

## INTERFERÊNCIA DO CÁLCIO E NITROGÊNIO NA FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DO NITROGÊNIO POR DUAS VARIEDADES DE *Phaseolus vulgaris* L.<sup>1</sup>

AVÍLIO ANTÔNIO FRANCO<sup>2</sup> e JOHANNA DÖBEREINER<sup>3</sup>

### Sinopse

Foi feito um experimento fatorial em casa de vegetação usando-se duas variedades de feijão, quatro níveis de Ca e quatro níveis de N, para estudar a interação do cálcio e do nitrogênio na nodulação e fixação simbiótica do N atmosférico pelo feijoeiro.

A variedade Venezuela mostrou a nodulação mais abundante e foi menos afetada pelos fatores não controlados neste experimento. Ambas as variedades aumentaram a nodulação com a adubação de 10 ppm de N, variando este aumento com a variedade e os níveis de cálcio empregados. A adubação de 40 ppm de N reduziu a nodulação em todos os tratamentos com exceção da variedade Rico 23 nos dois níveis menores de cálcio.

Nenhuma das variedades fixou quantidades de N equivalentes aos tratamentos de nível máximo de adubação nitrogenada (40 ppm). A que mais se aproximou foi a variedade Venezuela com adubação de 200 ppm de gesso, tendo atingido 95% do N total máximo encontrado nas plantas. A variedade Rico 23 atingiu apenas 50%.

Concluiu-se que diferenças fisiológicas entre variedades, relacionadas com a nutrição de cálcio e nitrogênio, sejam causas das diferenças hereditárias na nodulação.

### INTRODUÇÃO

Já é sabida a importância da simbiose que as leguminosas fazem com bactérias do gênero *Rhizobium* para a fixação do nitrogênio molecular que se encontra no ar, possibilitando assim o aproveitamento desta fonte do elemento em questão.

São vários os fatores que interferem nesta simbiose, como planta, bactéria e solo, atuando através do pH, elementos minerais etc. Andrew (1962) verificou que as deficiências de Mo, Ca e B em solos ácidos afetam a fixação de N, porque restringem a formação e funcionamento dos nódulos. Deficiências de Mg, K, Cu, Zn, Mn, Fe, P e S podem indiretamente reduzir a quantidade de N fixada, restringindo o crescimento da planta.

Segundo Van Schreven (1958), o cálcio é importante para o desenvolvimento do hospedeiro, for-

mação e crescimento dos nódulos, afetando ainda o pH e a disponibilidade de outros elementos. Andrew (1962) verificou que além da importância indireta que tem sobre os demais elementos e pH do solo, o Ca é importante para o desenvolvimento dos tecidos novos, particularmente os das raízes.

Andrew e Norris (1961) verificaram que a eficiência da nodulação de leguminosas tropicais em solos com deficiências de Ca pode ser atribuída à sua grande habilidade de extrair Ca do solo e não a um baixo requerimento do Ca para a nodulação e que o Ca é necessário para o desenvolvimento dos pontos meristemáticos das raízes bem como dos nódulos. Este elemento, segundo Döbereiner *et al.* (1966), pode aumentar o número e tamanho dos nódulos.

Em experimentos com soja, Döbereiner e Arruda (1967) concluíram que o Ca aumenta a nodulação e fixação em todas as variedades, mas que a quantidade de gesso usada tem um nível ótimo diferente para as diversas variedades, o mesmo acontecendo com o nitrogênio.

Trabalhando com soja em experimentos de campo, Weber (1966) verificou que a quantidade de N mineral existente no solo foi fator limitante para a quantidade de N fixado. Segundo Allos e Bartholomew (1955), a fixação não diminuiu com adubações de

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 10 de novembro de 1967.

Boletim Técnico n.º 63 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Apresentado ao XI Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, Brasília, julho 1967.

<sup>2</sup> Aluno do 4.º ano da Escola de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

<sup>3</sup> Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

N até 37 ppm, enquanto concentrações maiores o fizeram; posteriormente estes autores concluíram que baixas concentrações de N podem até aumentar a fixação simbiótica da soja (Allos & Bartholomew 1959).

Em trabalho anterior, Franco e Döbereiner (1967) verificaram que 32 ppm de cálcio foram indispensáveis para uma simbiose eficiente, mas que nesta concentração agiu de maneira igual nas diversas variedades e que 100 ppm de nitrogênio agiu de maneira diferente, inibindo a nodulação de uma e não de outras variedades de feijão.

Sendo o feijão um alimento básico e podendo ser aproveitada a sua capacidade de fixação simbiótica, procurou-se, com este experimento, elucidar alguns fatores que, apesar de muito importantes para uma simbiose eficiente, ainda são pouco conhecidos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Fizemos um experimento em casa de vegetação, plantado em 5-8-66 e colhido em 4-11-66, com o esquema experimental fatorial com três repetições e os seguintes tratamentos:

Duas variedades de feijão.

Quatro dosagens diferentes de cálcio.

Quatro dosagens diferentes de nitrogênio.

Foram usados potes plásticos com 2,5 kg de solo da Série Ecologia (Gray Hidromórfico) lavado, numa tentativa de eliminar o Mn tóxico, o que provavelmente não ocorreu, pois as plantas mostraram fortes sinais de toxidez de Mn.

As diferentes dosagens de nitrogênio e cálcio foram:

Nitrogênio = 0, 10, 20 e 40 ppm de N em forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

Cálcio = 0, 100, 200 e 400 ppm de  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Todos os vasos foram inoculados com a estirpe de *Rhizobium phaseoli* F<sub>66</sub> e receberam adubação uniforme de:

1) Micronutrientes por kg de solo.

150,00 mg de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

15,80 mg de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

8,90 mg de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

1,00 mg de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ .

0,5 mg de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

20,00 mg de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (com 20 mg de ácido cítrico).

Estes micronutrientes foram aplicados em solução antes do plantio.

2)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Colocamos 43,75 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  em 1000 ml de água, usando 10 ml por vaso, ou seja 45,2 mg de P e 56,8 mg de K por kg de solo.

Durante todo o desenvolvimento até a época da colheita das plantas, o que se deu logo após a floração, fizemos observações de cor e tamanho das plantas acompanhando o seu desenvolvimento.

Fizemos avaliação da cor, número e peso seco a 65°C dos nódulos, e peso seco a 65°C, teor de N e teor de Mn das plantas.

O nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl.

O manganês foi determinado a partir do produto de digestão para determinação de N (método de Kjeldahl), diluído para 20 ml. Do super-nadante, pipetaram-se 5 ml, adicionaram-se 4 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado, aproximadamente 100 mg de  $\text{KIO}_4$ , e aqueceu-se a solução em banho-maria por 30 minutos. Com esta solução violeta fizemos a leitura colorimétrica usando filtro de 540 $\mu$  e comparando com curva padrão.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho, que são apresentados nos Quadros 1, 2 e 3, confirmam observações anteriores (Franco e Döbereiner 1967) no sentido de demonstrar maior peso de nódulos na variedade de feijão Venezuela do que na variedade Rico 23. Em trabalhos anteriores observou-se que o peso dos nódulos é o melhor índice para avaliar a simbiose, especialmente em experimentos que comparam variedades e tratamentos calcários, pois estes geralmente não afetam a eficiência dos nódulos (Döbereiner *et al.* 1966). Assim, tentaremos interpretar os efeitos sobre a simbiose através do peso dos nódulos.

Comparando as Fig. 1 e 2, podemos observar em primeiro lugar que na variedade Rico 23 torna-se difícil uma interpretação devido a fatores não controlados além dos tratamentos, o que não ocorreu com a variedade Venezuela. Diferenças semelhantes entre variedades têm sido observadas em soja (Döbereiner & Arruda 1967), onde o coeficiente de variação (C.V.) foi de 11% para uma variedade e 47% para a outra.

A menor dosagem de N (10 ppm) aumentou a nodulação da variedade Venezuela, nos tratamentos com pouco cálcio, confirmando assim observações de Allos e Bartholomew (1959) de que, em soja, baixos

QUADRO 1. Efeito do cálcio e nitrogênio na nodulação e fixação de N na variedade de feijão Venezuela  
(Médias de três repetições)

Trat.		Plantas				Nódulos		
N ppm	Gesso ppm	Peso seco em g	%N	N total em mg	Mn ppm	Número	Peso seco em mg	Peso médio em mg
0	0	2,1	0,93	19,5	1010	83	66	0,795
10	0	2,7	1,02	27,5	1390	155	146	0,941
20	0	2,8	1,17	32,7	1290	131	119	0,904
40	0	3,6	1,14	41,0	1390	32	31	0,969
0	100	2,7	1,07	28,8	1340	54	109	2,019
10	100	3,1	0,95	29,4	1170	126	127	1,008
20	100	3,0	1,13	33,9	1160	88	60	0,082
40	100	2,8	1,26	32,7	1270	32	14	0,438
0	200	3,2	1,23	39,3	1110	82	144	1,756
10	200	2,8	0,99	27,7	1100	95	131	1,379
20	200	2,8	1,30	36,4	1170	56	95	1,696
40	200	2,5	1,37	34,2	1170	9	4	0,444
0	400	2,4	1,11	26,6	1600	25	157	6,280
10	400	2,4	1,07	25,6	1860	63	113	1,794
20	400	3,4	1,15	39,1	1090	35	83	2,371
40	400	3,2	1,28	40,9	2080	0	0	0

QUADRO 2. Efeito do cálcio e nitrogênio na nodulação e fixação de N na variedade de feijão Rico 23  
(Médias de três repetições)

Trat.		Plantas				Nódulos		
N ppm	Gesso ppm	Peso seco em g	%N	N total em mg	Mn ppm	Número	Peso seco em mg	Peso médio em mg
0	0	2,6	1,13	29,3	960	90	78	0,867
10	0	2,4	1,04	24,9	1270	112	68	0,607
20	0	2,4	1,34	32,1	1280	62	30	0,484
40	0	3,5	1,39	48,6	1260	107	68	0,636
0	100	2,2	1,22	26,8	950	40	110	2,750
10	100	1,9	1,39	26,4	1250	32	43	1,344
20	100	2,5	1,35	33,7	1630	64	75	1,172
40	100	2,8	1,44	40,3	1550	88	55	0,625
0	200	2,1	1,16	24,3	1650	47	59	1,255
10	200	2,0	1,25	25,0	1950	33	76	2,303
20	200	2,6	1,64	42,6	1470	54	64	1,185
40	200	2,3	1,61	37,0	1770	30	20	0,670
0	400	1,4	1,23	17,9	1660	14	49	3,500
10	400	2,1	1,31	27,5	1750	27	72	2,670
20	400	1,9	1,17	22,2	2090	2	11	5,500
40	400	3,4	1,68	57,1	1990	3	9	3,000

QUADRO 3. Análise da variância dos dados apresentados nos Quadros 1 e 2 (valores F)

Fontes de variação	Plantas				Nódulos		
	N total	% N <sup>a</sup>	Mn (ppm)	Pêso seco	Número <sup>b</sup>	Pêso seco <sup>b</sup>	Pêso médio <sup>b</sup>
Variedade	—	15,975**	3,16	8,43**	2,307	5,054*	—
Nitrogênio	7,399**	6,791**	2,05	3,66*	4,838**	9,414**	9,741**
Cálcio	—	1,966	12,35**	—	14,720**	2,058	2,434
Var. x N	1,289	—	—	1,05	5,808**	3,835*	1,524
Var. x Ca	—	—	3,06*	—	—	—	1,337
N x Ca	1,019	—	—	1,26	—	—	2,845**

<sup>a</sup> Dados transformados para  $\sqrt{n}$ .

<sup>b</sup> Dados transformados para  $\sqrt{n+1}$ .

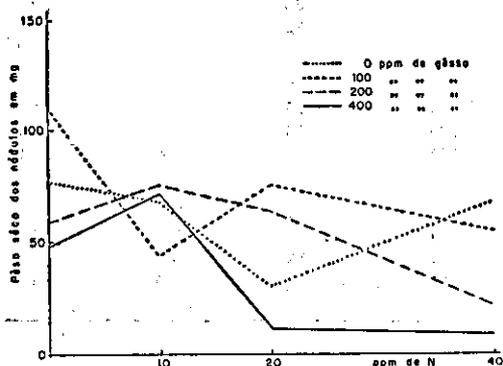


FIG. 1. Efeito da adubação de Ca e N na nodulação da variedade de feijão Rico 23.

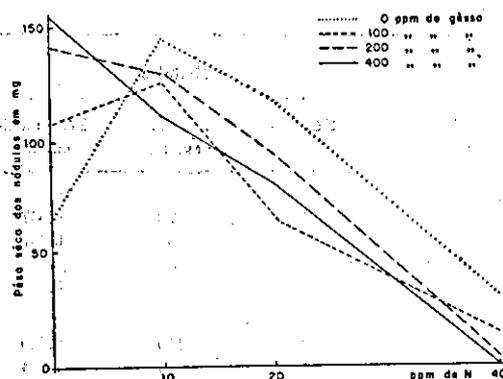


FIG. 2. Efeito da adubação de Ca e N na nodulação da variedade de feijão Venezuela.

níveis de adubação nitrogenada podem estimular a simbiose. As dosagens maiores (20 e 40 ppm de N) foram altamente prejudiciais à nodulação da variedade Venezuela enquanto prejudicaram menos a da variedade Rico 23. Nesta variedade ainda se observa um aumento do peso de nódulos com 10 ppm de N nas dosagens altas de Ca, enquanto sem Ca esta dosagem de N foi prejudicial, sendo isto contrário ao que se observou na variedade Venezuela.

A variedade Rico 23, apesar de atingir a metade ou pouco mais da nodulação da variedade Venezuela, conseguiu manter seu peso de nódulos mais alto nos níveis elevados de nitrogênio. Em ambas as variedades, o efeito prejudicial da adubação nitrogenada no peso dos nódulos se agravou com o aumento do cálcio no solo. Não é fácil interpretar tais efeitos pois possivelmente se fazem sentir indiretamente envolvendo ainda outros elementos. A toxidez de Mn que foi agravada tanto pela adubação nitrogenada como pelas dosagens mais altas de gesso, poderia ser um deles.

Trabalhando com soja, Döbereiner e Arruda (1967) também verificaram que diferenças entre variedades de soja de fácil e difícil nodulação estão relacionadas com a disponibilidade de Ca e N, indicando diferenças fisiológicas entre variedades, que influenciam na nodulação.

Mesmo não sendo os números de nódulos um bom índice de avaliação da eficiência da simbiose, tal dado pode auxiliar na interpretação dos efeitos dos tratamentos na iniciação dos nódulos enquanto o peso médio mostra o efeito sobre o seu desenvolvimento. Nos Quadros 1, 2 e 3 podemos observar que dosagens baixas de N aumentaram o número dos nódulos mas diminuíram o seu peso médio. O Ca já aqui de maneira contrária, diminuindo o número e aumentando o tamanho dos nódulos.

Em trabalho anterior, Döbereiner (1966) observou que uma redução do número de nódulos pela toxidez de Mn poderia ser compensada pela planta aumentando o tamanho dos nódulos. Vemos assim que a iniciação da formação dos nódulos parece ter sido mais prejudicada pela toxidez do Mn do que o seu crescimento, uma vez iniciado.

A alta significância da interação Ca x N no peso médio dos nódulos mostra ainda a interdependência do efeito das dosagens de Ca e N. Sem adubação nitrogenada o Ca aumentou muito o tamanho dos nódulos.

los, diminuindo no entanto êsse efeito gradativamente com o aumento das dosagens de N. A variedade Rico 23 parece menos sensível a êstes efeitos que a variedade Venezuela.

O efeito do gesso sobre o teor de Mn nas plantas foi altamente significativo. O efeito prejudicial da dosagem mais alta de gesso poderia ser explicado pelo aumento do Mn tóxico devido à diminuição do pH. Efeitos específicos da toxidez de Mn na nodulação de *Phaseolus vulgaris* L. já são conhecidos (Döbereiner 1966).

Pela significância da interação Variedade x Cálcio concluímos que a variedade Rico 23, sem Ca, absorveu menos Mn que a variedade Venezuela, enquanto na presença de gesso absorveu mais. Confirma esta observação diferenças fisiológicas entre variedades.

Nenhuma das variedades fixou quantidades de nitrogênio equivalentes aos tratamentos do nível máximo de adubação nitrogenada (40 ppm). A que mais se aproximou foi a variedade Venezuela com adubação de 200 ppm de gesso, tendo atingido 95% do N total encontrado nas plantas, enquanto que a variedade Rico 23 atingiu apenas 50%.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Roberto Alvaído pela revisão e sugestões, e ao laboratorista Carlos Alberto Gonçalves Cavalcanti pelas análises de nitrogênio e manganês, nossos sinceros agradecimentos.

#### INTERFERENCE OF CALCIUM AND NITROGEN IN SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION OF TWO BEAN VARIETIES (*Phaseolus vulgaris* L.)

##### Abstract

A greenhouse experiment was carried out to study the interference of calcium and nitrogen in symbiotic nitrogen fixation of beans. The experiment had a factorial design including four calcium levels, four nitrogen levels and two varieties, namely Venezuela and Rico 23.

The variety Venezuela showed more abundant nodulation, which was less affected by environmental effects not controlled in this experiment. Both varieties increased nodule weight at the 10 ppm N-level but this increase varied with the variety at different calcium levels. N at 40 ppm reduced nodulation in all treatments except the variety Rico 23 at the two lowest calcium levels.

Neither of the varieties fixed nitrogen equivalent to 40 ppm of N applied as fertilizer, the variety Venezuela with 200 ppm of gypsum reaching the highest amount of N fixed (95% of the maximal total N reached by this variety with 40 ppm N). The nitrogen fixation of the variety Rico 23 reached only 50% of the best treatment with 40 ppm of N.

It was concluded that physiological differences between bean varieties related to calcium and nitrogen nutrition can be responsible for plant determined deficiencies in nodulation.

#### REFERÊNCIAS

- Allos, H. F. & Bartholomew, W. V. 1955. Effect of available nitrogen on symbiotic fixation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 19: 182-184.
- Allos, H. F. & Bartholomew, W. V. 1959. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. *Soil Sci.* 87: 61-66.
- Andrew, C. S. 1962. Influence of nutrition on nitrogen fixation and growth of legumes. *Bull.* 46, Commonw. Bur. Past. and Field Crops, Hurley, Berkshire, p. 130-146.
- Andrew, C. S. & Norris, D. O. 1961. Comparative responses to calcium of five tropical and four temperate pasture legume species. *Aust. J. agric. Res.* 12: 40-55.
- Döbereiner, J. 1966. Manganese toxicity effects on nodulation and nitrogen fixation of beans, *Phaseolus vulgaris* L., in acid soils. *Plant and Soil* 24: 153-166.
- Döbereiner, J., Arruda, N. B. & Penteado, A. F. 1966. Avaliação da fixação de nitrogênio, em leguminosas, pela regressão do nitrogênio total das plantas sobre o peso dos nódulos. *Pesq. agropec. bras.* 1: 233-237.
- Döbereiner, J. & Arruda, N. B. 1967. Interrelações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja. *Pesq. agropec. bras.* 2:475-487.
- Franco, A. A. & Döbereiner, J. 1967. Especificidade de *Rhizobium* em simbiose com o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e a influência de diferentes nutrientes. *Pesq. agropec. bras.* 2:467-479.
- Van Schreven, D. A. 1958. Some factors affecting the uptake of nitrogen by legumes, p. 137-164. In Hallsworth, E. G. (ed.). *Nutrition of the legumes*. Academic Press, New York.
- Weber, C. R. 1966. Nodulating and non-nodulating soybean isolines. II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. *Agr. J.* 58: 46-49.