

FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DO NITROGÊNIO NA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill): INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE CÁLCIO AO SOLO E MOLIBDÊNIO AO REVESTIMENTO DA SEMENTE¹

ALAÍDES PUPPIN RUSCHEL² e PAULO AUGUSTO DA EIRA³

Síntese

No presente trabalho, realizado em casa de vegetação, procura-se estudar o efeito do revestimento da semente de soja com fosforita e mais três doses de molibdênio adicionadas a este revestimento, bem como da adição de cálcio ao solo, na nodulação, fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico, absorção do manganês e desenvolvimento da planta.

O esquema experimental adotado foi de blocos ao acaso com três repetições e os seguintes tratamentos das sementes inoculadas: T) sem revestimento; A) revestimento de fosforita; B) revestimento de fosforita + 1 Mo, e C) revestimento de fosforita + 2 Mo. Todos estes tratamentos foram repetidos com 60 ppm de cálcio, sob a forma de sulfato, adicionado ao solo. Usou-se um solo "gray" hidromórfico da Série Ecologia, o qual apresenta problemas de toxidez de manganês.

Sem necessidade de análise estatística, ficou evidenciada a influência do revestimento da semente, e também da adição de cálcio ao solo, nos diferentes efeitos pesquisados (nodulação e desenvolvimento da planta) pois as plantas do tratamento testemunha, sem adição de cálcio ao solo, morreram alguns dias após a germinação, provavelmente em virtude da deficiência de cálcio e da toxidez de manganês no solo usado.

O número e o peso médio dos nódulos não sofreram influência dos diferentes tratamentos, mas a massa nodular foi aumentada nos tratamentos com cálcio no solo, assim como no tratamento de revestimento com fosforita sem cálcio no solo. As doses de molibdênio influenciaram na nodulação, diminuindo o peso seco dos nódulos, quando não se fez adição de cálcio ao solo.

Quanto à fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico, nota-se que os maiores teores de nitrogênio total foram encontrados nos tratamentos com molibdênio no revestimento da semente mais cálcio no solo, enquanto os teores do nitrogênio percentual foram mais elevados nos tratamentos com molibdênio no revestimento da semente sem cálcio no solo.

Os tratamentos com cálcio foram os que apresentaram os maiores teores de manganês na planta (1.100 ppm Mn), podendo-se atribuir este fato ao abaixamento do pH do solo, ocasionado pela adição de CaSO₄, o que, no entanto, não acarretou prejuízos ao desenvolvimento da soja. Os elevados teores de manganês nas plantas parecem não ter sido um fator limitante para o desenvolvimento das mesmas, e sim, o cálcio como nutriente.

Notou-se maior desenvolvimento das plantas (peso seco total e da parte aérea) nos tratamentos onde o cálcio foi adicionado ao solo; no entanto, os resultados do tratamento de revestimento da semente com fosforita, sem cálcio no solo, também foram elevados. Torna-se, pois, evidente, a necessidade da aplicação de cálcio no referido solo ou da prática do revestimento das sementes com fosforita.

INTRODUÇÃO

Inúmeros têm sido os tratamentos realizados ultimamente com o fito de estudar o efeito da moderna prática do revestimento da semente de leguminosas,

a qual tem por finalidade não só preservar o inoculante, como também propiciar meios para uma perfeita simbiose entre a planta e o *Rhizobium*. Ruschel e Döbereiner (1965), num experimento com feijão, notaram efeitos do revestimento na germinação da semente, nodulação e fixação simbiótica do nitrogênio. Em trabalho com soja, Döbereiner *et al.* (1965) demonstraram que o efeito do revestimento da semente dependia do solo, da variedade da planta e da estirpe de *Rhizobium* inoculada, tendo Ruschel *et al.* (1967) demonstrado, em experimento em que foram

¹ Recebido em 14 de fevereiro de 1969 e aceito para publicação em 13 de março de 1969.

Apresentado na IV Reunião Latino-Americana sobre Inoculantes para Leguminosas, Porto Alegre, 1968. Boletim Técnico n.º 81 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

² Eng.º Agrônomo, Chefe da Seção de Solos do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

³ Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS.

adicionados os micronutrientes B, Mo e Zn ao revestimento da semente, o efeito do molibdênio na fixação simbiótica do nitrogênio.

Por outro lado, Döbereiner e Alvahydo (1963) constataram que plantas cultivadas em solos da Série Ecologia apresentavam alta toxidez de manganês, mostrando ainda os mesmos autores (1966) que esta toxidez poderia ser eliminada pela adição de matéria orgânica e pela calagem. Ruschel e Döbereiner (1965) notaram que o revestimento da semente não diminuía a absorção do manganês pela planta logo após a germinação.

O solo utilizado pertence à Série Ecologia, sabidamente com problemas de toxidez de manganês. Pretende-se apresentar neste trabalho alguma contribuição ao estudo do efeito do cálcio como nutriente, assim como o efeito de diferentes doses de molibdênio adicionadas ao revestimento da semente com fosforita, na nodulação e fixação simbiótica do nitrogênio, na absorção do manganês pela planta e no desenvolvimento da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado em casa de vegetação, usando-se solo classificado como "gray" hidromórfico da Série Ecologia. Utilizaram-se 24 potes, cada um com 3 kg de solo, no qual se fez uma adução básica de 50 ppm de P_2O_5 e 25 ppm de K_2O , além de micronutrientes, excetuando-se o molibdênio (1 ml/kg de solo, da seguinte solução $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 37,500 g; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 3,950 g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$: 2,227 g; H_3BO_3 : 0,250 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 6,450 g; ácido cítrico: 5,000 g; água destilada: até completar 250 ml).

Os tratamentos testados foram os seguintes: T — sementes sem revestimento; A — sementes com revestimento de fosforita; B — sementes com revestimento de fosforita + 1 Mo; C — sementes com revestimento de fosforita + 2 Mo, e Tca, Aca, Bca e Cca que foram constituídos pelos tratamentos anteriores mais 60 ppm de cálcio no solo, adicionados sob a forma de sulfato ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$).

A planta teste foi a soja, da variedade Abura. Fez-se o revestimento das sementes envolvendo-as com uma mistura de água ou solução de molibdênio (conforme o tratamento), turfa inoculada e goma arábica, na proporção de 2:1:1. As sementes assim envolvidas foram colocadas em excesso de fosforita que constituiu o revestimento. As soluções de molibdênio usadas foram de 40 e 80 ppm de molibdato de sódio, o que corresponde respectivamente a 0,0012 e 0,0024 mg de molibdênio por semente. O esquema experimental foi de blocos ao acaso com os 8 tratamentos colocados em três repetições.

O plantio foi feito em 4-10-67 e a colheita em 9-11-67, na época da floração.

As plantas, uma vez colhidas, foram secadas em estufa a 55°C, determinando-se, após, o peso seco total e da parte aérea. Depois de moídas, determinaram-se, na parte aérea, os teores de nitrogênio e manganês. O nitrogênio foi determinado por nesslerização, sendo a digestão pelo método de Kjeldahl, e o manganês dosado colorimetricamente após digestão nítrica e oxidação com periodato de potássio.

Os nódulos foram secados, contados e pesados e foi medido o pH do solo dos potes após a colheita. Calcularam-se os pesos de 100 nódulos e os teores de N total, apresentando-se todos estes resultados em médias das 3 repetições, no Quadro 1.

A análise estatística foi feita excluindo o tratamento Testemunha (T) cujas plantas morreram alguns dias após a germinação.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Fica evidenciada pelo Quadro 1 a influência do revestimento da semente com fosforita e da adição de cálcio neste solo, melhorando as condições para o desenvolvimento da planta, uma vez que no tratamento testemunha (T), sem adição de cálcio ao solo, as plantas não conseguiram se desenvolver, morrendo alguns dias após a germinação. Tal fato poderia ser atribuído não só à deficiência de cálcio, como também ao excesso de manganês que a plântula poderia ter absorvido, uma vez que, segundo Döbereiner e Alvahydo (1963), este solo causa toxidez deste micronutriente às plantas, principalmente Leguminosas.

Conforme se pode observar nos Quadros 1, 2 e 4, no que diz respeito à nodulação da soja, somente o peso seco dos nódulos foi influenciado pelos diferentes tratamentos, ficando evidenciado o efeito do revestimento da semente e do cálcio aplicado ao solo na simbiose soja-*Rhizobium*. O efeito significativo encontrado no revestimento da semente com fosforita para a massa nodular sugere ser este tratamento bem eficiente, quando não se dispõe de uma fonte de cálcio. Segundo Hallsworth (1958), o cálcio deixa de ser problema desde que atinja um limite mínimo suficiente para a planta cultivada. No presente caso, o cálcio existente na composição da fosforita parece ter suprido as deficiências da planta para uma simbiose adequada, não chegando, porém, a ser suficiente para que a mesma tivesse um melhor desenvolvimento. O molibdênio nas doses aplicadas ao revestimento da semente influenciou na nodulação diminuindo a massa nodular nos tratamentos sem cálcio no solo.

QUADRO 1. Revestimento de fosforita e três níveis de molibdênio, na presença e ausência do cálcio no solo e seus efeitos na nodulação, fixação simbiótica e desenvolvimento da soja e no pH do solo (média de 3 vasos)

Tratamentos	Nódulos			Planta					pH do solo
	N.º	Peso seco total (mg)	Peso seco 100 nódulos (mg)	Peso seco total (g)	Peso seco parte aérea (g)	% N parte aérea	N total parte aérea (mg)	Mn parte aérea (ppm)	
T — Testemunha (sem revestimento)	0	0	0	0	0				
A — Rev. fosforita	22,3	272,3	1 205,6	1,61	1,30	3,11	40,86	316,6	4,9
B — Rev. fosforita + 1 Mo	12,0	82,6	795,3	0,73	0,60	3,57	21,00	433,3	4,5
C — Rev. fosforita + 2 Mo	18,6	63,3	461,0	0,68	0,56	3,86	21,93	583,3	4,4
Tca — Test. + CaSO ₄ ^a	29,3	392,6	1 485,6	2,56	2,26	2,63	59,26	1 100,0	4,0
Aca — Rev. fosforita + CaSO ₄ ^a	20,3	224,0	1 014,0	2,03	1,80	3,06	54,90	716,6	4,1
Bca — Rev. fosforita + 1 Mo + CaSO ₄ ^a	24,6	315,3	1 278,0	2,43	2,13	3,10	65,86	733,3	4,2
Cca — Rev. fosforita + 2 Mo + CaSO ₄ ^a	30,3	307,3	1 065,6	2,38	2,06	3,11	63,93	816,6	3,9

^a O CaSO₄ foi incorporado ao solo.

QUADRO 2. Resumo da análise estatística (quadrado médio)

Fonte de variação	GL	N.º	Nódulos		Planta				
			Peso seco total	Peso seco 100 nódulos	Peso seco total	Peso seco parte aérea	% N parte aérea	N total parte aérea	Mn parte aérea
Cálcio	1	250	83 604*	401 109	7,3216**	6,24**	0,7980	5 090,41**	435 555**
Molibdênio	2	57	5 188	207 768	0,1500	0,09	0,2450	44,55	51 666
Ca X Molibdênio	2	100	38 208*	208 298	0,8235	0,52	0,1899	436,26	10 556
Trat. contra Tca	1	162	81 982*	682 921	2,1608*	1,98**	1,1601*	541,88	642 858**
Resíduo	12	88	9 705	152 746	0,2451	0,18	0,1760	152,88	32 678

QUADRO 3. Resumo da análise estatística do pH do solo (quadrados médios)^a

Fonte de variação	G.L.	Q.M.
Cálcio	1	1,71**
Molibdênio	3	0,07
Ca X Mo	3	0,15
Resíduo	14	0,07

^a A análise estatística do pH do solo foi feita para os 8 tratamentos, ao invés de 7 como nas fontes pesquisadas.

Segundo Döbereiner *et al.* (1966), a avaliação da fixação simbiótica do nitrogênio pode ser feita através da massa nodular. Analisando deste modo os resultados do presente trabalho, fica evidenciado que tanto a adição de cálcio ao solo como o revestimento da semente com fosforita aumentam a massa nodular, melhorando por conseguinte as condições para a simbiose soja-*Rhizobium*.

O peso seco total e da parte aérea da soja foi aumentado pela adição de cálcio ao solo. Observa-se, no entanto, que o tratamento do revestimento da semente com fosforita foi igual ao tratamento testemunha sem revestimento mais cálcio no solo. Não se notou nenhuma influência do molibdênio no desen-

volvimento da soja, ao contrário do observado anteriormente por Ruschel *et al.* (1967), os quais estudando os efeitos do boro, molibdênio e zinco adicionados ao revestimento da semente, notaram que o molibdênio, usado em dose inferior às usadas neste experimento, aumentou o peso seco da soja.

Nota-se que o nitrogênio total das plantas foi maior nos tratamentos com cálcio. Döbereiner e Arruda (1967), estudando o problema da adição de cálcio ao solo sob forma de carbonato e sulfato, notaram que o efeito do sulfato de cálcio dependia da dose aplicada e da variedade da planta. No presente caso, aplicando-se uma dose inferior à usada no citado trabalho, foi obtido efeito favorável do gesso, aumentando significativamente a fixação do nitrogênio na variedade de soja utilizada. Estudos mais detalhados poderiam ser feitos elevando-se ainda mais o teor do sulfato de cálcio.

Os tratamentos de revestimento com fosforita mais molibdênio e com cálcio no solo foram os que apresentaram maior teor de nitrogênio total. O resultado deste trabalho confirma os de Franco e Döbereiner (1967), os quais, adicionando molibdênio ao solo, notaram ser o mesmo indispensável na fixação do nitrogênio e, em excesso, mais prejudicial ao processo da

QUADRO 4. Classificação dos totais, segundo o teste t de Student *

Planta								pH do solo	
Pêso seco total	Pêso seco parte aérea	% N	N total	ppm Mn	Pêso seco dos nódulos				
Tca 7,68	Tca 6,8	C 11,58	BCa 197,6	TCa 3 300	TCa 1 178	T	14,8		
BCa 7,30	BCa 6,4	B 10,71	CCa 191,8	CCa 2 450	BCa 946	A	13,5		
CCa 7,13	CCa 6,2	CCa 9,33	TCa 177,8	BCa 2 200	CCa 922	C	13,4		
ACa 6,10	ACa 5,4	A 9,32	ACa 164,7	ACa 2 150	A 816	B	13,3		
A 4,84	A 3,9	BCa 9,30	A 122,6	C 1 750	ACa 672	BCa	12,6		
B 2,18	B 1,8	ACa 9,19	C 65,8	B 1 300	C 250	ACa	12,4		
C 2,03	C 1,7	TCa 7,89	B 63,0	A 950	B 240	TCa	11,9		
						CCa	11,7		
dms dos totais 2,63		2,2	2,23	66,0	963	525	1,8		

Os tratamentos compreendidos num mesmo traço não são significativamente diferentes.

simbiose *Rhizobium*-feijão que ao desenvolvimento da planta. Nossos dados sugerem que o molibdênio pode ser prejudicial quando o teor de cálcio no solo é insuficiente.

As diferenças significativas encontradas para o aumento do teor de manganês nas plantas dos tratamentos com cálcio no solo podem ser atribuídas ao abaixamento do pH do solo (Quadros 1 e 3), ocasionado pela adição do sulfato de cálcio. Deve-se levar em conta, por outro lado, que não houve prejuízo para o desenvolvimento da soja, conforme se pode notar pelos dados de peso seco da planta. Schmehl *et al.* (1950) concluíram haver uma relação Ca/Mn na planta que, uma vez satisfeita, não traz problemas de toxidez de manganês. Os resultados obtidos sugerem ter-se alcançado uma relação satisfatória entre estes elementos; assim sendo, os elevados teores de manganês nas plantas parece que não foram o fator limitante para o desenvolvimento das mesmas, e sim o cálcio como nutriente.

REFERÊNCIAS

- Döbereiner, J. & Alvahydo, R. 1963. Toxidez de manganês em solos da série Ecologia. IX Congr. bras. Ciênc. Solo, Fortaleza. (Não publicado).
- Döbereiner, J., Arruda, N.B. de & Penteado, A. de F. 1965. problemas de inoculação de soja em solos ácidos. Anais IX Congr. int. Pastagens, São Paulo, p. 1153-1157.
- Döbereiner, J. & Alvahydo, R. 1966. Eliminação da toxidez de manganês pela matéria orgânica em solo "gray" hidromórfico. Pesq. agropec. bras. 1:243-248.
- Döbereiner, J., Arruda, N.B. de & Penteado, A. de 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. de 1967. Interrelações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Pesq. agropec. bras. 2:475-487.
- Franco, A.A. & Döbereiner, J. 1967. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium*-feijão e influência de diferentes nutrientes. Pesq. agropec. bras. 2:467-474.
- Hallsworth, E.G. 1958. Nutritional factors affecting nodulation, p. 183-201. In Hallsworth, E.G. (ed.), Nutrition of the legumes. Academic Press, New York.
- Ruschel, A.P. & Döbereiner, J. 1965. Fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). IV. Influência do revestimento da semente inoculada em solo com toxidez de manganês. II Congr. lat.-am. e X Congr. bras. Ciênc. Solo, Piracicaba, S. Paulo. (Não publicado)
- Ruschel, A.P., Brito, D.P.P. de S. & Carvalho, L.F. de 1967. Efeito do boro, molibdênio e zinco quando aplicados ao revestimento da semente na fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Pesq. agropec. bras. 4:29-37.
- Schmehl, W.R., Peech, M. & Bradfield, R. 1950. Causes of poor growth of plants on acid soils and beneficial effects of liming. I. Evaluation of factors responsible for acid soil injury. Soil Sci. 70:393-410.

NITROGEN FIXATION IN SOYBEANS (*Glycine max* (L.) Merrill): INFLUENCE OF THE APPLICATION OF CALCIUM TO THE SOIL AND MOLYBDENUM APPLIED IN SEED'S PELLET

Abstract

In the present paper pelleting of soybean seeds with rockphosphate containing three levels of molybdenum were studied with and without application of calcium sulphate in relation to nodulation, nitrogen fixation and manganese absorption by soybeans, in a greenhouse experiment.

The experimental design was in complete randomized blocks with four replicates and the following treatments: No pellet; pellet with rockphosphate; pellet with rockphosphate and 0.0012 mg Mo/seed; pellet with rockphosphate and 0.0024 mg Mo/seed. All these treatments were repeated with and without 60 ppm of calcium added as sulphate to the soil. The experiment was carried out in a gray hydromorphic soil with manganese toxicity.

While mean nodule weight was not affected by any of the treatments, total nodule weight was higher when calcium was applied or when the seeds were pelleted with rockphosphate in the pots without calcium. Molybdenum also decreased nodule weight in the absence of calcium.

The highest values of total plant nitrogen were found in the treatments with molybdenum and calcium but highest nitrogen contents were observed in the pots with molybdenum but without calcium.

Calcium increased manganese uptake by the plants probably due to the decrease of the pH as a result of liberation of SO_4 radicals. The high manganese levels in the plants (1100 ppm) did not seem to inhibit plant growth, it rather became apparent that calcium deficiency but not high manganese levels were the limiting factor of plant growth.

Finally it was observed that seed pelleting with rockphosphate increased plant growth as measured by plant dry weight confirming the necessity of the application of calcium or seed pelleting in this soil to eliminate calcium deficiency.