

INCORPORAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA ("MULCHING") E APLICAÇÃO DE PÉLETES DE CALCÁRIO ("PELLETING") PARA TESTAR ESTIRPES DE *Rhizobium* EM EXPERIMENTOS DE CAMPO SOB CONDIÇÕES TROPICAIS¹

D. O. NORRIS², E. S. LOPES³ e D. F. WEBER⁴

Stnopsse

Dois experimentos de campo foram conduzidos no Estado de São Paulo, Brasil, com o objetivo de se estudar o efeito do solo e da inoculação na nodulação e na produção das quatro leguminosas *Glycine javanica*, *Teramnus uncinatus*, *Medicago sativa* e *Phaseolus vulgaris*. Quatro estirpes de *Rhizobium* para cada leguminosa foram testadas. Os seguintes tratamentos de inoculação foram feitos: testemunha sem inoculação; inoculação normal com turfa, utilizando-se uma solução de sacarose a 10% como adesivo; e peletização, sendo o inoculante turfoso aderido com uma solução de goma arábica a 45% e revestido com calcário. Todos os tratamentos foram comparados em solos com e sem a incorporação de matéria orgânica, que consistiu de bagacilho de cana.

A técnica de incorporação da matéria orgânica para imobilizar os nitratos do solo mostrou-se eficaz no sentido de permitir detectar diferenças na capacidade de fixação de nitrogênio de diferentes estirpes de *Rhizobium*, bem como no controle de ervas daninhas.

A técnica de peletização com calcário mostrou-se vantajosa em promover nodulação das espécies *Medicago sativa* e *Phaseolus vulgaris*, de alta especialização simbiótica, mas sem efeito em *Teramnus uncinatus*, e de pouca eficácia em *Glycine javanica*.

As várias combinações *Rhizobium*-leguminosa, ou mesmo uma determinada leguminosa, responderam diferentemente nos tratamentos de incorporação de matéria orgânica e de inoculação, mostrando o perigo de se tirar conclusões gerais de experimentos com apenas uma determinada combinação.

As potencialidades de uso da técnica de incorporação de matéria orgânica e da peletização são discutidas com referência especial à especificidade simbiótica das leguminosas testadas.

INTRODUÇÃO

É relativamente simples testar, em casa de vegetação, a eficiência de fixação de nitrogênio de estirpes de *Rhizobium*, bem como selecionar estirpes que em relação a outras apresentem capacidade máxima de fixação (Norris 1964). Entretanto, não é fácil proceder-se a um teste semelhante, em condições de campo. Vários fatores tornam ainda mais problemática a comparação no campo, em ambiente tropical. A elevada acidez predominante nos solos tro-

picais é um desses fatores. Esse fator é irrelevante em testes de estirpes do tipo "cowpea" que são naturalmente adaptadas a solos ácidos, mas torna-se um obstáculo no teste de estirpes de *Rhizobium* especializadas, de crescimento rápido e produtores de ácido, como por exemplo a bactéria associada com alfafa. Tais estirpes resultam da adaptação da planta hospedeira a solos alcalinos (Norris 1965) e quando introduzidas em solos ácidos, através de inoculação de sementes, podem não sobreviver na rizosfera das plantas por tempo suficiente para promoverem nodulação. Outra dificuldade existente no caso de solos tropicais, e que prevalece independentemente do tipo de *Rhizobium* usado, é a interferência causada pelo excesso de ions nitrato no solo. A nitrificação ocorre rapidamente nos solos tropicais quando eles recebem uma chuva após um período de seca, e os ions nitrato podem atingir altos níveis (Greenland 1958). Um nível elevado de ions nitrato inibe a formação e o desenvolvimento dos nódulos, e em solos férteis o nitrato pode atingir facilmente o nível em que tais efeitos

¹ Recebido 27 jun. 1969, aceito 11 jul. 1969.

Este trabalho foi conduzido como um projeto da Aliança para o Progresso sob o contrato USAID/IRI no Brasil, em colaboração com o Instituto Agrônomo de Campinas.

² Bacteriologista de leguminosas da CSIRO, Divisão de Pastagens Tropicais, Brisbane, Queensland, Austrália. Trabalhou no Brasil sob contrato com o Instituto de Pesquisas IRI, de janeiro de 1964 a fevereiro de 1965.

³ Eng.º Agrônomo da Seção de Fertilidade do Solo do Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo.

⁴ Microbiologista encarregado de Investigações de Soja, Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Beltsville, Maryland, EUA, Microbiologista do Instituto de Pesquisas IRI/USAID no Brasil de setembro de 1964 a dezembro de 1966.

se produzem. Entretanto, é provavelmente da maior importância o efeito secundário dos nitratos sobre o rendimento das plantas. Num ensaio com estirpes de *Rhizobium*, o íon nitrato, se elevado, leva todos os tratamentos, inclusive as parcelas testemunhas, não inoculadas, a se desenvolverem normalmente, de modo que as diferenças de rendimento devidas aos inoculantes de qualidade superior são extremamente difíceis de se demonstrarem.

O problema da interferência do nitrato do solo pode ser abordado de diversas maneiras. Uma delas consiste na incorporação de matéria orgânica, rica em carbono, às camadas superficiais do solo. O material incorporado age como fonte de energia para a microflora do solo que, então, absorve o excesso de nitrato.

O problema relativo à nodulação em solo ácido, por *Rhizobium* de crescimento rápido e produtor de ácido, tem sido frequentemente superado pela aplicação de "pelleting" (traduzido por peletização) com calcário (Brockwell 1963). Tem sido possível, por meio de peletização com calcário, obter-se nodulação adequada sem que seja necessária a calagem do solo.

A fim de se estudarem esses aspectos foram instalados no Estado de São Paulo, no verão de 64/65, dois experimentos de campo sobre inoculação de leguminosas. Ambos os experimentos foram planejados de modo idêntico, sendo, porém, instalados em solos de tipos contrastantes. Os objetivos desses experimentos foram:

a) comparar a nodulação e o rendimento de quatro leguminosas semeadas em solo com e sem incorporação de matéria orgânica imobilizadora de nitrato;

b) demonstrar a possível vantagem, para a região, resultante da inoculação das quatro leguminosas seguintes: *Glycine javanica*, *Teramnus uncinatus*, *Medicago sativa* e *Phaseolus vulgaris*; as duas primeiras espécies são leguminosas tropicais não especializadas no que diz respeito à bactéria simbiote; as espécies restantes são leguminosas especializadas, adaptadas a solos neutros ou alcalinos, com alta especificidade no que diz respeito a *Rhizobium*;

c) comparar, para cada leguminosa, o desempenho em condições de campo de quatro estirpes de *Rhizobium*;

d) comparar, em cada leguminosa e estirpe de *Rhizobium*, o efeito da inoculação normal e da pré-inoculação por meio da peletização.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição dos locais e dos solos utilizados

Um dos experimentos foi instalado na Estação Experimental "Theodureto de Camargo", anexa ao Ins-

tituto Agrônomo de Campinas, e o outro no Centro de Nutrição Animal e Pastagens, Nova Odessa, aproximadamente a 35 km de distância. Os locais serão respectivamente designados como experimentos de Campinas e de Nova Odessa.

No local utilizado em Campinas o solo é do Latosol roxo, da série Chapadão, que é um solo de coloração vermelho friável, derivado de basalto, conhecido como terra roxa (Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas 1960). O pH deste solo, no local do experimento, foi de 5,25. No verão anterior fora usado para plantio de milho e de amendoim e, antes de se iniciar o experimento, o solo estava coberto por rala vegetação de gramíneas e outras ervas daninhas, havendo também algumas plantas bem noduladas de leguminosas do gênero *Zornia*.

O solo usado em Nova Odessa era um Podzólico vermelho-amarelo, var. Laras, derivado de arenito, com pH médio de 5,0, o qual denotava certa tendência para criar uma crosta após a incidência de chuvas (Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas 1960). Este solo não havia sido cultivado por muitos anos, apresentando-se coberto por densa vegetação de gramíneas e outras ervas daninhas, havendo muitas leguminosas nativas noduladas, entre elas espécies de *Zornia*, *Stylosanthes*, *Desmodium* e *Crotalaria*. Ambos os locais apresentavam pequena declividade.

Dados pluviométricos e de temperatura

O Quadro 1, mostra as médias mensais de temperatura e chuvas para Campinas e Nova Odessa. Essa região é uma zona de chuvas de verão. O período

QUADRO 1. Média mensal de temperatura (9:00 h) e precipitação nos locais dos dois experimentos

Mês	Campinas				Nova Odessa	
	1964		1965		1964	1965
	Temperatura	Precipitação	Temperatura	Precipitação	Precipitação	Precipitação
	°C	mm	°C	mm	mm	mm
Jan	22,9	118,7	21,6	281,2	111,4	582,5
Fev	22,1	348,5	22,2	324,3	200,0	434,5
Mar	22,8	35,8	20,6	163,8	13,7	308,4
Abr	22,3	23,3	21,1	70,1	23,4	100,8
Mai	18,0	85,4	18,2	71,7	139,3	178,7
Jun	16,5	35,0	18,4	31,4	38,8	25,1
Jul	15,8	60,8	17,5	61,4	64,0	97,4
Ago	19,5	15,5	19,2	7,8	50,9	9,0
Set	21,2	70,5	22,5	70,2	113,6	126,8
Out	20,0	188,4	21,2	192,9	534,7	307,2
Nov	21,1	64,2	22,2	147,5	135,7	80,3
Dez	21,5	380,4	22,7	239,9	1.074,4	286,4
Total		1.435,9		1.692,2	2.499,9	2.536,9

de instalação e de desenvolvimento destes experimentos (outubro-janeiro) caracterizou-se pela incidência de fortes chuvas que freqüentemente interromperam o manejo dos experimentos e introduziram o problema da erosão do solo. O problema da erosão superficial foi resolvido pela construção de cordões de contorno entre as unidades experimentais com o sem incorporação de matéria orgânica, mas dentro de cada faixa não foi possível colocar obstáculo entre as parcelas. Muitas vezes houve escoamento da água sobre a superfície do solo, tendo havido ampla oportunidade de contaminação de *Rhizobium* de uma parcela para outra, em sentido lateral.

Durante os experimentos as plantas não foram injuriadas por deficiência de umidade. As chuvas foram excessivas mas, devido à declividade do terreno, não houve acúmulo de água.

Espécies de leguminosas e estirpes de *Rhizobium* testadas

Glycine javanica (soja perene) é uma leguminosa perene, rasteira, natural de regiões da África e da Malásia. No Brasil, tem-se revelado como uma leguminosa altamente promissora para pastagens. A variedade (sem denominação especial) usada neste experimento foi introduzida pelo Dr. N. A. Neme, da Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico, em Campinas. Na Austrália (Norris, não publicado), essa leguminosa revelou-se relativamente especializada quanto à estirpe de *Rhizobium*, embora a bactéria associada seja do tipo "cowpea", de crescimento lento.

Teramnus uncinatus é também uma leguminosa perene, rasteira, nativa do Brasil e com potencialidade para uso em pastagens. É também associada com *Rhizobium* do tipo "cowpea", porém altamente promiscua, tanto assim que pode ser utilizada como planta indicadora para confirmar a identificação de *Rhizobium* do tipo "cowpea" (Norris, não publicado). A semente utilizada proveio da coleção de leguminosas da Estação Experimental do Instituto de Pesquisas IRI (n.º 1286), Matão, São Paulo.

As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*), da variedade Rosinha, foram fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas.

As sementes de alfafa (*Medicago sativa*), da variedade Piedmont, foram adquiridas no comércio.

O Quadro 2 mostra as estirpes de *Rhizobium* testadas.

Cada uma das estirpes utilizadas mostrou-se eficiente para as respectivas leguminosas quando testadas pela técnica dos vasos de Leonard.

QUADRO 2. Estirpes de *Rhizobium* usados nos experimentos de campo

Espécie da Leguminosa	Estirpes de <i>Rhizobium</i>		Origem das estirpes
	N.º mencionado no texto	N.º de identificação	
<i>Glycine javanica</i>	1	SFS 343	<i>G. javanica</i> , Campinas 1964
	2	SFS 348	<i>G. javanica</i> , Campinas 1964
	3	CB 453	<i>G. javanica</i> , Austrália
	4	CB 627	<i>Desmodium intortum</i> , Congo Belga
<i>Teramnus uncinatus</i>	1	SFS 61	<i>Teramnus solubilis</i> , Campinas 1964
	2	SFS 63	<i>T. uncinatus</i> , Campinas 1964
	3	CB 453	<i>G. javanica</i> , Austrália
	4	CB 756	<i>Dolichos africanus</i> , Rhodésia
<i>Medicago sativa</i>	1	SFS 150	= U.S.D.A. 3DO a 10, recebida 1950
	2	SFS 156	<i>M. sativa</i> , Campinas 1954
	3	SFS 157	<i>M. sativa</i> , Campinas 1955
	4	SFS 215	= Rothamsted AH ₂
<i>Phaseolus vulgaris</i>	1	SFS 132	= Wisconsin 403 recebida 1952
	2	SFS 40B	<i>P. vulgaris</i> , Campinas 1964
	3	SFS 40C	<i>P. vulgaris</i> , Campinas 1964
	4	SFS 40D	<i>P. vulgaris</i> , Campinas 1964

No caso de três das espécies de leguminosas sabia-se, com base em criteriosos testes feitos na Austrália, que algumas das estirpes utilizadas (CB453 em *Glycine javanica*, CB756 em *Teramnus uncinatus* e Rothamsted AH₂ em *Medicago sativa*) eram altamente eficientes.

Delineamento do experimento

O delineamento experimental para cada leguminosa estudada foi idêntico em ambos os locais. Foi usado o delineamento de parcelas subdivididas (split split-plot), com quatro repetições. Havia oito parcelas distribuídas ao acaso, sendo quatro sem incorporação e quatro com incorporação de matéria orgânica deficiente em nitrogênio.

Cada parcela tinha 3,5 m de largura e 34 m de comprimento, estando dividida em doze subparcelas. Cada subparcela compreendia quatro fileiras de plantas, com 2 m de comprimento e espaçamento de 0,60 m, e estava separada uma da outra por um intervalo de 1 m. Cada três subparcelas adjacentes formaram uma subparcela correspondente às estirpes de *Rhizobium*. Cada estirpe de *Rhizobium* aparecia, portanto, uma vez em cada parcela correspondente ao tratamento de incorporação. Cada uma das três subparcelas correspondentes ao tratamento de estirpes de *Rhizobium* recebeu diferente tipo de inoculação. Uma delas foi deixada como testemunha, não tendo sido inoculada; em outra foi feita a inoculação normal das sementes, através de inoculante

turfoso, usando-se uma solução de sacarose a 10% como adesivo: na restante, a inoculação foi feita através de peletização com calcário, tendo-se para isso usado uma solução de goma arábica a 45% (pêso-volume). As três subsubparcelas do tratamento de inoculação foram casualizadas dentro do tratamento de estirpes de *Rhizobium*. Os tratamentos de estirpes de *Rhizobium*, formados por três subsubparcelas adjacentes foram casualizados dentro do tratamento correspondente à incorporação de matéria orgânica. Dessa maneira, para a área experimental de cada leguminosa apareceria um total de 32 subsubparcelas não inoculadas (testemunhas) sendo que 16 dessas receberam o tratamento de incorporação de matéria orgânica e 16 não receberam tal tratamento, permitindo pronta observação da ocorrência de nodulação natural bem como incidência de contaminações cruzadas com as estirpes empregadas, e possibilitando observar variações de solo ou outros fatores.

As parcelas foram dispostas de tal forma que a maior dimensão das mesmas era paralela aos cordões de contorno, a fim de se diminuir os efeitos da erosão. Em Campinas, a distância entre os cordões de contorno permitiu que as oito parcelas permanecessem uma ao lado da outra, mas em Nova Odessa as parcelas ficaram separadas em dois grupos de quatro parcelas.

Por conveniência, os tratamentos correspondentes a Incorporação de Matéria Orgânica serão referidos como "Com Incorporação" e "Sem Incorporação", e os tratamentos de inoculação como "Testemunha", "Inoculação Normal" e "Peletização".

Adubação

Após a aração e a gradagem, fêz-se aplicação de adubos a lanço, misturando-os em seguida ao solo por meio de grade de discos. Não se aplicou calcário, visto que um dos objetivos do experimento consistia em observar o efeito da peletização com calcário. A adubação básica aplicada em ambos os locais consistiu em:

superfosfato simples	250 kg/ha;
cloreto de potássio	40 kg/ha;
sulfato de magnésio	20 kg/ha.

Em Nova Odessa também foi incluída a aplicação de 0,5 kg/ha de molibdato de sódio, devido a um caso de resposta à aplicação de molibdênio verificado anteriormente nesse tipo de solo.

Em Campinas, a adubação foi feita em 24 de agosto de 1964, 60 dias antes do plantio, e em Nova Odessa, a 8 de setembro do mesmo ano, 57 dias antes do plantio.

No caso de *Medicago*, *Teramnus* e *Glycine*, em Nova Odessa, fêz-se uma adubação suplementar, em cobertura, da mesma quantidade, aos 88, 90 e 86 dias após o plantio, respectivamente.

Incorporação de matéria orgânica

Bagacilho de cana-de-açúcar, consistindo em pedaços de fibras curtas rejeitadas por fábrica de papel, foi o material utilizado na incorporação. O plano original previa a utilização desse material em cobertura, em camadas de 5 cm de espessura, porém verificou-se que o material seria facilmente removido pelo vento. O material foi então disposto da maneira mais uniforme possível em camada de 5 cm sobre superfície bem nivelada, e incorporado à profundidade de 15 cm por meio de uma enxada rotativa.

A incorporação do bagacilho foi feita logo após a adubação.

Em Campinas, o trabalho de incorporação iniciou-se em 28 de agosto de 1964, mas não pôde ser completado, devido ao vento excessivo, até 8 de setembro. Em Nova Odessa, a incorporação foi efetuada entre 14 e 16 de setembro de 1964. Não ocorreram chuvas significantes até 24 de setembro. Portanto, condições de umidade do solo adequadas para decomposição ativa do bagacilho prevaleceram, em Campinas, durante 29 dias antes que se iniciasse o plantio e, em Nova Odessa, durante 41 dias.

Preparação dos inoculantes e inoculação das sementes

As estirpes de *Rhizobium* para a inoculação da turfa foram cultivadas em meio de manitol e extrato de levedura, em frascos tapados com algodão a 27°C, sem aeração forçada, durante um período de 10 a 15 dias, dependendo da estirpe. Misturou-se o cultivo à turfa autoclavada na proporção de 1 ml de cultivo para cada 2 g de turfa.

A turfa era procedente de inoculantes comerciais com data vencida. Não havia, na oportunidade, condições para se verificar o número de bactérias dos cultivos, mas todas ficaram densamente turvas na época de utilização, quando foi feito o teste de Gram para verificação de ausência de contaminação.

Após vários dias de maturação à temperatura ambiente, a turfa inoculada foi conservada em geladeira e usada dentro de um mês após sua preparação.

A inoculação foi feita nas doses padrões recomendadas comercialmente na Austrália, sendo que *Medicago sativa* e *Glycine javanica* receberam 1 g de turfa para cada 100 g de sementes. Para *Teramnus uncinatus*, foi adicionado 1 g de turfa para 200 g de

sementes, e para *Phaseolus vulgaris*, 1 g de turfa para 400 g de sementes.

A inoculação normal foi feita umedecendo-se as sementes com solução de sacarose a 10% adicionando a turfa que foi homogeneamente misturada, e colocando-as a secar sobre papel em condições ambientais.

Os péletes foram preparados com solução de goma-arábica a 45%. A essa solução foram adicionados o inoculante (turfa) e as sementes, usando-se 1 ml de adesivo para 10 g de sementes de *Teramnus*, *Glycine* e *Medicago*, e 1 ml por 20 g de sementes de *Phaseolus*. Após as sementes terem sido uniformemente tratadas com o inoculante e adesivo, fêz-se a adição de calcário finamente moído na proporção de 60% do peso das sementes, misturando-o com um bastão cilíndrico. As sementes revestidas foram secadas sobre papel durante 24 horas, colocadas em saquinhos de papel e mantidas à temperatura ambiente até o plantio.

Para o tratamento de inoculação comum tentou-se proceder à inoculação 24 horas antes do plantio, mantendo-se as sementes inoculadas em refrigerador durante a noite. Isso foi possível para todos os plantios efetuados em Campinas, mas, em Nova Odessa, o programa de plantio foi interrompido por fortes e repetidas chuvas. As sementes foram inoculadas pela primeira vez em 28 de outubro de 1964, mas não foi possível plantá-las. Foram então reinoculadas a 3 de novembro seguinte, mas apenas as sementes de *Phaseolus* foram plantadas. As restantes precisaram ser conservadas durante três, seis e sete dias (*Glycine*, *Medicago* e *Teramnus*, respectivamente).

Antes do plantio as sementes com péletes de calcário foram mantidas em condições ambientais durante períodos diversos, como vemos a seguir:

	Campinas	Nova Odessa
<i>Glycine</i>	2 dias	9 dias
<i>Teramnus</i>	6 dias	15 dias
<i>Medicago</i>	3 dias	12 dias
<i>Phaseolus</i>	6 dias	7 dias

Plantio

Em cada fileira de 2 m foram plantadas as seguintes quantidades de sementes (escarificadas apenas no caso de *Glycine*): 4 g de *Glycine*, 4 g de *Teramnus*, 1,5 g de *Medicago*, 15 g de *Phaseolus*. O plantio foi feito nas seguintes datas, durante o ano de 1964:

	Campinas	Nova Odessa
<i>Glycine</i>	23/10	6/11
<i>Teramnus</i>	27/10	10/11
<i>Medicago</i>	23/10	9/11
<i>Phaseolus</i>	27/10	4/11

Sulcos de 3 a 5 cm de profundidade foram abertos com uma enxadinha, sendo as sementes uniformemente distribuídas a mão e cobertas imediatamente com um ancínho. As sementeas foram feitas em solo úmido. Para cada espécie, as parcelas não inoculadas foram semeadas primeiro e depois tôdas as parcelas que continham a mesma estirpe de bactérias. Antes de se proceder ao plantio com bactéria de outra estirpe, esterilizaram-se com álcool as mãos e o ancínho usado para cobrir as sementes.

Amostragem para determinação de nitrato do solo

Com um trado, foram retiradas semanalmente amostras de 20 cm de espessura da superfície do solo. Foram retiradas seis amostras, igualmente espaçadas, de cada faixa com e sem incorporação de matéria orgânica. Estas foram colocadas em um recipiente grande para obtenção de uma amostra composta. As amostras foram secadas à temperatura de 60°C e armazenadas em saquinhos de polietileno até o momento da análise.

Os resultados foram expressos em ppm de N. Era nossa intenção proceder a estimativas semanais do nitrato do solo, a partir da ocasião em que foi aplicada a cobertura morta, mas tal não pôde ser providenciado a tempo. A primeira análise relativa ao experimento de Campinas foi feita a 6 de novembro de 1964, 59 dias após o término da incorporação da matéria orgânica, sendo efetuada em Nova Odessa a 9 de novembro do mesmo ano, 54 dias após a incorporação.

Amostragem para determinação da nodulação

Dez plantas das duas fileiras externas de cada subsubparcela foram colhidas ao acaso, sendo sacudidas cuidadosamente para se remover o solo das raízes, que foram então destacadas e levadas para o laboratório para lavagem e contagem de nódulos. A amostragem para verificação dos nódulos foi feita nas seguintes datas:

	Campinas	Nova Odessa
<i>Glycine</i>	1/1/65 - 74 dias	7/1/65 - 62 dias
<i>Teramnus</i>	12/1/65 - 77 dias	1/2/65 - 83 dias
<i>Medicago</i>	falhou	21/1/65 - 61 dias
<i>Phaseolus</i>	21/12/64 - 55 dias	22/12/64 - 48 dias

Colheita

Procedeu-se à colheita dos 1,60 m centrais das duas fileiras internas de cada subsubparcela de cada espécie, deixando-se uma bordadura de 0,20 m em cada extremo delas. As plantas de *Phaseolus*, depois de colhidas, foram espalhadas em um galpão para seca-

rem sendo então determinada a produção de sementes. As plantas de *Medicago*, *Teramnus* e *Glycine* foram cortadas rente ao chão, sendo determinado no campo o peso verde do material vegetativo. Tiraram-se subamostras de cada parcela a fim de se determinar a umidade, juntando-se doze subamostras de cada faixa com e sem incorporação de matéria orgânica. O peso seco da produção de cada tratamento foi calculado.

A determinação da produção de *Medicago* foi simples, mas a produção de *Glycine* e *Teramnus* foi determinada com dificuldade em virtude da natureza rasteira e alastradora dessas leguminosas. Em vista disso, decidiu-se efetuar o corte do meio das fileiras, admitindo-se que a mútua invasão das fileiras era compensatória.

As colheitas foram feitas nas seguintes datas:

	Campinas	Nova Odessa
<i>Glycine</i>	16/2/65 - 116 dias	15/3/65 - 129 dias
<i>Teramnus</i>	15/2/65 - 111 dias	8/3/65 - 118 dias
<i>Medicago</i>	falhou	25/2/65 - 108 dias
<i>Phaseolus</i>	26/1/65 - 91 dias	25/1/65 - 82 dias

Exame estatístico dos dados

No Instituto Agrônomo de Campinas foi feita uma análise da variância dos dados originais referentes à *Medicago sativa* e a *Phaseolus vulgaris*. Mais tarde, todos os dados obtidos para todas as espécies foram novamente examinados detalhadamente em Brisbane, Austrália, usando-se transformações adequadas, sendo então programados para um computador.

Faltaram dois valores nos dados obtidos para *Phaseolus vulgaris* e um no caso da *Medicago sativa*. Tais valores foram calculados por uma técnica de covariância, de acordo com Anderson (1946). Os valores calculados foram aqueles que tornaram mínimo o erro das subparcelas (Erro C). Para certas combinações de tratamento não se esperava diferença. São elas as combinações entre os tratamentos sem inoculação (testemunha) e as estirpes 1, 2, 3 e 4. Ao comparar as estirpes ou ao calcular qualquer interação envolvendo as estirpes, esses tratamentos foram omitidos deliberadamente, a fim de se obter uma análise de variância correta.

Os dados originais foram analisados para determinação da produção de sementes de *Phaseolus vulgaris*, do número de nódulos por planta de *Glycine javanica* plantada em Campinas, do número de nódulos por planta e produção de matéria seca de *Glycine* plantada em Nova Odessa, do número de nódulos por planta e produção de matéria seca de *Teramnus* plantada em Nova Odessa, e do número

de nódulos por planta de *Teramnus* plantada em Campinas. Os conjuntos de dados restantes foram examinados após sua transformação, como vemos a seguir:

Transformação logarítmica:

Medicago sativa, produção de matéria seca
Medicago sativa, número de nódulos por planta
Phaseolus vulgaris, número de nódulos por planta
Glycine javanica, produção de matéria seca, Campinas
Teramnus uncinatus, produção de matéria seca, Campinas

Transformação arco-de-seno:

Medicago sativa, número de plantas noduladas
Phaseolus vulgaris, número de plantas noduladas
Glycine javanica, número de plantas noduladas

Além disso, no caso de *Medicago sativa*, e de *Phaseolus vulgaris*, havia conjuntos de dados nos quais a disparidade dos valores entre os tratamentos de inoculação era tão grande que se achou aconselhável comparar separadamente a inoculação normal com o tratamento testemunha e a inoculação com péletes com o tratamento testemunha. Tal foi feito com o número de plantas noduladas de *Medicago sativa*, e com o número de nódulos por planta de *Phaseolus vulgaris* no experimento de Campinas.

No Quadro 15 damos um resumo das diferenças significativas reveladas pelas análises feitas.

RESULTADOS

Efeitos da incorporação da matéria orgânica

Sobre nitratos do solo. Os teores de nitrato do solo são apresentados no Quadro 3.

QUADRO 3. Teores médios de nitrato do solo nos tratamentos com e sem incorporação de matéria orgânica, em diferentes épocas

Data da amostragem	No. de dias após a incorporação	Número de amostras	ppm de nitratos	
			Solo com incorporação	Solo sem incorporação
Campinas				
6/11/64	59	72 amostras de 3 espécies	0,72	1,76
12/11/64	65	96 amostras de 4 espécies	0,69	4,79
18/11/64	71	96 amostras de 4 espécies	0,89	6,32
25/11/64	78	92 amostras de 4 espécies	0,83	4,36
Nova Odessa				
9/11/64	54	48 amostras de 2 espécies	0,44	8,76
17/11/64	62	96 amostras de 4 espécies	0,62	5,06
9/12/64	84	96 amostras de 4 espécies	0,83	4,50

A incorporação de matéria orgânica baixou consideravelmente o nível de nitratos do solo e tal efeito ainda se fez sentir na última amostragem, 76 dias depois que predominaram as condições de umidade apropriadas para decomposição. Os níveis de nitratos registrados no solo em que não houve incorporação foram baixos em tôdas as amostragens, tendo sido o nível mais alto, 14,4 ppm de N, registrados em Nova Odessa, em 9 de novembro de 1964. Estes valores não são suficientemente altos para reduzirem significativamente a nodulação (Valera & Alexander 1965).

É quase certo que a nitrificação máxima verificada nestes solos registrou-se algum tempo antes que se pudessem fazer as primeiras análises. Decorreram 43 dias em Campinas e 46 em Nova Odessa entre as primeiras chuvas e a data da primeira amostragem. A curva de nitrificação de um solo tropical, conforme demonstrado em estudos de Greenland (1958), indica uma rápida elevação dos níveis de nitratos duas semanas após a primeira chuva, seguindo-se um rápido retôrno aos níveis mais baixos com a ocorrência da lixiviação, de modo que um mês depois não mais se verificam níveis desusadamente altos. A observação do crescimento de ervas daninhas nas parcelas de Nova Odessa, antes do plantio, indicou que êsse tipo de curva foi observado nesse local. Após as chuvas as ervas cresceram vigorosamente, apresentando coloração verde escura, nas faixas sem incorporação de material orgânico, sendo necessário o cultivo mecânico aos 25 e novamente aos 34 dias. Ao mesmo tempo, as faixas com incorporação apresentavam um contraste espetacular. À primeira vista pareciam estar livres de ervas daninhas mas um exame minucioso demonstrou que continham tantas ervas quanto nas faixas sem incorporação, porém essas eram pouco desenvolvidas e cloróticas.

Sobre o aspecto das parcelas. Até certo ponto, como esperado, foi também observado o efeito da incorporação de matéria orgânica sobre o crescimento das espécies plantadas. Dado seu rápido crescimento, o *Phaseolus vulgaris* foi a leguminosa que mais claramente revelou êsse efeito. Em Campinas, era nítida a diferença quanto à côr e ao vigor do crescimento entre os canteiros com e sem incorporação quando as plantas estavam na fase trifoliada, intensificando-se a diferença de côr nas duas semanas seguintes. Aos 32 dias, tôdas as subparcelas dos canteiros sem incorporação tinham o mesmo aspecto, não se distinguindo uma das outras, mas as subparcelas dos canteiros com incorporação, contendo as estirpes de *Rhizobium* 2 e 3 com péletes de calcário, podiam ser distinguidas por sua côr verde escuro e maior

vigor. Posteriormente verificou-se que estas eram as únicas subparcelas que apresentavam nodulação. Por ocasião da colheita, as diferenças de côr entre as parcelas e dentro delas tinham diminuído consideravelmente. No caso de *Medicago sativa*, que estabeleceu somente em Nova Odessa, diferenças de côres entre parcelas com e sem incorporação puderam ser apreciadas aos 30 dias, após o plantio. Aos 35 dias tôdas as subparcelas com peletização se destacavam, nas parcelas com incorporação, pela coloração verde intensa das plantas. Subseqüentemente foi observado que somente os tratamentos com peletização apresentavam boa nodulação. Por ocasião da colheita as diferenças de côres haviam desaparecido.

Em Campinas, foram observadas aos 20 dias diferenças visíveis de côr e vigor das plantas de *Glycine javanica* com e sem incorporação de matéria orgânica. Essas diferenças ainda eram perceptíveis aos 67 dias, quando se processava intensivo alastramento. Não foi possível, em nenhuma ocasião, detectar diferença entre as subparcelas de uma mesma parcela. Esse comportamento foi semelhante em Nova Odessa, onde não se observou diferenças constantes entre as subparcelas de uma mesma parcela. Aos 50 dias, pareceu haver ligeira superioridade de algumas subparcelas com tratamento de peletização, mas essa superioridade desapareceu após a adubação em cobertura.

Para *Teramnus uncinatus*, tanto em Campinas como em Nova Odessa, foi observada apenas pequena diferença de côr entre plantas das parcelas com e sem incorporação de matéria orgânica, mas essa diferença era perceptível aos 21 dias após o plantio e ainda aos 64 dias, quando se processava um alastramento intensivo. Em nenhuma ocasião foram observadas diferenças entre subparcelas de uma mesma parcela.

QUADRO 4. *Medicago sativa*, Nova Odessa. Número de plantas noduladas, em cada 10 plantas observadas. Média de quatro repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Com incorporação de matéria orgânica	1	0,00	0,00	7,25
	2	0,00	0,00	8,75
	3	0,25	0,75	7,00
	4	0,00	0,25	8,00
	Média	0,06	0,25	7,75
Sem incorporação de matéria orgânica	1	0,00	0,50	8,75
	2	0,00	0,75	7,50
	3	0,00	1,00	8,00
	4	1,00	0,75	9,50
	Média	0,25	0,75	8,44

QUADRO 5. *Phaseolus vulgaris*. Número de plantas noduladas, em cada 10 observadas, nos dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	1,50	3,75	8,50
	2	2,50	5,00	9,50
	3	3,25	4,50	8,75
	4	3,25	3,75	9,50
	Média	2,63	4,25	9,06
Sem incorporação de matéria orgânica	1	1,25	0,00	5,50
	2	0,25	2,00	9,75
	3	0,25	2,00	9,50
	4	0,00	0,00	9,50
	Média	0,44	0,50	8,56
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	1,50	1,75	1,75
	2	0,25	0,50	9,50
	3	2,00	1,75	8,00
	4	0,25	1,00	3,50
	Média	1,00	1,25	5,69
Sem incorporação de matéria orgânica	1	0,50	0,00	1,00
	2	0,33	1,50	9,00
	3	0,75	0,50	9,50
	4	0,00	0,25	3,33*
	Média	0,40	0,56	5,71

* Contém um valor estimado.

QUADRO 6. *Glycine javanica*. Número de plantas noduladas, em cada 10 observadas, nos dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	9,75	9,25	9,75
	2	9,25	10,00	9,75
	3	10,00	9,00	9,25
	4	10,00	9,50	10,00
	Média	9,75	9,44	9,69
Sem incorporação de matéria orgânica	1	9,25	9,75	9,75
	2	9,00	9,00	8,25
	3	9,25	8,50	9,00
	4	8,50	9,25	9,25
	Média	8,25	9,13	9,06
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	9,50	9,25	9,75
	2	10,00	10,00	9,50
	3	9,50	9,50	9,50
	4	9,75	9,75	10,00
	Média	9,69	9,63	9,69
Sem incorporação de matéria orgânica	1	9,25	9,75	10,00
	2	9,00	9,25	9,25
	3	9,25	9,75	9,00
	4	8,50	10,00	8,75
	Média	9,00	9,69	9,25

Sobre a nodulação. Os Quadros 4, 5 e 6 apresentam o número de plantas noduladas em cada dez que foram examinadas. Todas as plantas de *Teramnus nodularum* e, portanto, os dados não foram tabulados. Os números de nódulos por planta estão apresentados nos Quadros 7, 8, 9 e 10.

QUADRO 7. *Medicago sativa*, Nova Odessa. Número de nódulos por planta. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Com incorporação de matéria orgânica	1	0,00	0,00	2,03
	2	0,00	0,00	2,53
	3	0,02	0,15	2,78
	4	0,00	0,03	2,20
	Média	0,01	0,04	2,38
Sem incorporação de matéria orgânica	1	0,00	0,08	3,25
	2	0,00	0,10	3,60
	3	0,00	0,16	3,73
	4	0,33	0,33	4,15
	Média	0,09	0,16	3,76

QUADRO 8. *Phaseolus vulgaris*. Número de nódulos por plantas para os dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	0,58	0,65	10,70
	2	0,93	1,00	37,90
	3	1,23	1,88	36,80
	4	0,75	0,65	25,23
	Média	0,83	1,04	27,66
Sem incorporação de matéria orgânica	1	0,20	0,00	5,10
	2	0,05	0,95	25,59
	3	0,02	0,43	21,78
	4	0,00	0,00	12,95
	Média	0,08	0,34	16,35
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	0,43	0,75	0,50
	2	0,03	0,08	22,53
	3	0,23	0,35	23,25
	4	0,03	0,13	3,10
	Média	0,18	0,34	12,34
Sem incorporação de matéria orgânica	1	0,10	0,00	0,53
	2	0,00	0,08	13,69
	3	0,13	1,70	17,63
	4	0,00	1,10	4,00*
	Média	0,09	0,62	8,96

* Contém um valor estimado.

QUADRO 9. *Glycine javanica*. Número de nódulos por planta para os dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	4,85	5,75	8,45
	2	4,33	6,20	6,65
	3	6,98	5,58	5,13
	4	6,95	4,70	7,45
	Média	5,53	5,56	6,92
Sem incorporação de matéria orgânica	1	2,03	5,40	5,93
	2	3,73	3,40	4,45
	3	4,15	3,90	3,70
	4	4,90	3,08	4,13
	Média	3,68	3,92	4,55
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	6,50	5,85	5,60
	2	5,48	6,15	4,58
	3	6,90	5,53	5,33
	4	4,53	5,18	6,03
	Média	5,85	5,68	5,38
Sem incorporação de matéria orgânica	1	4,10	4,45	4,65
	2	4,08	4,25	4,80
	3	4,08	4,60	6,13
	4	4,25	7,33	5,05
	Média	4,13	5,16	5,16

QUADRO 10. *Teramnus uncinatus*. Número de nódulos por planta para os dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	31,05	27,78	30,10
	2	24,33	30,80	33,93
	3	32,78	40,08	26,80
	4	28,00	27,25	33,23
	Média	29,04	31,65	31,01
Sem incorporação de matéria orgânica	1	24,23	26,33	27,45
	2	25,65	28,95	26,23
	3	28,13	35,53	33,80
	4	20,33	25,18	29,28
	Média	24,58	28,99	29,19
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	26,75	32,53	28,26
	2	28,43	29,95	39,30
	3	29,10	27,85	29,83
	4	32,18	38,00	30,23
	Média	29,11	32,11	31,90
Sem incorporação de matéria orgânica	1	28,28	26,10	26,60
	2	23,93	32,78	31,28
	3	34,28	30,10	29,05
	4	32,00	30,60	32,28
	Média	29,62	29,89	29,80

Em Nova Odessa, o experimento com *Medicago sativa* mostrou uma tendência constante de ocorrerem mais plantas noduladas e maior número de nódulos por planta no tratamento sem incorporação de

matéria orgânica do que naquele em que se fizera aplicação desse material. Tal tendência não atingiu um nível de significância quanto ao número de plantas noduladas, mas foi significativo (ao nível de 1%) com respeito ao número de nódulos por planta no tratamento em que se fez a peletização. No caso da inoculação normal, houve uma interação significativa de estirpes x incorporação. A estirpe 4 sobressaiu-se nas parcelas sem incorporação, sem destacar-se nas parcelas com incorporação.

Phaseolus vulgaris mostrou uma tendência completamente oposta, tanto em Campinas como em Nova Odessa, apresentando maior número de plantas noduladas e maior número de nódulos por planta no tratamento com incorporação de que no tratamento sem incorporação de matéria orgânica. Essa tendência não atingiu o nível de significância de 5% em Nova Odessa, mas os efeitos foram significativos em Campinas. Quanto ao número de plantas noduladas houve superioridade (significativa a 5%) da incorporação e interação (a 1%) da cobertura morta x inoculação. O processo de inoculação normal resultou em um maior número de plantas noduladas do que no tratamento testemunha no caso das parcelas com incorporação, mas não nas parcelas sem incorporação. Observou-se também uma interação significativa (5%) entre incorporação, estirpe e inoculação. As estirpes 1 e 4 no tratamento de peletização apresentaram um menor número de plantas noduladas do que as demais estirpes nas parcelas sem incorporação, mas não nas parcelas com incorporação.

Para número de nódulos por planta, em Campinas, observaram-se diferenças significativas em favor da incorporação de matéria orgânica. Essas diferenças atingiram o nível de 1% para o caso dos tratamentos de inoculação normal e 5% para o tratamento de peletização. Em Nova Odessa as diferenças não foram significativas.

Glycine javanica, como *Phaseolus vulgaris*, também apresentou uma tendência favorável para a incorporação de matéria orgânica tanto com respeito ao número de plantas noduladas como para número de nódulos por planta. Essa tendência foi mais acentuada para número de nódulos por planta do que para plantas noduladas e mais evidente em Campinas do que em Nova Odessa. Entretanto, diferenças significativas foram observadas somente para número de plantas noduladas no experimento conduzido em Nova Odessa.

No caso de *Teramnus uncinatus*, com raras exceções, todas as plantas nodularam. Uma vez mais, como para *Phaseolus* e *Glycine*, foi observada uma tendência para maior número de nódulos por planta

no caso de incorporação, porém as diferenças não foram significativas.

Sumariando, o efeito da incorporação foi o de aumentar a nodulação em *Phaseolus vulgaris*, *Glycine javanica* e *Teramnus uncinatus* e diminuir a nodulação em *Medicago sativa*. Esse efeito foi mais acentuado em Campinas do que em Nova Odessa.

Na produção. As produções de matéria seca de *Medicago sativa*, *Glycine javanica* e *Teramnus uncinatus* são apresentadas nos Quadros 11, 12 e 13. A produção de sementes de *Phaseolus* é apresentada no Quadro 14.

QUADRO 11. *Medicago sativa*, Nova Odessa. Dados de peso seco (g) obtidos da colheita das plantas contidas em 3,2 m da linha de plantio. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Com incorporação de matéria orgânica	1	97,00	144,00	412,75
	2	127,50	127,21	392,00
	3	100,75	130,75	338,50
	4	104,00	144,25	274,50
	Média	107,31	136,53	354,44
Sem incorporação de matéria orgânica	1	271,25	150,75	422,25
	2	177,75	143,00*	244,75
	3	150,75	211,00	254,50
	4	174,25	174,50	388,75
	Média	198,50	169,81	327,58

* Contém um valor estimado.

QUADRO 12. *Glycine javanica*. Dados do peso seco (g) obtidos da colheita das plantas contidas em 3,2 m da linha de plantio, nos dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	535,25	451,75	507,25
	2	399,75	408,75	399,50
	3	535,00	549,25	409,75
	4	508,25	489,75	607,25
	Média	509,06	474,38	405,94
Sem incorporação de matéria orgânica	1	563,00	413,50	340,75
	2	448,25	445,00	410,25
	3	278,00	318,50	215,25
	4	486,50	399,75	399,50
	Média	443,94	393,69	341,44
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	971,75	873,25	996,00
	2	808,00	805,50	865,25
	3	876,25	922,50	962,50
	4	722,75	1058,00	1002,50
	Média	844,69	914,81	961,56
Sem incorporação de matéria orgânica	1	676,25	775,00	790,25
	2	858,00	701,00	830,25
	3	744,25	916,50	939,00
	4	802,75	811,75	765,75
	Média	770,31	801,06	832,56

QUADRO 13. *Teramnus uncinatus*. Dados do peso seco (g) obtidos da colheita das plantas contidas em 3,2 m da linha de plantio, nos dois locais dos experimentos. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	554,75	475,25	703,00
	2	722,50	582,75	765,25
	3	763,25	597,75	574,00
	4	561,25	539,75	625,50
	Média	650,44	548,89	609,94
Sem incorporação de matéria orgânica	1	460,25	820,25	544,00
	2	486,00	440,75	473,00
	3	602,25	479,50	608,25
	4	509,50	399,75	537,50
	Média	529,50	538,56	540,69
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	1034,00	981,75	847,00
	2	992,75	1127,50	1047,75
	3	1034,00	1124,75	1204,50
	4	607,50	1298,00	1155,00
	Média	992,00	1193,00	1063,68
Sem incorporação de matéria orgânica	1	1193,50	1204,50	1196,25
	2	1072,50	124,00	1042,03
	3	1047,75	1105,50	1086,25
	4	1047,75	1056,00	1042,25
	Média	1090,38	1072,50	1091,70

QUADRO 14. *Phaseolus vulgaris*. Produção de sementes (g) obtida da colheita das plantas contidas em 3,2 m da linha de plantio. Média de 4 repetições

Tratamento	Estirpe de <i>Rhizobium</i>	Testemunha	Inoculação comum	Peletização
Campinas				
Com incorporação de matéria orgânica	1	72,50	93,50	72,88
	2	57,88	58,63	59,13
	3	54,50	73,88	85,13
	4	62,50	55,25	53,75
	Média	61,84	70,31	75,22
Sem incorporação de matéria orgânica	1	107,50	104,63	107,13
	2	126,25	112,63	100,00
	3	87,13	91,38	105,50
	4	103,50	110,50	100,13
	Média	106,09	104,78	104,69
Nova Odessa				
Com incorporação de matéria orgânica	1	90,75	124,50	96,33*
	2	112,25	149,00	197,25
	3	121,50	135,00	206,75
	4	130,00	111,00	128,75
	Média	113,63	129,88	157,27
Sem incorporação de matéria orgânica	1	231,50	244,50	214,50
	2	245,25	246,00	254,00
	3	206,75	233,00	228,00
	4	233,75	264,50	238,67*
	Média	229,31	247,00	233,79

* Contém um valor estimado.

Medicago sativa, em Nova Odessa, mostrou uma interação incorporação x inoculação, significativa a 5%. A incorporação fez diminuir a produção nos tratamentos testemunha e inoculação normal, mas aumentou a produção no tratamento de peletização. No tratamento testemunha a diminuição de produção foi significativa a 1%, mas no caso da inoculação normal e peletização os efeitos não alcançaram significância a 5%.

As produções de *Phaseolus* mostraram a mesma tendência em ambos os locais. A incorporação de matéria orgânica fez diminuir a produção total de 52% em Campinas e de 78% em Nova Odessa, sendo que as diferenças foram significativas a 5% em ambos os locais. Além disso, em Nova Odessa foi observada uma interação significativa de incorporação x inoculação. A peletização proporcionou uma maior produção (diferença significativa a 5%) do que o tratamento testemunha e do que a inoculação normal somente no caso da incorporação. Em contraste, a incorporação de matéria orgânica teve um efeito oposto no caso de *Glycine* e *Teramnus*, pois fez aumentar as produções dessas leguminosas em todos os tratamentos. O aumento da produção total do experimento para *Glycine javanica* foi de 25% em Campinas e 13% em Nova Odessa e para *Teramnus uncinatus* de 16% em Campinas e 2% em Nova Odessa. Em nenhum dos casos essas diferenças foram significativas.

Efeitos da peletização com calcário.

Em *Teramnus* não foi observado nenhum efeito de peletização no número de plantas noduladas, no número de nódulos por planta ou na produção, em ambos os locais.

No caso de *Glycine*, certos efeitos foram observados em Campinas mas não em Nova Odessa. O número de plantas noduladas não foi diferente mas o número total de nódulos por planta foi significativamente (5%) maior no tratamento de peletização. Entretanto, essa observação foi complicada pela interação estirpes x inoculação (significativa a 1%), as quatro estirpes de *Rhizobium* comportando-se de formas diferentes.

A inoculação normal da estirpe 1 fez aumentar significativamente (5%) a nodulação, quando comparada com a testemunha; a peletização com a mesma estirpe aumentou significativamente (5%) a nodulação comparada com a inoculação normal. Com a estirpe 2, embora houvesse aumento da nodulação com a inoculação normal e peletização em relação ao tra-

tamento sem inoculação, essas diferenças não foram significativas. Com a estirpe 3, a inoculação fez diminuir o número de nódulos, sendo que o decréscimo foi maior para a peletização. Esses efeitos não foram significativos a 5%. Com a estirpe 4, a inoculação normal fez diminuir significativamente (5%) a nodulação quando comparada com a testemunha, porém a peletização não teve efeito visível.

Paradoxalmente, o aumento total significativo da nodulação devido à peletização, foi acompanhado por uma redução significativa (5%) na produção, efeito esse que foi comum para todas as estirpes de *Rhizobium*, no caso de *Glycine*.

No caso de *Medicago sativa*, a peletização fez a diferença entre o sucesso e o fracasso do estabelecimento da leguminosa. Com a peletização, a maioria das plantas nodularam bem (em média geral 8,09 cada 10 plantas), comparadas com a inoculação normal (média de 0,50) e testemunha (média de 0,16). O número médio de nódulos por planta do tratamento de peletização foi de 3,06, sendo que o da inoculação normal foi de 0,11 e da testemunha foi 0,05. O efeito foi comum para todas as estirpes de *Rhizobium* e refletiu-se na produção da leguminosa, sendo que a peletização proporcionou produções significativamente (0,1%) maiores do que a inoculação normal ou a testemunha sem inoculação.

Em *Phaseolus*, a peletização também propiciou efeitos favoráveis. Entretanto, para número de plantas noduladas os resultados foram complicados em Campinas, devido às interações estirpe x inoculação e incorporação x estirpe x inoculação, significativas a 5%, e em Nova Odessa, devido à interação estirpe x inoculação, também significativa (0,1%).

A inoculação normal mostrou tendência de aumentar o número de plantas noduladas em ambos os locais, porém as diferenças não alcançaram os níveis de significância. Entretanto, a peletização foi significativamente superior (nível de 0,1%) do que a testemunha em ambos os locais. Em Campinas, as estirpes 2, 3 e 4 produziram um maior número de plantas noduladas no tratamento de peletização do que a estirpe 1 (significativa a 5%). A estirpe 1 reagiu diferentemente à peletização nas parcelas sem e com incorporação de matéria orgânica, sendo que a melhor nodulação (diferença significativa de 5%) foi observada nas parcelas com incorporação. Em Nova Odessa, as estirpes 2 e 3 proporcionaram um maior número de plantas noduladas do que as estirpes 1 e 4 (diferença significativa a 0,1%) quando peletizadas, porém essas diferenças não foram observadas com a inoculação comum.

Com respeito a número de nódulos por plantas, a inoculação normal foi significativamente melhor (5%), porém a peletização foi melhor ainda, sendo que a média do número de nódulos por planta para a testemunha sem inoculação foi 0,29, para inoculação normal foi de 0,59 e para peletização foi de 16,32. O comportamento diferente das estirpes de *Rhizobium* também foi acentuado pela peletização. No caso da inoculação normal as estirpes 2 e 3 produziram um maior número de nódulos do que as estirpes 1 e 4, porém as diferenças foram significativas (5%) somente em Campinas. No caso da peletização, entretanto, a superioridade das estirpes 2 e 3 foi evidenciada, sendo que em Campinas as diferenças foram significativas ao nível de 1% e em Nova Odessa ao nível de 0,1%.

Os efeitos da melhoria de nodulação não refletiram na produção de sementes em Campinas, onde não houve diferenças significativas entre testemunhas, inoculação normal e peletização. As razões desse fato são discutidas posteriormente. Em Nova Odessa foi observada uma interação significativa de incorporação x inoculação. A peletização propiciou maiores produções do que a testemunha ou a inoculação normal no caso de incorporação, mas não no caso de não incorporação de matéria orgânica. O Quadro 8 mostra que em Nova Odessa somente as estirpes 2 e 3 produziram um número significativamente maior de nódulos e conseqüentemente poderiam propiciar diferenças na produção. Examinando-se os aumentos de produção devidos à inoculação por todas as estirpes de *Rhizobium*, o aumento provocado pela inoculação com essas estirpes ficaria diluído devido ao efeito negativo das outras estirpes. Uma comparação foi feita, portanto, das produções das estirpes 2 e 3 no caso da incorporação, com a produção dos demais tratamentos onde também houve incorporação. Verificou-se, então, que o aumento de produção propiciado pela inoculação com essas estirpes foi significativo a um nível maior do que 0,1%.

Efeito das estirpes de *Rhizobium*

Nenhum efeito atribuível às estirpes de *Rhizobium* foi evidenciado em *Teramnus uncinatus*.

Em *Glycine javanica* nenhuma das estirpes de *Rhizobium* provocou um aumento do número de plantas noduladas, porém diferenças foram observadas em Campinas com respeito ao número de nódulos por planta. Houve uma interação estirpe x inoculação, significante a 1%. A estirpe 1 produziu maior número de nódulos do que a testemunha sem inoculação tanto no caso de inoculação normal como no caso de peletização (significativo a 5%). As estirpes 2 e 3

não tiveram efeitos, mas a estirpe 4 produziu um menor número de nódulos que a testemunha no caso da inoculação normal, embora o mesmo não tenha sido observado no caso de peletização. Nenhum efeito correspondente foi evidenciado na produção.

No caso de *Medicago sativa* todas as estirpes de *Rhizobium* foram eficientes e no caso da peletização nenhuma diferença foi evidenciada. A inoculação normal propiciou uma nodulação irrisória, porém significativamente (5%) maior do que a testemunha, sendo que o número de nódulos por planta não foi diferente do da testemunha. Nas condições de inoculação normal foi observada uma pequena diferença favorável à estirpe 4. Essa estirpe produziu um número significativamente maior de nódulos (ao nível de 1%), porém somente no caso de não incorporação de matéria orgânica.

A eficiência das quatro estirpes de *Rhizobium* nos tratamentos de peletização foi tão grande que houve uma reversão de efeito negativo na produção causada pela incorporação de matéria orgânica.

Em *Phaseolus vulgaris* foram evidenciadas diferenças na capacidade de produção de nódulos das quatro estirpes de *Rhizobium*. Em Campinas, a estirpe 1 mostrou-se ineficiente com respeito à produção de nódulos. As estirpes 2, 3 e 4 produziram um número significativamente maior (diferenças ao nível de 5%) de plantas noduladas, sendo que no caso das estirpes 2 e 3 a significância se verificou ao nível de 1%. Em Nova Odessa, a ineficiência da estirpe 4 também foi observada. Embora a estirpe 4 não fosse tão ineficiente como a estirpe 1, ambas foram significativamente inferiores às estirpes 2 e 3 (nível de 0,1%).

Os dados para número de nódulos por planta seguem a mesma tendência dos dados para plantas noduladas. Em Campinas, as estirpes 2 e 3 produziram um número significativamente maior de nódulos (ao nível de 5%) do que as estirpes 1 e 4, mesmo no caso de inoculação comum. No caso de peletização, a diferença alcançou a significância de 1%. Em Nova Odessa, os efeitos não foram significantes para a inoculação normal, mas atingiram o nível de 0,1% no caso de peletização. Em suma, as estirpes 2 e 3 se destacaram como boas noduladoras, a estirpe 4 como de fraca nodulação e a estirpe 1 foi a pior delas.

As diferenças não se refletem para os dados de produção, exceto no caso de incorporação de matéria orgânica, em Nova Odessa, como foi mencionado acima, onde se observou que apenas as estirpes 2 e 3 são eficientes.

DISCUSSÃO

Observações gerais

Esses dois experimentos evidenciam as possibilidades de êrros em que se pode incorrer ao concluir-se acerca da nodulação de leguminosas com base em dados experimentais de apenas uma espécie em um local. O Quadro 15 mostra que de quatro espécies de leguminosas plantadas em dois locais com o mesmo delineamento experimental, não menos que sete

QUADRO 15. Resumo do exame estatístico dos dados para os seguintes critérios: 1) número de plantas noduladas em cada 10 observadas; 2) número de nódulos por planta; 3) produções

Espécie	Local	Critério	Efeitos significativos	Nível	
<i>Teramnus uncinatus</i>	Campinas	1	Sem diferença significativa		
		2	Efeito de bloco	5%	
		3	Sem diferença significativa		
	Nova Odessa	1	Sem diferença significativa		
		2	Efeito de bloco	5%	
		3	Sem diferença significativa		
<i>Glycine javanica</i>	Campinas	1	Sem diferença significativa		
		2	Efeito da inoculação	5%	
		3	Interação estirpe x inoculação	1%	
	Nova Odessa	1	Efeito da inoculação	5%	
		2	Sem diferença significativa		
		3	Sem diferença significativa		
<i>Medicago sativa</i>	Campinas	—	Experimento falhou		
	Nova Odessa	1	Efeito da inoculação normal	5%	
			Efeito da peletização	0,1%	
		2	Efeito de estirpe (inoc.normal)	1%	
			Interação incorporação x estirpe (inoculação comum)	1%	
			Efeito da peletização	0,1%	
3		Efeito da incorporação (pelet.)	1%		
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Campinas	1	Efeito da inoculação	0,1%	
			Efeito da incorporação x inoc.	5%	
			Interação inoculação x estirpe	5%	
		2	Efeito da incorporação (inoc. normal)	1%	
			Efeito das estirpes (inoc. normal)	5%	
			Efeito da inoculação normal	5%	
		Nova Odessa	1	Efeito da incorporação (peletização)	5%
				Efeito da peletização	1%
				Efeito de bloco	5%
	3		Efeito da incorporação	5%	

diferentes conjuntos de resultados foram obtidos. Somente *Teramnus uncinatus* deu resultados idênticos em ambos e estes foram inteiramente negativos.

Todos os dados e observações desses dois experimentos indicam que o solo em Campinas foi um fator limitante do crescimento das plantas. Comparando as produções médias no caso de não incorporação nos dois locais, observa-se que a produção em Nova Odessa sobrepujou a de Campinas em 125% para o caso de *Phaseolus vulgaris*, 104% para o caso de *Glycine javanica* e 103% para o caso de *Teramnus uncinatus*. O solo em Campinas foi letal para o caso de *Medicago sativa* onde somente algumas plantas originadas de sementes peletizadas sobreviveram. O murchamento rápido e uniforme e a morte das plântulas, em ausência de agente patogênico visível, fez sugerir que o fator toxidez estivesse envolvido. Essa hipótese era corroborada pelo aspecto das plantas de *Phaseolus vulgaris*, nas quais se observava clorose entre as nervuras das folhas, bem como a ocorrência de morte de algumas plantas durante um período de seca que ocorreu várias semanas após o plantio. Os dados de produção de *Phaseolus vulgaris* também podem ser tomados como evidência para a hipótese mencionada. Enquanto os dados de nodulação mostram claramente (Quadro 8) que as estirpes de *Rhizobium* 2 e 3 estavam funcionando tanto em Campinas como em Nova Odessa, observou-se que somente em Nova Odessa os efeitos da inoculação se refletiram nos dados de produção (Quadro 14). Em Campinas, essas estirpes não foram diferentes das demais, como se um efeito limitante dominante mantivesse a produção, em todos os tratamentos de estirpes, a um mesmo nível. O efeito significativo dos blocos na produção de *Phaseolus*, que foi observado em Campinas, também parece indicar um fator toxidez, pois observou-se, na ocasião do preparo do solo, que a parte superior da área experimental (repetições 1 e 2) tinha sido cultivada com amendoim (*Arachis hypogea*) e recebido certa quantidade de calcário. Os sintomas, bem como os efeitos observados, são condizentes com os descritos para toxidez de manganês, apesar de não ter sido feita análise comprobatória. Considerando-se que este solo representa uma vasta área da estação experimental e de cultivo no Estado de São Paulo, o estudo de suas características limitantes merece atenção.

Utilização da incorporação de matéria orgânica na identificação de estirpes eficientes de *Rhizobium*

A observação do crescimento de ervas daninhas, a coloração das leguminosas plantadas, bem como o resultado das análises de nitratos do solo (Quadro

3), mostram que a matéria orgânica incorporada imobilizou o nitrato em ambos os solos. Entretanto, é de se duvidar que em qualquer época, após o plantio, tenha havido um acúmulo de ions nitrato em quantidade suficiente para provocar o efeito de inibição da nodulação. A maior concentração de nitrato detectada foi a de 14,4 ppm, observada em Nova Odessa.

A presença de matéria orgânica permitiu a identificação antecipada de estirpes eficientes para *Medicago sativa* e *Phaseolus vulgaris*, e que se caracterizassem as estirpes 2 e 3 como eficientes. De forma alguma seria possível a identificação dessas estirpes em Nova Odessa no solo sem incorporação, visto que nesse caso as plantas, em todos os tratamentos de estirpes, apresentavam coloração verde e desenvolvimento vigoroso, propiciando produções semelhantes (Quadro 14). A falha de identificação de estirpes eficientes para *Teramnus* e *Glycine* provavelmente reflete outros fatores discutidos abaixo.

Enquanto que se supõe que o efeito principal da incorporação de matéria orgânica é o da imobilização do excesso de nitratos, há outros efeitos colaterais da matéria orgânica que podem influenciar o crescimento das plantas e a nodulação. Durante a decomposição da matéria orgânica, outros elementos, além do nitrogênio, são também imobilizados. A aeração e a penetração de água no solo são afetadas. A decomposição da matéria orgânica deve aumentar a quantidade de gás carbônico, que Lowe e Evans (1962) demonstraram ser essencial ao crescimento de *Rhizobium*, e que Mulder e Veen (1960) demonstraram aumentar a nodulação e fixação de nitrogênio pela leguminosa hospedeira. Estes pesquisadores usaram uma leguminosa aqui estudada, *Phaseolus vulgaris*, a um pH de 4,8, e observaram um aumento significativo na nodulação, fixação de nitrogênio e produção, pelo suprimento de gás carbônico às raízes das plantas em solução nutritiva. Foi também demonstrado pelos mesmos autores que em trevo, quando se adicionavam nitratos juntamente com gás carbônico, não mais se obtinham os efeitos benéficos do gás carbônico. A incorporação de matéria orgânica pode também trazer quantidades pequenas, porém significativas, de algum elemento que esteja limitando o crescimento. Por seus efeitos físicos e químicos, a incorporação pode alterar o balanço no caso de algum elemento que esteja em quantidade excessiva no solo. Por exemplo: em Campinas, a incorporação pode ter afetado, de alguma maneira, a disponibilidade do elemento que se suspeitou estar presente em nível tóxico. Por essas razões é difícil

adiantar explicações a respeito dos efeitos variáveis que foram observados devido à incorporação.

IIá, por exemplo, uma contradição entre os efeitos da incorporação na nodulação de *Medicago sativa* e na nodulação das demais espécies. A incorporação fez diminuir a nodulação de *Medicago* e aumentar nas três outras espécies. O aumento de nodulação foi considerável em Campinas e apenas razoável em Nova Odessa. Em *Phaseolus vulgaris*, enquanto que a nodulação foi aumentada, a produção de sementes decresceu. Em *Medicago sativa*, a diminuição de nodulação provocada pela incorporação foi acompanhada de um decréscimo de produção somente nas parcelas não noduladas, enquanto que nas parcelas noduladas observou-se o contrário. Em *Glycine* e *Teramnus*, a incorporação aumentou a nodulação, bem como a produção de matéria seca. O aumento de produção, considerando-se a remoção de nitratos ocasionada pela incorporação, deve refletir algum outro efeito favorável significativo do material orgânico estimulando a simbiose. O efeito estimulante do gás carbônico poderia estar envolvido em cada um dos exemplos em que houve aumento de produção. Em *Glycine* e *Teramnus*, onde o *Rhizobium* nativo do solo foi responsável por uma simbiose eficiente, o simples estímulo da simbiose pode ser responsável pela supressão do efeito depressivo da incorporação na remoção dos nitratos. No caso de *Phaseolus* e *Medicago*, onde o *Rhizobium* nativo se mostrou ineficiente, o efeito depressivo da incorporação predominou, exceto nos casos em que se observou boa nodulação.

Resultados contraditórios como esses não se observariam no caso em que uma comparação simples de estirpes estivesse sendo feita com uma leguminosa numa área onde todas as estirpes fossem igualmente afetadas. Esta é a maneira pela qual a técnica deve ser utilizada na prática.

Um argumento favorável à utilização da técnica de incorporação é que ela introduz um controle automático das ervas más. A capina foi praticamente desnecessária nas áreas em que se fez a incorporação, porém foi feita normalmente nas áreas sem incorporação. A capina introduz o perigo de contaminação cruzada das estirpes de *Rhizobium* que estão sendo testadas.

Uso e valor da peletização

Nestes ensaios, há uma nítida distinção entre duas espécies, *Medicago sativa* e *Phaseolus vulgaris*, e se associam com *Rhizobium* de crescimento rápido, produtores de ácidos, e as duas outras espécies, *Glycine javanica* e *Teramnus uncinatus*, que se associam com

Rhizobium de crescimento lento, do tipo "cowpea", produtores de substâncias básicas. A peletização com calcário não teve efeitos em *Teramnus* e proporcionou um efeito pouco acentuado em *Glycine* em apenas uma localidade, Campinas. Além disso, o efeito da peletização em *Glycine* praticamente se limitou a uma das quatro estirpes utilizadas. Em vista do decréscimo de produção provocado pela peletização e da redução da nodulação pela estirpe 4 sob inoculação normal, é provável que o estímulo da nodulação provocado pela peletização de *Glycine* tenha sido, na realidade, um estímulo das estirpes presentes no solo e não das introduzidas com o inoculante. No caso de *Medicago* e *Phaseolus*, a técnica de peletização fez a diferença entre o sucesso e o fracasso do teste das estirpes de *Rhizobium*, embora resultados semelhantes pudessem ter sido obtidos com maiores despesas, através da calagem.

A comparação da inoculação normal com a peletização nesse experimento não é na realidade legítima, embora esteja de conformidade com o que se faz na prática. Para uma comparação legítima, tanto as sementes inoculadas normalmente como as sementes peletizadas deveriam ser inoculadas simultaneamente e mantidas pelo mesmo espaço de tempo antes do plantio. No caso presente se fez a comparação de sementes inoculadas normalmente, tendo as sementes inoculadas sido guardadas em refrigerador por um período de cerca de 24 horas, com a pré-inoculação pela técnica de peletização, tendo as sementes peletizadas sido guardadas em temperatura ambiente, por um determinado número de dias. Assim, para *Phaseolus* em Campinas a comparação foi de inoculação normal (sementes mantidas no refrigerador por 24 horas) com pré-inoculação através de peletização (sementes mantidas em condições ambientais por 6 dias); para Nova Odessa, os números correspondentes para essa leguminosa foram de 1 e 7 dias; para *Medicago sativa*, em Nova Odessa, os números correspondentes foram 6 e 12 dias. Desde que um decréscimo do número de *Rhizobium* nas sementes peletizadas deve ter ocorrido, o resultado final da peletização torna-se mais significativo. A sobrevivência, por longo período, desse tipo de *Rhizobium* em sementes peletizadas, foi relatada por vários autores (Hastings & Drake 1960, Brockwell 1962, Brockwell & Whalley 1962, Goss & Shipton 1965, Murguía & Date 1965). Em contraste, o mesmo fator pode ter sido parcialmente responsável pela ausência de efeitos da peletização com calcário em *Glycine* e *Teramnus*.

Na Austrália, foram obtidas evidências (Norris 1967; Parker & Oakley 1965; Shipton & Parker 1967)

de que o tipo "cowpea" de *Rhizobium* não persiste tão bem dentro dos péletes quanto o *Rhizobium* de crescimento rápido, provavelmente devido à sua sensibilidade às condições de alta alcalinidade propiciada pelo calcário. Os péletes de *Glycine* foram mantidos em condições ambientais por dois dias em Campinas e 9 dias em Nova Odessa e os de *Teramnus* por 6 e 15 dias, respectivamente. Pode ter ocorrido que apenas um número bastante pequeno de *Rhizobium* das estirpes inoculadas estivesse sobrevivendo dentro dos péletes na época do plantio, embora isso não deva ter sido provável no caso de Campinas.

A possibilidade de a peletização com calcário beneficiar a nodulação de uma determinada espécie de leguminosa em solos ácidos pode ser avaliada através de simples exame da cultura a ser usada como inoculante, fazendo-a crescer em um meio sólido sem carbonato de cálcio, e com a adição de Bromo Timol Azul como um indicador de pH (Norris 1965). Se o meio se tornar amarelo dentro de um mês (indicando que o *Rhizobium* é produtor de ácidos), deve-se esperar que a leguminosa responda à peletização. Se o meio se tornar azul (indicando produção de substâncias básicas), não se deve esperar que a leguminosa responda à peletização com calcário. Isto se refere à questão de ser a acidez, inibidora do desenvolvimento de *Rhizobium*. Podem ocorrer condições em que, por exemplo, quantidades tóxicas de manganês estão presentes e a peletização com calcário seja, então, favorável mesmo para leguminosas associadas com *Rhizobium* do tipo "cowpea" (Döbereiner & Aronovich 1965).

Alguns aspectos da especificidade da simbiose com respeito aos resultados dos experimentos

As quatro espécies de leguminosas utilizadas no presente estudo representam quatro graus de especialização simbiótica. Num extremo está *Medicago sativa*, altamente específica com respeito à estirpe, associando-se com *Rhizobium* produtor de ácidos. Em seguida vem *Phaseolus vulgaris*, associando-se com *Rhizobium* mais ou menos específico, também produtor de ácidos, e capaz de estabelecer uma simbiose efetiva somente com esse tipo de *Rhizobium* (Norris 1965), porém, ao mesmo tempo capaz de nodular ineficientemente com um grande número de *Rhizobia* do tipo "cowpea", normalmente presentes nos solos (Lange 1961). *Glycine javanica* seria a leguminosa seguinte, com *Rhizobium* do tipo "cowpea", relativamente específico se considerarmos que em geral as estirpes realmente eficientes são aquelas isoladas da própria *Glycine javanica*. (Norris, não publicado). No extremo oposto de *Medicago*

sativa vem *Teramnus uncinatus*, associando-se com *Rhizobia* do tipo "cowpea", bastante não específicos, tanto assim que esta leguminosa pode ser utilizada como padrão para se verificar a identidade de *Rhizobium* do tipo "cowpea".

O efeito desses quatro graus de especialização pode ser observado nos dados de nodulação e produção. O pH (5,0) do solo de Nova Odessa está no limite de nodulação de *Medicago sativa*, que tem a nodulação prejudicada mesmo em solos com pH 5,5. A ausência de nodulação nos tratamentos testemunha e de inoculação normal refletem esse fato. É provável que nenhuma população natural de *Rhizobium* capaz de associar-se eficientemente com *Medicago sativa* sobreviva neste solo, e é provável que mesmo uma transferência maciça de *Rhizobium* dos tratamentos de inoculação que foram bem sucedidos produziu apenas uma nodulação irrisória, como de fato ocorreu. A nodulação levemente melhor, produzida pela estirpe Rothamsted AH₂ em condições de inoculação normal pode refletir o fato de que essa estirpe seja produtora de menor quantidade de ácidos do que as outras três estirpes estudadas (Norris, dados não publicados).

Phaseolus vulgaris, cujo simbiote eficiente com o qual normalmente se associa é sensível a condições de acidez, poderia ser nodulado ineficientemente por *Rhizobia* do tipo "cowpea" que ocorrem nesses solos ácidos (pH 5,0 em Nova Odessa e 5,5 em Campinas). Isto pode ser observado pelos dados para número de plantas noduladas e número de nódulos por planta nos tratamentos Testemunha e de Inoculação normal (Quadros 5 e 8). Aparentemente houve uma maior população de tais bactérias no solo de Campinas do que no de Nova Odessa e as bactérias foram estimuladas a produzir melhor nodulação nos tratamentos com incorporação de matéria orgânica. Que essas bactérias eram de fato ineficientes é evidenciado pela falta de resposta das plantas nos tratamentos de incorporação da matéria orgânica em presença das mesmas.

Evidências de pesquisas recentes (Andrews & Norris, não publicado) com *Glycine javanica* indicam que, em comparação com outras leguminosas tropicais, esta espécie é relativamente ineficiente com respeito à absorção de cálcio e por essa razão pode nodular menos em solos com pH menor que 5,5 pobres em cálcio, apesar de que a multiplicação de *Rhizobium* nas proximidades das raízes não seja afetada. Entretanto, nas condições de pH dos solos em estudo a nodulação não seria severamente afetada. Os dados apresentados nos Quadros 6 e 9 mostram que aos 74 dias após o plantio em Campinas, e 62 dias em Nova

Odessa, uma elevada proporção de plantas do tratamento testemunha, embora não atingindo 100%, apresentava-se bem nodulada. A menos que se suponha que tenha havido completa contaminação cruzada, o que é pouco provável, a maior parte desses nódulos devem ter-se originado de bactérias nativas do tipo "cowpea". Além disso, julgando-se pelo aspecto das plantas nos tratamentos de incorporação, bem como pelas produções (Quadro 12), essa nodulação deve ter sido eficiente.

O sistema simbiótico de *Teramnus uncinatus* não é especializado e é tolerante a condições de acidez. Os dados do Quadro 10 mostram que aos 77 dias após o plantio em Campinas e 83 em Nova Odessa todas as plantas do tratamento Testemunha apresentavam excelente nodulação que deve ter sido proveniente de *Rhizobium* nativo, do tipo "cowpea". Julgando-se pelo aspecto das plantas nos tratamentos de incorporação e pelos dados de produção (Quadro 13), essa nodulação deve ter sido eficiente. Nesta leguminosa também se verificou um efeito significativo de blocos em ambos os locais. As repetições 1 e 2 apresentaram maior nodulação que as repetições 3 e 4. Em Campinas, é quase certo que isso tenha ocorrido devido a presença, no ano anterior, de uma cultura de amendoim, cujos restos eram evidentes na época do plantio; o histórico do terreno em Nova Odessa era desconhecido. Em ambos os locais, o efeito de bloco da nodulação só pode ser explicado pela presença de uma maior população de *Rhizobium* nativo no solo, resultando então uma melhor nodulação de *Teramnus* nesses locais.

Considerações sobre a produção

As produções médias para *Phaseolus vulgaris* em Campinas foram de 360,7 kg/ha (404,3 lb/acre) para o caso de incorporação de matéria orgânica e 548,9 kg/ha (615,3 lb/acre) para a área sem incorporação. Em Nova Odessa, a produção média na área sem incorporação foi de 1.235,3 kg/ha (1.384,8 lb/acre). Na área de incorporação, as estirpes de *Rhizobium* 2 e 3, peletizadas, propiciaram uma produção média de 1.054,2 kg/ha (1.181,8 lb/acre) em comparação com uma média de 619,4 kg/ha (694,3 lb/acre) para os demais tratamentos na área de incorporação. Abraão (1960) observou que a média de produção do Estado de São Paulo desta variedade Rosinha, em 8 experimentos de vários anos, foi de 1.340,25 kg/ha (1.502,4 lb/acre), variando de 450 kg/ha (504 lb/acre) a 1.749 kg/ha (1.951 lb/acre). As melhores produções obtidas no presente experimento provavelmente representam a média de produção comercial para esta variedade, sem se

considerar o fato de que o espaçamento utilizado foi maior que o espaçamento ótimo recomendado. Com base nestes resultados, faz-se a sugestão de que, em muitos solos ácidos, produções adequadas de feijão podem ser obtidas através de adubações adequadas e peletização com calcário, sem necessidade de calagem.

Medicago sativa, no tratamento de peletização, produziu aos 108 dias 1.850 kg/ha (2.074 lb/acre) de matéria seca nas áreas de incorporação de matéria orgânica e 1.709 kg/ha (1.916 lb/acre) nas áreas sem incorporação. Essas produções não são elevadas, mas tomando-se em consideração que a área é climaticamente desfavorável para o plantio desta espécie, bem como o largo espaçamento utilizado, as produções são razoáveis. Novamente os dados sugerem que em um solo como o de Nova Odessa esta espécie provavelmente poderia ser estabelecida com sucesso através de peletização, e quantidades mínimas de calcário.

As produções de matéria seca para *Glycine javanica* variaram de 1.782 a 2.657 kg/ha (1.998 a 2.978 lb/acre) em Campinas e de 4.020 a 5.018 kg/ha (4.506 a 5.625 lb/acre) em Nova Odessa, num período de crescimento de 116 a 129 dias respectivamente. As produções de Campinas são razoáveis, porém as de Nova Odessa são bastante boas. A excelente nodulação e crescimento de *Glycine javanica* em solos com pH 5,0 sem calagem vem indicar que não existe necessidade de pesadas calagens para o estabelecimento desta leguminosa como tem sido prática no Brasil. Um aumento de nodulação seguido de decréscimo simultâneo de produção causado pela peletização, em Campinas, e a completa ausência de resposta à peletização, em Nova Odessa, também não sugerem necessidade de calagem. Em vista do presumido fator de toxidez observado em Campinas, dever-se-ia esperar um aumento, ao invés de um decréscimo de produção devido à peletização, e torna-se difícil adiantar uma explicação para esse resultado.

As produções de matéria seca para *Teramnus uncinatus* variaram de 2.763 a 3.481 kg/ha (3.097 a 3.902 lb/acre) em Campinas e de 5.177 a 5.913 kg/ha (5.803 a 6.628 lb/acre) em Nova Odessa, num período de crescimento de 111 e 118 dias, respectivamente. Estas produções indicam que nesta espécie se estabeleceu um sistema simbiótico altamente eficiente, mesmo nos tratamentos não inoculados.

A eficiência das estirpes de *Rhizobium* testadas

Os resultados com *Glycine* e *Teramnus* sugerem que é pouco provável que uma resposta à inoculação

seja observada com essas espécies em condições de campo, se *Rhizobium* nativo do tipo "cowpea" for encontrado em abundância no solo. As estirpes CB 453 para *Glycine* e CB 756 para *Teramnus* são conhecidas, de recentes experimentos na Austrália, como altamente eficientes tanto em condições de casa de vegetação como de campo. Nenhum efeito dessas estirpes pôde ser observado na nodulação ou produção de *Teramnus uncinatus* em ambos os locais, ou de *Glycine javanica* em Nova Odessa. Em Campinas, verificou-se suficiente desvio no padrão de nodulação de *Glycine* para sugerir certa atividade dos inoculantes (vide efeito das estirpes de *Rhizobium*), mas qualquer efeito que eles possam ter provocado na produção foi aparentemente mascarado pelos efeitos da infecção por *Rhizobium* nativo ou pela natureza tóxica do solo.

Em *Medicago sativa* foi observado que as quatro estirpes de *Rhizobium* eram altamente eficientes e não puderam ser diferenciadas em fase dos dados de produção, embora uma delas (Rothamsted AH2) apresentasse superioridade na capacidade de nodulação em condições adversas. As estirpes 1, 2 e 3 vêm sendo mantidas na coleção do Instituto Agrônomico em meio de agar pelo menos há 10 anos e ainda se mostraram altamente eficientes. A estirpe 4 é uma estirpe altamente estável, originada em Rothamsted há mais de 30 anos.

Em *Phaseolus vulgaris*, o teste pode identificar duas estirpes, 2 e 3, entre as quatro testadas. As duas ineficientes representam casos em que a eficiência foi perdida no meio de cultivo, desde que ambas foram escolhidas para o teste de campo com bases em testes prévios satisfatórios.

AGRADECIMENTOS

Os recursos financeiros para a realização deste trabalho foram concedidos pela Fundação Ford, David Rockefeller, Nelson Rockefeller, Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, com assistência adicional do Ministério da Agricultura do Brasil e USAID, através do Instituto de Pesquisas TRI. Os vencimentos do autor principal (D.O. Norris) durante sua estada no Brasil, foram pagos pelo CSIRO, Austrália.

Agradecimentos são devidos ao Dr. Clauco Pinto Viegas, então Diretor do Instituto Agrônomico, por ter colocado à disposição as instalações do Instituto Agrônomico; ao Dr. Hermano Gargantini, pela sua assistência e por cessão das facilidades de laboratórios; ao Dr. Reinaldo Forster, pela sua assistência e cessão de áreas na Estação Experimental "Theodoro de Camargo"; ao Dr. Edgar L. Caielli, por idêntica assistência no Centro de Nutrição Animal de Nova Odessa; e ao Sr. P. Haydock, da Divisão de Matemática Estatística da CSIRO, Brisbane, Austrália, pela análise estatística dos dados.

REFERÊNCIAS

- Abrahão, I.O. 1960. Melhoramento do feijoeiro. *Bragantia* 19(10):129-161.
- Anderson, R.L. 1946. Missing plot techniques. *Biometrics* 2:44-47.
- Brockwell, J. 1962. Studies on seed pelleting as an aid to legume seed inoculation. 1. Coating materials, adhesives, and methods of inoculation. *Aust. J. agric. Res.* 13:638-649.
- Brockwell, J. 1963. Seed pelleting as an aid to legume seed inoculation. *World Crops* 15:334-338.
- Brockwell, J., Whalley, R.D.B. 1962. Incorporation of peat inoculant in seed pellets for inoculation of *Medicago tribuloides* Desr. sown into dry soil. *Aust. J. Sci.* 24:458-459.
- Döbereiner, Johanna & Aronovich, S. 1965. Efeito da calagem e da temperatura do solo na fixação de nitrogênio de *Centrosema pubescens* Benth. em solo com toxidez de manganês. *Proc. IXth Int. Grassland Congr., S. Paulo, 2: 1121-1124.*
- Goss, Olga M. & Shipton, W.A. 1965. Nodulation of legumes on new light lands. 1. Survival of rhizobia on inoculated pelleted seed held for varying periods before sowing into dry soil. *W. Aust. Dept. Agric. J. (4th Series)* 6:616-621.
- Greenland, D.J. 1958. Nitrate fluctuations in tropical soils. *J. agric. Sci.* 50:82-92.
- Hastings, A. & Drake, A.D. 1960. Inoculation and pelleting of clover seed. *N.Z. J. Agric.* 101:619-621.
- Lange, R.T. 1961. Nodule bacteria associated with the indigenous Leguminosae of South-Western Australia. *J. Gen. Microb.* 26:351-359.
- Lowe, R.H. & Evans, H.J. 1962. Carbon dioxide requirement for growth of legume nodule bacteria. *Soil Sci.* 94:351-356.
- Mulder, E.G. & Veen, W.L. van 1960. The influence of carbon dioxide on symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil* 13:265-278.
- Murgia, J.L. & Date, R.A. 1965. The use of pellets in the oversowing of pasture legumes. *Proc. IXth Int. Grassland Congr., S. Paulo, 1:279-282.*
- Norris, D.O. 1964. Techniques used in work with *Rhizobium*. In Some concepts and methods in sub-tropical pasture research. *Commonw. Agric. Bur. Bull.* 47, p. 186-198.
- Norris, D.O. 1965. Acid production by *Rhizobium*. A unifying Concept. *Plant and Soil* 22:143-166.
- Norris, D.O. 1967. The intelligent use of inoculants and lime pelleting for tropical legumes. *Tropical Grasslands* 1(2): 107-121.
- Parker, C.A. & Oakley, A.E. 1965. Reduced nodulation of lupins and serradella due to lime pelleting. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 5:144-146.
- Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas 1960. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado de São Paulo. *Boim* 12, SNPA, Min. Agricultura, Rio de Janeiro.
- Shipton, W.A. & Parker, C.A. 1967. Nodulation of lime-pelleted lupins and serradella when inoculated with peat and agar culture. *Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb.* 7:259-262.
- Valera, C. & Alexander, M. 1965. Reversal of nitrate inhibition of nodulation by indolyl-3-acetic acid. *Nature, Lond.*, 206:326.

THE USE OF ORGANIC MULCH AND LIME PELLETING IN FIELD TESTING OF
RHIZOBIUM STRAINS UNDER TROPICAL CONDITIONS

Abstract

Two field experiments were conducted in the State of São Paulo, Brazil to study the effect of soil and inoculation treatments on the nodulation and yields of the four legume species *Glycine javanica*, *Teramnus uncinatus*, *Medicago sativa* and *Phaseolus vulgaris*. Four *Rhizobium* strains were compared on each species. Three inoculation treatments were used, nil, peat applied with 10% sucrose, and peat applied with 45% gum arabic followed by lime pelleting. All treatments were replicated on mulched and unmulched soil. Mulching was consisted of incorporating sugar cane bagasse into the soil surface.

The technique of using mulch to tie up soil nitrogen proved to be an effective way of demonstrating differences in nitrogen fixing effectiveness of the *Rhizobium* strains in the field. It was also an efficient method of weed control.

The technique of lime pelleting was shown to be of great use in promoting nodulation on the specialized species *Medicago sativa* and *Phaseolus vulgaris*. However, it had no effect on *Teramnus uncinatus* and only a very slight effect on *Glycine javanica*.

The many differences in response of the various legume-*Rhizobium* combinations to mulch and inoculation treatment emphasizes the danger of drawing broad conclusions from experiments using only one combination.

The potentials of mulching and pelleting are discussed with particular reference to the symbiotic specificity of the legume species under test.