peso de 1.000 grãos e percentagem de grãos defeituosos. O tratamento 2, "Urbana Humus Inoculator", foi superior aos demais, com o maior rendimento, grãos maiores e uma pequena percentagem de grãos defeituosos.

Verificou-se favorável influência na riqueza das sementes em proteína, o que foi acompanhado, como no ensaio anterior, por diminuição na percentagem de óleo. A ação das bactérias se exerceu apenas no tratamento em que houve aumento significativo de produção. A concordância de resultados mostra a maneira uniforme como influíram os tratamentos.

3 — ENSAIO DE MOCOCA

Este ensaio foi plantado em 4-12-47; germinação em 10-12-47; o desbaste foi feito em 7-1-48; o florescimento se deu a 5-2-48, e, a colheita, em 31-3-48.

Determinou-se neste ensaio apenas o número de falhas na colheita e a produção por canteiro. Os resultados figuram no quadro IV.

QUADRO IV

Ensaio de Inoculação de soja. Mococa 1947/48

Tratamentos	Produção kg/ha	Falhas final %
1. Bactérias em agar (linhagem 103)	1.565	12
2. "Urbana Humus Inoculator"	1.240	11
3. Bactérias em turfa	900	68
4. Testemunha	1.500	10

Resultados : — O ensaio foi plantado em época boa para a cultura da soja. O emprêgo duma cultura contaminada no tratamento 3, Bactérias em turfa, determinou, como no ensaio de Pindorama, péssima germinação em tôdas as repetições. Na colheita, a percentagem de falhas correspondentes aos três outros tratamentos foi mais ou menos a mesma.

Com exceção do tratamento 3, as produções foram boas de um modo geral.

O ensaio não foi estatisticamente significativo.

4 — ENSAIO DE CAMPINAS

Empregamos neste ensaio a variedade de soja forrageira "Otootan", visando verificar a influência da inoculação das sementes sôbre a produção de massa verde.

Plano : 6 blocos ao acaso.

Canteiros : 40 m², isto é, 10 linhas espaçadas a 40 cm com 10 m de comprimento; sementeira em filete contínuo na base de 33 gr por 10 m de sulco.

Adubação : não foi feita.

Colheita : das 8 linhas centrais de cada canteiro.

Tratamentos : Os mesmos dos ensaios anteriores.

O ensaio foi plantado em 10-12-47, germinando as sementes a 15-12-47. A colheita verificou-se por ocasião do florescimento, 5-3-48.

Foram pesadas, separadamente, as produções por canteiro. De cada canteiro foi feita a contagem do número de nódulo do sistema radicular de 6 plantas colhidas ao acaso em cada canteiro.

Com uma parte da produção de feno de cada canteiro foi preparada uma amostra média para análise.

Os resultados figuram no quadro V.

QUADRO V

Ensaio de Inoculação de soja forrageira. Campinas, 1947/48.

Tratamentos	Massa verde kg/ha	Número de nódulos por planta	Riq. do feno (')	
			Proteína % (')	cinza % (')
1. Bactérias em agar (linhagem 104)	13.310	63	11,56	9,78
2. "Urbana Humus Inoculator"	13.880	58	11,53	8,47
3. Bactérias em turfa	13.940	41	9,86	8,70
4. Testemunha	14.380	31	11,00	10,17

(') Análises feitas pela Seção de Agrogeologia do Inst. Agronômico.

('') Relativo à substância original.

Resultados: — O ensaio não foi significativo.

As produções de massa verde foram apenas regulares, o que pode ser atribuído à acidez mais ou menos elevada do solo (PH 5,3) em que foi feito o ensaio. É possível que esse mesmo fator tenha perturbado a ação dos inoculantes.

Houve, entretanto, um favorável efeito no número de nódulos por planta. É de se notar, também, que no testemunha as plantas apareceram regularmente noduladas.

É provável que a inoculação tenha influído favoravelmente sobre a percentagem de proteína do feno. Nos tratamentos em que foi aumentado o número de nódulos parece ter havido um aumento correlato de teor protéico do feno.

IV. RESUMO E CONCLUSÕES

Os resultados dos 4 ensaios conduzidos foram bastante variáveis. Em Pindorama o ensaio foi altamente significativo; em Ribeirão Preto foi apenas significativo. Em Mococa e Campi-

nas não houve significância estatística. Em Campinas parece que a acidez elevada do solo perturbou a influência dos tratamentos.

Nos ensaios significativos as influências dos tratamentos sôbre tôdas as determinações realizadas foram bastante concordantes, e, os resultados, perfeitamente uniformes.

Pode-se concluir, dos dados obtidos, que não basta apenas a aplicação de bactérias às sementes. A qualidade do inoculante influi bastante, principalmente a eficiência da linhagem usada. Estirpes nativas, provenientes de culturas e plantas diferentes, deram resultados bastante diversos, apesar de terem sido isoladas segundo a mesma técnica, multiplicadas no mesmo meio de cultura sob condições idênticas. Essas linhagens nativas mostraram-se, por sua vez, inferiores às do inoculante americano que usamos. Os resultados obtidos são bastante animadores, se atentarmos para o baixo custo dos tratamentos. Com cultura de *Rhizobium*, valendo apenas alguns cruzeiros, determinou-se, no ensaio de Pindorama, um aumento de produção de grãos, de valor comercial superior a mil cruzeiros.

SUMMARY

Plot tests on soybean seed inoculation with *Rhizobium* were carried out at four localities during 1947/48 comprising four different soil types in the State of São Paulo.

In Pindorama sandy soil and "terra roxa" of Ribeirão Preto there was significant increase in seed production, number of nodules per plant, weight of 1.000 seeds, yield and protein, with a parallel diminution of defective seeds and oil content.

"Urbana Humus Inoculator" was found to be superior to agar cultures of native strains.

No significant results were found in an experiment carried out in a soil of the "massapé" type in Mococa and in mixed type of acid soil in Campinas.

LITERATURA CITADA

- 1 — CALLAND, J. W. — Cultural practiques in Illinois. The soybean Digest 6 : 10-11. 1946.
- 2 — CARVALHO, R. S. — As bactérias dos nódulos das raízes das leguminosas. Anais Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz" (Piracicaba) 3 : 10-26. fig. 1-5. 1946.
- 3 — CUBA, P. — Elementos para a formação de um alfafal. Bol. Inst. Agronômico do Est. S. Paulo (Campinas) 6 : 1-9. 1938.
- 4 — D'UTRA, G. R. P. — Adubos verdes. Bol. Secret. Agr. Ind. e Com. Est. S. Paulo, pg. 1-76. ilustr. 1919.
- 5 — FELLERS, C. R. — The effect of inoculation, fertilizer treatment and certain minerals on the yield, composition and nodule formation of Soybeans. Soil Science 6 : 81-132. 1918.
- 6 — FRED, E. B. e S. WAKSMAN. Em Laboratory anual of General Microbiology, pg. 1-145. 1.a ed., Mac-Graw-Hill Book Co., 1928.
- 7 — LOCHHEAD, A. G. e R. H. THEXTON — Growth and survival of bacteria in peat : I. Powdered peat and related products. Canad. Jour. Res. C : 25 : 1-13, tab. 1-5. fig. 1-7. 1947.
- 8 — MENDES, C. T. — Adubos verdes. Bol. Secret. Agr. Ind. e Com. Est. S. Paulo, pg. 1-66. 1928.
- 9 — PACHECO, GENÉSIO — Como obter o azóto barato na agricultura. Bol. Secr. Agr. Ind. e Com. Est. S. Paulo 32 : 83-111. fig. 1-14. 1931.
- 10 — PIPER, C. V. e W. J. MORSE. Em The Soybean, pg. 1-329. 1.a ed., Mac-Graw-Hill Book Co., 1923.