

# EFEITO DE NÍVEIS DE CALCÁRIO NO SOLO E NA CAPACIDADE DE COMPETIÇÃO DE ESTIRPES DE RHIZOBIUM PHASEOLI POR SÍTIO DE NODULAÇÃO<sup>1</sup>

MÁRCIO VOSS<sup>2</sup>, JOÃO RUI JARDIM FREIRE<sup>3</sup>, PEDRO ALBERTO SELBACH<sup>3</sup>

**RESUMO** - Para verificar a capacidade de competição por sítio de nodulação, em diferentes níveis de calcário, em solo com baixa população de *Rhizobium phaseoli* e baixa concentração de  $Al^{3+}$  e  $Mn^{2+}$  inocularam-se estirpes de *Rhizobium* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cv. Turrialba-4. Empregaram-se as estirpes Car 04, Car 37 e Car 43 em cinco níveis de calcário. A Car 43 superou as demais nos níveis de pH SMP 5,1 e 5,4 enquanto Car 04 superou as outras estirpes inoculadas nos níveis de pH SMP 5,9; 6,2 e 6,7. Car 37 não teve seu grau competitivo alterado nos quatro primeiros níveis, mas decresceu no último. Na faixa de pH entre 5,1 e 6,2 foi observada uma correlação linear ( $R^2 = 0,99^*$ ) entre a capacidade de competição por sítio de nodulação das estirpes Car 04 e Car 43 com o pH do solo. Houve o surgimento de reações simultâneas de um mesmo nódulo perante anti-solo Car 04 e Semia 487, principalmente, nos pH SMP 6,2 e 6,7. Inoculando-se as estirpes Car 04, Car 37 e Car 43, juntamente com Semia 487 e Semia 492, ocorreu a estirpe Semia 487 em mais de 80% dos nódulos, nos dois níveis de calcário testados, pH SMP 5,2 e pH SMP 6. Os resultados mostraram que o efeito de níveis de calcário na capacidade de competição por sítio de nodulação variou com as estirpes de *Rhizobium phaseoli*.

Termos para indexação: nodulação, população de *Rhizobium*, estirpes inoculares, anti-soro.

## LIME RATES EFFECT ON SOIL AND ON COMPETITION ABILITY OF RHIZOBIUM PHASEOLI STRAINS BY NODULE SITES

**ABSTRACT** - Bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*), cv. Turrialba-4, were inoculated with strains of *Rhizobium* to evaluate the competition ability for nodule sites in soil treated with different rates of lime and presenting initially low population of *Rhizobium phaseoli* and low  $Al^{3+}$  and  $Mn^{2+}$  concentration. The *Rhizobium* strains Car 04, Car 37 and Car 43 were evaluated at five lime rates. Car 43 was better competitor at 5,1 and 5,4 SMP pH values while Car 04 was better at 5,9; 6,2 and 6,7 SMP pH values. The competitive degree for Car 37 was not altered at the four first lime rates, but decreased at the highest lime rate. For a pH range 5,1 to 6,2 a single linear relationship ( $R^2 = 0,99$ ) was observed between the competition ability for nodule sites of the Car 04 and Car 43 strains and the soil pH. Occurrence of simultaneous reactions of the same nodule to the Car 04 and Semia 487 antiserum was observed, mainly in the 6,2 and 6,7 SMP values. The *Rhizobium* strains Semia 487, Semia 492, Car 04, Car 37 and Car 43 were evaluated in two lime rates. The occurrence of Semia 487 strain was higher than 80% of nodules, in 5,2 and 6 SMP pH values. The results showed that the effect of lime rates on the competition ability for nodule sites varied with *Rhizobium phaseoli* strain.

Index terms: *Rhizobium*, population, inoculated strains, antiserum.

## INTRODUÇÃO

Na seleção de estirpes de *Rhizobium*, entre outras características, deve-se considerar a sua capacidade de competição por sítio de nodulação (CCSN) (Vidor 1981). Essa característica em *Rhizobium phaseoli* é indispensável, devido à

sua ampla distribuição nas regiões de cultivo de feijoeiro, conforme verificado no Estado do Rio Grande do Sul, por Voss et al. (Prelo); no Paraná, por Voss (1983); e em São Paulo, por Saito et al. (1982).

A alternativa de altas doses de inoculante para obter maior percentagem de infecção com estirpe inoculada sobre as estirpes naturalizadas (Kapusta & Rowenhorst 1973) nem sempre é viável, pois, na prática, as concentrações necessárias dificilmente seriam fornecidas pelos inoculantes comerciais, como mostram Weaver & Frederick (1974), trabalhando com soja.

A possibilidade de obtenção de estirpes de alta capacidade de competição é demonstrada por diversos autores (Peres & Vidor 1980a, Skrdleta &

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 14 de fevereiro de 1984.

Parte da tese apresentada pelo primeiro autor para obtenção do título de Mestre em Agronomia, na UFRS, RS. Apresentado na "XI Reunión Latinoamericana de Rhizobium" 24-29 out. 1982. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Eng<sup>o</sup> - Agr<sup>o</sup>, Inst. Agron. do Paraná - IAPAR, Caixa Postal 1331, CEP 86100 Londrina, PR. Bolsista da EMBRAPA.

<sup>3</sup> Eng<sup>o</sup> - Agr<sup>o</sup>, Prof., Fac. de Agron. da UFRS. Porto Alegre, RS.

Karimova 1969), pois depende do genótipo do *Rhizobium* (Gibson et al. 1976, Roughley et al. 1976, citados por Ghai et al. 1982). Além disso, a CCSN é alterada pelo hospedeiro (Diatloff & Brockwell 1976, Robinson 1969, citados por Ghai et al. 1982) e por diversas características do solo (Ghai et al. 1982, Damirgi et al. 1967).

A calagem do solo é uma das práticas agrícolas mais amplamente disseminadas. Ela altera diversas características químicas, biológicas e até físicas do solo (Malavolta 1967).

Em levantamento da ocorrência de sorogrupos de *Rhizobium japonicum*, em uma região de Iowa, EUA, Ham et al. (1971) determinaram que 81% da ocorrência do sorogrupo 135 foi atribuída ao pH do solo e 3% às outras propriedades (testura, P, K, M.O.).

Tendo isso em conta, uma estirpe, para ter mais utilidade como inoculante, deve manter alta CCSN em ampla gama de condições.

O presente estudo teve como objetivo observar o efeito de diferentes níveis de calcário na CCSN de algumas estirpes de *Rhizobium phaseoli*, de bom potencial de fixação biológica de N<sub>2</sub> e baixa especificidade hospedeira (Voss et al. Prelo).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados dois ensaios, em vasos, com solo, em casa de vegetação. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições.

No ensaio 1, os tratamentos consistiram de cinco níveis de calcário e as plantas foram inoculadas com mistura de três estirpes de *Rhizobium*. No ensaio 2, os tratamentos foram dois níveis de calcário e as plantas receberam inóculo de cinco estirpes de *Rhizobium*. Neste último ensaio, estavam incluídos dois outros solos, porém o crescimento das plantas foi péssimo, e os vasos foram eliminados. Assim, em ambos os ensaios, utilizou-se o solo da unidade de mapeamento Estação, classificado com Laterítico Bruno Avermelhado Distrófico Álico (Brasil 1973). Coletou-se solo de mata dos primeiros 20 cm de profundidade, com equipamento desinfetado com álcool a 95°. Após a secagem do solo ao ar, incorporaram-se CaCO<sub>3</sub> e MgCO<sub>3</sub> previamente misturados na proporção de 3:1 para configurar cinco níveis de calcário relativos à recomendação do método SMP (Shoemaker et al. 1961), modificado por Mielniczuk et al. (1969).

Para o ensaio 1 utilizaram-se os níveis 0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2 SMP, correspondentes a 0; 2,1; 4,2; 6,3 e 8,4 toneladas de calcário por hectare. Para o ensaio 2, utiliza-

ram-se dois níveis de calcário, resultantes, um da mistura dos níveis 0 e 0,5 SMP, e outro da mistura dos níveis 1,0 e 1,5 SMP. Foram deixados em incubação por 45 dias, ao ar, em casa de vegetação, com regas diárias.

Por ocasião da instalação dos ensaios, determinou-se NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> do solo pelo método semimicro kjeldahl, descrito por Bremner & Keeney (1966), determinando-se também o pH em água. Outras análises químicas foram feitas pelos métodos descritos por Mielniczuk et al. (1969), resultando P (ppm) = 1,2; K (ppm) = 46; M.O. (%) = 6,7; Al<sup>3+</sup> (meq/100 g) = 0,3; Mn<sup>2+</sup> (ppm) = 5. A granulometria foi determinada pelo método do hidrômetro (Forsythe 1975) resultando, em percentagem: areia grossa = 19; areia fina = 17; silte = 19; argila = 45.

Na adubação, utilizaram-se cloreto de potássio e superfosfato triplo, moídos, fornecendo 870 mg de P e 1.090 mg de K por vaso. Ao nível 0 SMP, adicionou-se CaCl e MgSO<sub>4</sub> fornecendo-se 200 mg de Ca e 100 mg de Mg por vaso. Ao nível 0,5 SMP, forneceu-se metade dessas quantias de Ca e Mg.

A cultivar utilizada foi Turrialba 4. As sementes foram esterilizadas superficialmente com álcool, por 1 minuto, HgCl<sub>2</sub> a 2% por 3 minutos, seguido de sete lavagens sucessivas com água estéril. O plantio foi feito com quatro sementes por vaso, previamente germinadas. Cada vaso continha 1,65 kg de solo a 95-100% da capacidade de campo. Fez-se desbaste para três e duas plantas, aos 6 e 18 dias após o transplante.

Corrigiu-se diariamente a umidade do solo, elevando-a a 95-100% da capacidade de campo através de pesagem, efetuando-se as regas com água destilada e esterilizada.

A escolha de estirpes de distintos grupos sorológicos para os ensaios foi determinada pela obtenção de anti-soros específicos, observada a similaridade antigênica dessas estirpes. De culturas de três dias, prepararam-se antígenos somáticos, da maneira preconizada por Means et al. (1964). Obtiveram-se anti-soros injetando-se esses antígenos em coelhos, conforme metodologia escrita por Bohlool & Schmidt (1968). Os títulos e agrupamentos sorológicos foram determinados por reações de aglutinação, segundo metodologia de Vincent (1970). Os anti-soros das estirpes Car 04, Car 37, Car 43, Semia 487 e Semia 492 apresentaram reação de aglutinação somente com seus próprios antígenos.

A inoculação foi feita com um mililitro de suspensão de células de *R. phaseoli* em solução salina a 0,85%, um dia após o transplante. No ensaio 1, utilizaram-se as estirpes Car 04, Car 37 e Car 43 em mistura. No ensaio 2, utilizou-se a mistura das estirpes Car 04, Car 37, Car 43, Semia 487 e Semia 492. O preparo do inoculante foi feito por semeadura do inóculo em meio manitol-ágar-extrato de levedura e incubação por três dias a 28°C. Inoculou-se mescla das estirpes equalizadas turbidometricamente. A contagem de células viáveis das suspensões individuais foi feita imediatamente após a inoculação, pela técnica de diluição em placas (Vincent 1970). Os resultados para Car 04, Car 37, Car 43 e para a sua mescla

foram, por sua vez,  $2,5 \times 10^9$ ;  $2,0 \times 10^9$  e  $3,0 \times 10^9$  células/ml. Para Semia 487, Semia 492 e sua mistura com as estirpes Car foram, respectivamente:  $4,7 \times 10^9$ ;  $9,0 \times 10^9$  e  $2,8 \times 10^9$  células/ml de suspensão.

A colheita foi feita aos 40 dias após o transplante, no estágio de floração plena a início de frutificação. Pesou-se a parte aérea, secada a  $60^\circ\text{C}$ , por 72 horas. Os nódulos foram retirados para determinar quais as estirpes formadoras.

A tipificação sorológica foi efetuada por meio de aglutinação sorológica, utilizando como antígenos 40 nódulos, por vaso, e os anti-soros das estirpes Car 04, Car 37, Car 43, Semia 487 e Semia 492. A metodologia utilizada foi a mesma empregada por Vincent (1970).

Para identificar a ocorrência eventual de *Rhizobium* capaz de nodular o feijoeiro, acrescentaram-se dois vasos extras sem inoculação, com sobra de solo preparado para os ensaios. Esse solo recebeu calagem para o nível 1 SMP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Ensaio 1.** Capacidade de competição por sítio de nodulação das estirpes Car 04, Car 37 e Car 43, em solo com baixa população inicial de *Rhizobium phaseoli* e cinco níveis de calcário.

Os resultados da tipificação sorológica das estirpes dos nódulos estão na Tabela 1. Verifica-se que ocorreram alterações na frequência relativa das estirpes, conforme o nível de calcário. A estirpe Car 43 predominou nos níveis mais baixos de calcário (0 e 0,5 SMP). A estirpe Car 04 predominou nos níveis 1,0 e 1,5 SMP. A estirpe Car 37 não teve grau competitivo muito alterado nos pri-

meiros níveis, decrescendo, porém, no nível 2 SMP. Nos níveis 1,5 e 2,0 SMP surgiram reações com o anti-soro Semia 487, isolada ou simultaneamente com o anti-soro Car 04. A estirpe Semia 487 não foi inoculada, mas a presença no solo de estirpe de mesma estrutura antigênica foi confirmada pelo exame dos vasos sem inoculação, onde o grupo Semia 487 formou mais de 75% dos nódulos, enquanto grupos sorológicos diferentes de Semia 487, Semia 492, Car 04, Car 37 e Car 43, formaram o restante (dados não apresentados).

Infecção de duas estirpes no mesmo nódulo ocorre (Bromfield & Gareth 1980), mas é incomum sua detecção por meio da técnica de aglutinação de antígenos somáticos de nódulos. A ocorrência simultânea de Car 04 e Semia 487 mostrada no presente ensaio não pode ser explicada com os dados obtidos.

Analisado como um todo, o ensaio leva à conclusão de que as alterações ocorridas na CCSN das estirpes empregadas são resultantes da somatória de efeitos da calagem. No entanto, analisando os quatro primeiros níveis de calcário, verifica-se que a CCSN das estirpes Car 04 e Car 43 esteve correlacionada com o pH do solo, seguindo uma função linear e com coeficiente de determinação de  $0,99^*$  (o asterisco mostra significância estatística de 5%. Fig. 1). Por outro lado, a estirpe 37 não teve alteração significativa e tampouco esteve correlacionada ao pH nesse intervalo.

Outras observações, baseadas na produção de

**TABELA 1.** Percentagem da ocorrência de estirpes de *R. phaseoli* em nódulos de feijoeiro, em função do nível de calcário no solo Estação, inoculado com Car 04, Car 37 e Car 43. Média de quatro repetições. Porto Alegre, 1980.

Tratamentos	Grupo sorológico %						Nº de nódulos tipificados
	Car 04	Car 37	Car 43	Semia 487	Car 04 e Semia 487 <sup>2</sup>	SR <sup>3</sup>	
0 SMP <sup>1</sup>	12	22	65	0	1	0	99
0,5 SMP	22	27	48	0	1	2	150
1,0 SMP	48	20	25	0	2	5	138
1,5 SMP	60	14	5	5	11	5	137
2,0 SMP	28	3	5	16	48	0	107

<sup>1</sup> Média de três repetições, pois uma repetição não nodulou.

<sup>2</sup> Reação simultânea

<sup>3</sup> SR = Sem reação.

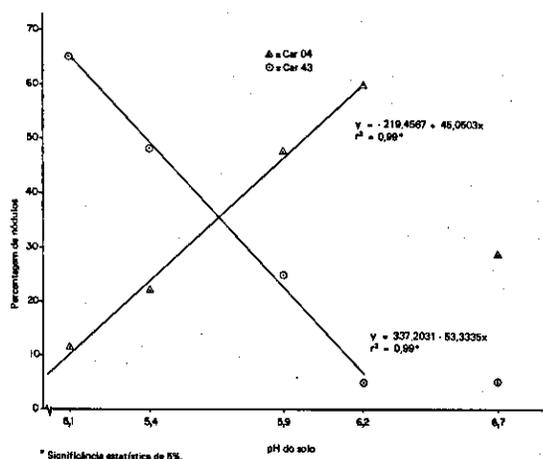


FIG. 1. Efeito de pH do solo na CCSN das estirpes Car 04 e Car 43 em solo Estação. Média de quatro repetições.

massa da planta e nos dados da análise do solo, apóiam essa correlação com o pH, para as estirpes Car 04 e Car 43.

O aspecto nutrição da planta aparentemente não teve muita importância na variação ocorrida nesses quatro níveis de calcário, considerando-se os pesos de matéria seca da parte aérea à floração, pois foram estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5%: 9,8 g; 10,5 g; 10,8 g e 11,3 g/vaso com duas plantas.

Os dados da análise do solo (Tabela 2) mostram, nesses quatro níveis de calcário, que a maior variação foi a do pH, já que havia pouco  $Al^{3+}$  e  $Mn^{2+}$ , eliminado no nível 1 e 1,5 SMP, e as concentrações de  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$  apresentaram-se aparentemente semelhantes. Na Tabela 1, observa-se também que, na faixa de 0,5 a 1,0 SMP, a estirpe Car 04 passou de 22% para 48% dos nódulos, enquanto a estirpe Car 43 passou de 48% para 25% dos nódulos, verificando-se, na Tabela 2, que os teores de  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$  eram os mesmos. Na faixa de 1,0 e 1,5 SMP, a estirpe Car 04 passou de 48% para 60%, enquanto a estirpe Car 43 decresceu de 25% para 5%, verificando-se que o teor de  $Al^{3+}$  e  $Mn^{2+}$  era 0, não sendo, portanto, causa de variação nessas faixas. Unindo-se as duas observações, fica aparente o efeito principal do pH, nessas faixas. No nível 0 SMP, não se pode descartar efeito de  $Al^{3+}$  e  $Mn^{2+}$ .

Efeito de pH na CCSN, em estirpes de *Rhizobium trifolii*, foi observado por Russel & Jones (1975), trabalhando com solução nutritiva, usando duas estirpes em relação 1:1. Todavia, eles não encontraram efeito seletivo consistente do pH, já que uma estirpe predominou no pH 5,0 e 6,5, enquanto a outra predominou no pH 6,0; 7,0 e 7,5. Estes autores observaram que o efeito do pH não foi na sobrevivência do *Rhizobium*. No presente ensaio, não se fez avaliação que permitisse concluir em que processo o pH atuou determinando a alteração na CCSN.

No nível 2 SMP não se encontram mais as tendências de CCSN discutidas acima. Surgiu diminuição de Car 04, Car 37 e Car 43, aumentando a ocorrência do sorogrupo Semia 487 (não inoculado), isolada ou simultaneamente, a Car 04 em mesmo nódulo. Nesse nível, observou-se também maior nitrificação (Tabela 2), e a produção da planta foi estatisticamente inferior às produções mencionadas acima. Graham & Donawa (1981), trabalhando com amendoim, fizeram calagem de um solo de pH 4,6 elevando seu pH para 6,5 e 7,1. Do solo sem calagem a pH 6,5 houve acréscimo de 19% dos nódulos provocados por estirpes inoculadas, enquanto com pH 7,1 houve decréscimo de 45% de estirpes inoculadas recuperadas nos nódulos, indicando que, neste pH, as estirpes nativas tiveram vantagem competitiva nesse nível de calagem. Esse exemplo é semelhante ao ocorrido no atual ensaio, desde que a estirpe Semia 487 seja natural do solo e não resultante de contaminação dos vasos. Uma possibilidade é a de que a calagem favoreça estirpes nativas através de seleção efetuada por algum tipo de antibiose que se acentuasse. Aumento da ocorrência de nódulos contendo a estirpe nativa de *Rhizobium japonicum*, paralelamente ao aumento de actinomicetos antagonísticos, foi verificado por Pugashetti et al. (1982), em detrimento de estirpes inoculadas quando se fez a calagem.

Por outro lado, a diminuição da produção de feijoeiro em altos níveis de calagem foi mostrada por Ssali (1981) e atribuída a desequilíbrio de nutrientes, provocado pela alta saturação de Ca na CTC.

No presente ensaio, faltaram informações suficientes para detectar explicações. Aparentemente,

TABELA 2. Efeito da calagem sobre o pH, Al trocável, Mn trocável,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  no solo Estação. Porto Alegre, 1980.

Tratamento	pH	Al <sup>3+</sup> meq/100 g	Mn <sup>2+</sup> ppm	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ppm de N		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ppm de N	
				P	C	P	C
0,0 SMP	5,1	0,3	5	141	19	130	0
0,5 SMP	5,4	0,1	1	120	0	108	0
1,0 SMP	5,9	0	0	120	19	111	31
1,5 SMP	6,2	0	0	99	20	140	32
2,0 SMP	6,7	0	0	47	0	206	22

P = no plantio

C = na colheita

as alterações introduzidas com altas doses de calcário deixaram de ser gradativas para se situarem abruptamente em outro plano. Não se empreenderam maiores investigações quanto aos agentes responsáveis pela alteração na CCSN dessas estirpes no nível 2 SMP, devido aos resultados do ensaio 2.

**Ensaio 2.** Competição por sítio de nodulação das estirpes Semia 487, Semia 492, Car 04, Car 37 e Car 43 em dois níveis de calcário, em solo com baixa população inicial de *Rhizobium phaseoli*.

Neste ensaio, verificou-se amplo predomínio da estirpe Semia 487 independentemente da calagem (Tabela 3).

A baixa CCSN observada na Semia 492, nas condições deste ensaio, não era esperada. Essa estirpe tem mostrado boa CCSN em solo ácido<sup>4</sup>. Numa mistura de estirpes em dois solos, verificou-se predomínio ou equivalência da estirpe Semia 492 em pH baixo sobre três estirpes em mistura, pertencentes ao grupo sorológico Semia 487; já em pH mais elevado, o grupo Semia 487 superou Semia 492<sup>5</sup>. Como, no presente ensaio, verificou-se predomínio de Semia 487 sobre Semia 492, em ambas as situações, é possível que a quantidade de Al<sup>3+</sup> e Mn<sup>2+</sup> muito alta nos solos utilizados por Vidor (6,1 e 5,1 Al<sup>3+</sup> meq/100 g e 45 e 14 ppm de Mn<sup>2+</sup>) explique diminuição da CCSN de Semia 487 naquelas condições.

<sup>4</sup> Saito. Comunicação pessoal.

<sup>5</sup> Vidor. Comunicação pessoal.

Por outro lado, no ensaio 1, verificou-se que as estirpes Car 04, Car 37 e Car 43 sobrepujaram a Semia 487 já presente no solo (Tabela 1). No entanto, a estirpe nativa do sorogrupo Semia 487 pode não ser a mesma Semia 487 inoculada, uma vez que a sorologia utilizada não é muito específica. Há duas situações a considerar:

1. Se a estirpe já presente no solo tiver CCSN igual à inoculada, pode-se explicar o comportamento discrepante nos dois ensaios pela concentração relativa de células das estirpes, pois, no ensaio 1, a Semia 487 não fora inoculada e estava presente em baixa população inicial. O efeito da concentração relativa de células na CCSN é freqüentemente encontrada. Peres & Vidor (1980 b), utilizando duas estirpes de *Rhizobium japonicum*, observaram que, quando a concentração de células de uma estirpe era superior à outra dez vezes, a percentagem de nódulos formados por cada estirpe foi de 80% e 20%, enquanto que, em igual concentração de células, o percentual foi de, aproximadamente, 50%.

2. Se, porém, a estirpe do grupo Semia 487 já presente no solo tiver CCSN diferente da CCSN da Semia 487 inoculada, esse fato explicaria o comportamento diverso encontrado nos dois ensaios.

Mesmo considerando as duas alternativas, pode-se afirmar que o sorogrupo Semia 487 teve CCSN superior à das outras estirpes, quando inoculada em concentração equivalente ou superior às outras, nas condições do solo utilizado.

TABELA 3. Percentagem de ocorrência de estirpes de *R. phaseoli* em nódulos de feijoeiro, em função do pH e fatores relacionados, em solo Estação, inoculado com Car 04, Car 37, Car 43, Semia 487 e Semia 492. Média de quatro repetições. Porto Alegre, 1980.

Tratamento	Grupo sorológico						Nº de nódulos tipificados
	Car 04	Car 37	Car 43	Semia 487	Semia 492	Car 04 e Semia 487	
pH 5,2	9	1	2	82	5	1	153
pH 6,0	2	0	0	97	1	0	154

### CONCLUSÕES

1. Houve variação na CCSN com as doses de calcário empregadas.

2. As estirpes mostraram sensibilidade diferente às doses de calcário, sendo mais sensíveis as estirpes Car 04 e Car 43, e menos sensíveis as estirpes Car 37 e Semia 487.

3. A estirpe Semia 487 inoculada mostrou alta CCSN frente às estirpes Semia 492 (Cena 05), Car 04, Car 37 e Car 43, tanto em pH 5,2 como pH 6, em solo com baixo teor inicial de  $Al^{3+}$  e  $Mn^{2+}$ .

4. A CCSN das estirpes Car 04 e Car 43, na faixa de pH 5,1 a 6,2 esteve correlacionada linearmente ( $R^2 = 0,99^*$ ) com o pH solo. A CCSN de Car 04 aumentou com o pH, enquanto a de Car 43 diminuiu.

5. As estirpes Car 04, Car 37 e Car 43 não têm valor para uso em inoculante comercial, devido à sua baixa CCSN.

### REFERÊNCIAS

- BOHLOOL, B.B. & SCHMIDT, E.L. No specific staining: its control in immunofluorescence examination of soil. *Science*, 1962:1012, 1968.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Serviço Nacional de Pesquisa Agropecuária. Divisão de Pesquisa Pedológica. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul. Recife, 1973. 431p. (Boletim Técnico, 30).
- BREMNER, J.M. & KEENEY, D.R. Determination and isotope ratio analysis of different forms of nitrogen in soil: 3 Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation method. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30:511-92, 1966.
- BROMFIELD, E.S.P. & GARETH, J.D. Studies on double occupancy of nodules on the competitive ability of *Rhizobium trifolii* on red and white clover grown in soil and agar. *Ann. Appl. Biol.*, 94:51-9, 1980.
- DAMIRGI, S.M.; FREDERICK, L.R. & ANDERSON, I.C. Serogroups of *Rhizobium japonicum* in soybean nodules as affected by soil types. *Agron. J.*, 59:10-12, 1967.
- FORSYTHE, W. Física de solos; manual de laboratório. San José, IICA, 1975. 212p.
- GHAI, B.S.; KARIR, I.S. & AGNIHOTRI, S.K. Competition of strains of *Rhizobium* of the cowpea group in two types. *Plant Soil*, 64(2):251-4, 1982.
- GRAHAM; R.A. & DONAWA, A.L. Effect of soil pH and inoculum rate on shoot weight, nitrogenase activity and competitive nodulation of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Trop. Agric.*, 58(4):337-41, 1981.
- HAM, G.E.; FREDERICK, L.R. & ANDERSON, I.C. Serogroups of *Rhizobium japonicum* in soybean nodules sampled in Iowa. *Agron. J.*, 63:69-72, 1971.
- KAPUSTA, G. & ROWENHORST, D.L. Influence of inoculum size on *Rhizobium japonicum* serogroup distribution frequency in soybean nodules. *Agron. J.*, 65:915-9, 1973.
- MALAVOLTA, E. Manual de química agrícola - adubos e adubações. São Paulo, Biblioteca Agronômica Ceres, 1967. 586p.
- MEANS, U.M.; JOHNSON, H.W. & DATE, R.A. Quick serological method of classifying strains of *Rhizobium japonicum* in nodules. *J. Bacteriol.*, 87:547-53, 1964.
- MIELNICZUK, J.; LUDWICK, A. & BOHNEN, H. Recomendações de adubo e calcário para os solos e culturas do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Faculdade de Agronomia, UFRS, 1969. 38p. (Boletim Técnico, 2).
- PERES, J.R.R. & VIDOR, C. Relação entre concentração de células no inoculante e competição por sítio de infecção nodular entre estirpes de *Rhizobium japonicum* ou soja. *Rev. bras. Ci. Solo*, 3(4):139-43, 1980a.
- PERES, J.R.R. & VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Agron. Sulriogr.*, 16:205-15, 1980b.

- PUGASHETTI, B.K.; ANGLE, J.S. & WAGNER, G.H. Soil microorganisms antagonistic towards *Rhizobium japonicum*. *Soil Biol. & Biochem.*, 14(1):37-44, 1982.
- RUSSEL, P.E. & JONES, G.D. Immunofluorescence studies of selection of strains of *R. trifolii* by S 184 white clover (*T. repens* L.). *Plant Soil*, 42:119-29, 1975.
- SAITO, S.M.T.; MARTINS, E.C.S.; FREITAS, J.R. & ROSTON, A.J. Levantamento da presença de micorriza e *Rhizobium phaseoli* naturalmente estabelecidos em áreas com feijoeiro. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia, GO, 1982. Anais ... Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1982. p.320-21. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 1).
- SHOEMAKER, H.E.; MCLEAN, E. & PRATT, P.F. Buffer methods for determining lime requirements of soil with appreciable amounts of extractable aluminum. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25:274-7, 1961.
- SKRDLETA, V. & KARIMOVA, J. Competition between two somatic serotypes of *Rhizobium japonicum* used as double strain inocula in varying proportions. *Arch. Microbiol.*, 66:25-8, 1969.
- SSALI, H. The effect of level of CaCO<sub>3</sub>, inoculation and lime pelleting on the nodulation and growth of beans in five acid soils. *Plant Soil*, 62(1):53-64, 1981.
- VIDOR, C. Symbiotic dinitrogen fixation. In: RUSSEL, R.S.; IGUE, K. & MEHTA, Y.R. ed. *The soil/root system in relation to brazilian agriculture*. Londrina, 1981. p.199-221.
- VINCENT, J.M. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. Oxford, Blackwell, 1970. 196p. (IBP Handbooks, 15).
- VOSS, M. Fixação biológica de nitrogênio, In: FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, Londrina, PR. *Curso de atualização em fertilidade do solo*. Londrina, 1983. p.125-46.
- VOSS, M.; FREIRE, J.R.J. & SELBACH, P.A. Potencial de fixação de N<sub>2</sub> de estirpes de *Rhizobium phaseoli* de regiões produtoras de feijão no Estado do Rio Grande do Sul. *R. Bras., Ci. Solo*, Prelo.
- WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* (L.) Merrill. II Field studies. *Agron. J.*, 66:233-6, 1974.