

EFEITO DE APLICAÇÃO DE MOLIBDÊNIO NO NÚMERO DE AZOSPIRILLUM E NA PRODUÇÃO DE BRACHIARIA DECUMBENS¹

CESAR H. BEHLING MIRANDA², NELSON F. SEIFFERT³ e JOHANNA DÖBEREINER⁴

RESUMO - Foram obtidos aumentos de 19% na produção de matéria seca e 29% na produção de N total em *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk (australiana) mantida sob pastejo com 2,5 ua/ha, em resposta à adubação com 160 g de Mo/ha, na forma de molibdato de sódio. O experimento foi conduzido em um Latossolo Vermelho-Escuro fase Cerradão, fertilizado com P, K, Cu, Zn e B. O período de avaliação foi entre setembro/82 e abril/83. Levantamentos quinzenais da ocorrência de *Azospirillum* spp. mostraram consistentemente maior número de bactérias em raízes de plantas crescidas nas áreas com Mo do que em áreas sem este elemento.

Termos para indexação: fixação de N₂, fertilizantes, micronutrientes.

EFFECT OF MOLYBDENUM ON NUMBERS OF AZOSPIRILLUM ON BRACHIARIA DECUMBENS PRODUCTION

ABSTRACT - Production of dry matter and total N of *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk under a grazing pressure of 2.5 au/ha were increased by 19% and 29% respectively, in response to fertilization with 160 g of Mo/ha, applied as sodium molybdate. The experiment was conducted on a Dark-Red Latosol phase Cerradão fertilized with P, K, Cu, Zn and B, and evaluated between September/82 and April/83. The *Azospirillum* countings made every 15 days consistently indicated higher numbers of bacteria in roots of plants growing in the Mo treatments than in treatments without Mo.

Index terms: N₂ fixation, fertilizers, micronutrients.

INTRODUÇÃO

Pastagens de gramínea pura, se não estabelecidas em solos férteis, refertilizadas ou mantidas em consorciações com leguminosas, em pouco tempo, tornam-se deficientes em nitrogênio (Bruce 1965, Henzell 1977), com conseqüente perda de capacidade de suporte animal e fornecimento de dieta pobre em proteína.

Considerando-se os altos custos dos adubos nitrogenados, um papel relevante está reservado à fixação biológica de nitrogênio, sendo que a contribuição através de *Rhizobium* em simbiose com leguminosas representa parcela significativa (Hardy et al. 1971).

Por outro lado, associações de gramíneas com bactérias fixadoras de N₂ representam um grande potencial a ser explorado, pela contribuição que podem dar para aumentos ou manutenção dos ní-

veis naturais de N no sistema solo-planta (Döbereiner 1979).

Associações incluindo *Azospirillum* spp. têm-se mostrado, em condições tropicais, promissoras dentro deste aspecto (Döbereiner & Day 1976, Rao 1981).

Em experimento montado com *Brachiaria decumbens*, no Centro Nacional de Gado de Corte, áreas em que foi feita adubação com macro e micronutrientes, incluindo Mo, produziram, desde as primeiras coletas, maiores quantidades de matéria seca (MS) e N total do que áreas em que somente o Mo havia sido omitido.

Em microrganismos fixadores de N₂, o Mo é componente essencial da enzima nitrogenase, responsável pela redução de N₂ atmosférico à amônia, e na planta é parte essencial da enzima nitrato redutase responsável pela redução do NO₃ absorvido do solo e sua incorporação em proteína (Sanchelli 1969).

Neste experimento, foram feitas avaliações periódicas da produção de matéria seca, N total e número de *Azospirillum* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma pastagem de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, mantida sob pastejo

¹ Aceito para publicação em 21 de dezembro de 1984.

² Eng. - Agr., bolsista da EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), Caixa Postal 154, CEP 79100 Campo Grande, MS.

³ Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/CNPGC.

⁴ Enga. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Biologia do Solo (UAPNPBS), CEP 23460 Seropédica, RJ.

com 2,5 ua/ha, implantada em um Latossolo Roxo Alico (pH 5,4) fase Cerradão, em novembro de 1981 no Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária EMBRAPA, Campo Grande, MS.

A área experimental foi dividida, inicialmente, em doze piquetes de área variável, os quais foram adubados com: 100 kg/ha de P_2O_5 , sendo 1/3 como superfosfato simples e 2/3 como fosfato-de-araxá; 36 kg/ha de KCl, como cloreto de potássio; 5 kg/ha de Cu, como sulfato de cobre; 5 kg/ha de Zn, como sulfato de zinco; 5 kg/ha de B, como borax; e 160 g/ha de Mo, como molibdato de sódio, aplicado em mistura aos grânulos do superfosfato. Dentro de cada piquete foi demarcada uma área de 400 m² na qual foi omitida a adubação com Mo.

Mensalmente, foram feitas coletas em seis piquetes na área com, e em seis piquetes nas áreas sem adubação com Mo, para determinação do crescimento e disponibilidade de forragem.

O crescimento foi determinado pela diferença entre a forragem disponível no dia de uma amostragem e a existente por ocasião da amostragem em área idêntica mantida sem pastejo, por meio de gaiolas de exclusão, como descrito por Brown (1959).

O material colhido era secado em estufa a 70°C, até peso constante, para determinação da produção de MS, e determinava-se o conteúdo de N na MS após digestão em H_2SO_4 , como descrito por Bremner (1965).

No período entre 11.82 e 04.83, foram feitas dez avaliações, a intervalos aproximados de quinze dias, do nível populacional de *Azospirillum* spp. em raízes e solo da rizosfera, de amostras tomadas das duas áreas.

Amostras de solos e raízes foram retiradas em cinco pontos cada, das áreas com e sem Mo, fazendo-se amostras compostas. Destas amostras, tomavam-se duas repetições de 1 g cada, tanto de raiz como de solo, para contagens de *Azospirillum* spp., através do método de diluição (número mais provável).

As raízes foram desinfetadas na superfície com cloramina T (solução 1%), durante quinze minutos. Em seguida, eram transferidas e mantidas, por cinco minutos, em solução tampão fosfato (pH 7) e depois passadas por três lavagens consecutivas em água esterilizada.

Como solo da rizosfera foi considerado o obtido na agitação das raízes, logo após sua retirada do solo e limpeza parcial.

As raízes foram depois esmagadas asépticamente em solução salina e feita diluição em série em tubos de ensaio, o mesmo sendo feito com o solo.

As diluições de raízes esterilizadas e solo da rizosfera eram semeadas em meio de cultura NFb semi-sólido (Baldani & Döbereiner 1980). Após sete dias de crescimento em estufa a 30°C, foram feitas avaliações de culturas positivas, com base em observações da formação de película característica e da forma e mobilidade das bactérias ao microscópio, conforme Tarrand et al. (1978).

As estimativas de número de células viáveis por g

de raiz ou de solo foram feitas usando-se a tabela de McCrady, como descrito por Baldani & Döbereiner (1980), sendo os resultados expressos pelo logaritmo decimal do número de células por g de raiz ou de solo fresco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As parcelas nas quais foi adicionado o Mo mostraram, em todas as coletas, maior produção de matéria seca (Fig. 1), indicando que deficiência deste elemento ou limitação de sua disponibilidade por algum fator inerente ao solo, limitava a produção da gramínea. Considerando-se ser este solo representativo de extensas áreas nos cerrados, é de se esperar que surjam situações semelhantes em outros locais. Bataglia et al. (1976) estudaram 28 perfis das quatorze principais unidades de solos de São Paulo e encontraram que os teores de Mo variavam em função da formação básica dos solos, com correlação positiva com os teores de argila e Fe_2O_3 . Franco et al. (1976) desenvolveram um método microbiológico para estudar a disponibilidade de Mo. Testando 41 solos do Rio de Janeiro, constataram que 36 apresentavam deficiência deste elemento. Fernandes & Almeida (1982), em estudo com dois solos de tabuleiro, obtiveram efeitos positivos em um dos solos, na produção de matéria seca e N total de cana-de-açúcar, quando adicionaram Mo junto a NO_3 , sem nenhum efeito quando da adição de ambos em separado. No outro solo, não houve nenhuma resposta a qualquer dos tratamentos.

No presente experimento, o efeito sobre o N total (Fig. 2) foi maior do que o observado na massa seca, confirmando estar relacionado com a disponibilidade de N. Tal efeito poderia ser atribuído ao melhor aproveitamento do N do solo, através da ativação da nitrato redutase, ou, então, ao aumento da fixação biológica.

Os resultados dos levantamentos populacionais periódicos de *Azospirillum* spp., em raízes desinfetadas da gramínea e no solo da rizosfera (Fig. 3), mostraram que, nas áreas com Mo, ocorreu maior número de bactérias por unidade considerada. Observaram-se, ainda, números em média seis vezes mais elevados nas raízes das plantas, enquanto que, no solo, este aumento foi de três vezes apenas.

Todas as interações medidas foram altamente significativas ($p < 0,01$) (Tabela 1).

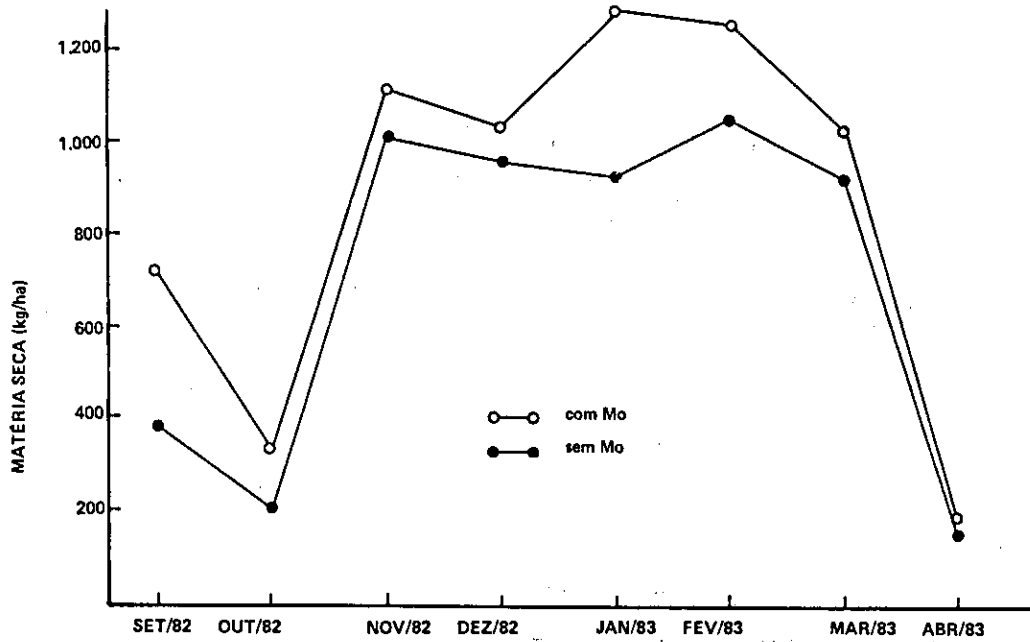


FIG. 1. Efeito da adubação com Mo (160 g/ha, como molibdato de sódio) na produção mensal de matéria seca em *B. decumbens*. Valores médios de seis repetições.

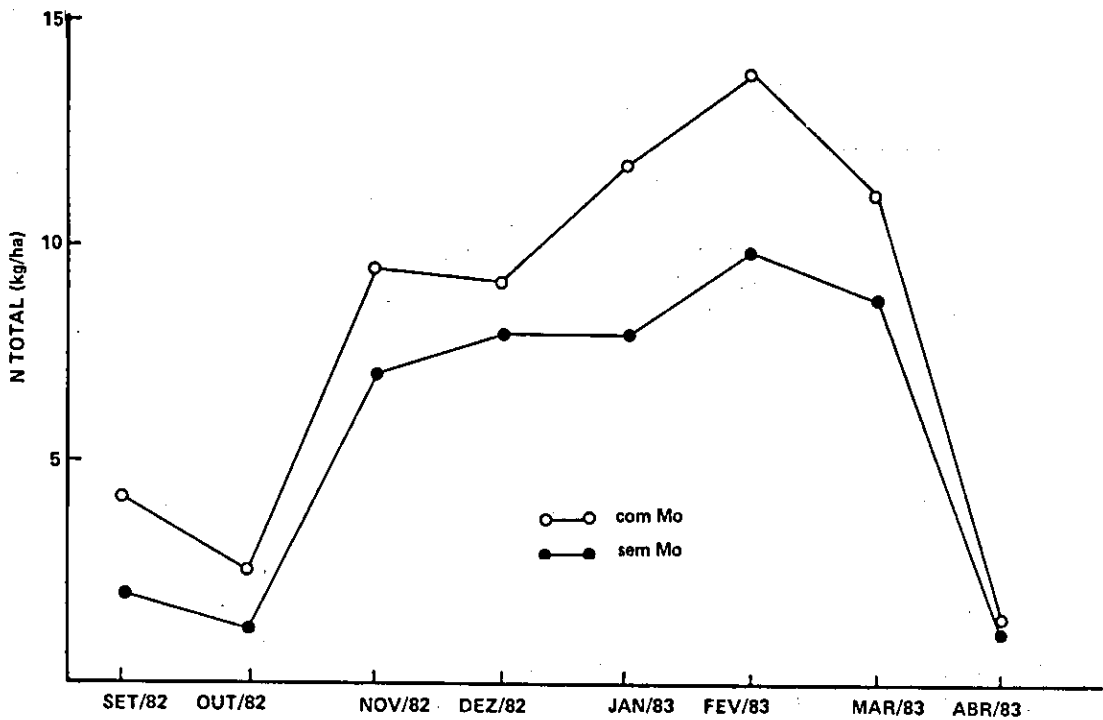


FIG. 2. Efeito da adubação com Mo (160 g/ha, como molibdato de sódio) na produção de N total em *B. decumbens*. Valores médios de seis repetições.

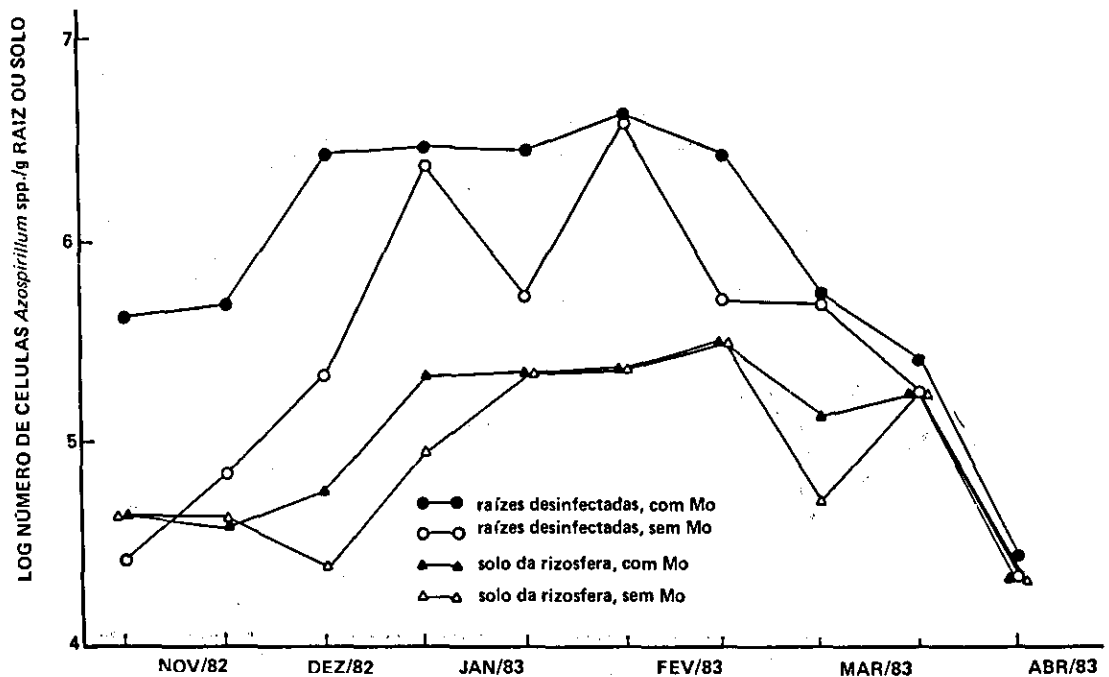


FIG. 3. Efeito da adubação com Mo (160 g/ha, como molibdato de sódio) no número de *Azospirillum* spp. em raízes desinfetadas (quinze minutos, em solução 1% de cloramina T) e no solo da rizosfera de *B. decumbens*. Valores médios de duas repetições.

TABELA 1. Análise de variância dos dados apresentados nas Fig. 1, 2 e 3.

	Matéria seca	N total	N. <i>Azospirillum</i> spp.
FV	F	F	F
Mo	63,18**	120,38**	294,86*
Época	169,86**	135,74**	434,36**
Mo x época	3,92**	3,20**	18,50**
Raiz e solo	-	-	1948,95**
Mo x raiz e solo	-	-	134,46**
Raiz e solo x época	-	-	101,33**
Mo x raiz e solo x época	-	-	28,66**

* Significativo ($p < 0,05$).

** Significativo ($p < 0,01$).

Estes fatos sugerem que a fixação biológica de N_2 teve relevante importância na expressão dos resultados.

Fixação de N_2 em associação com *Brachiaria decumbens* foi demonstrada, indiretamente, através do método de redução de acetileno, por Perei-

ra et al. (1983). Através da técnica de diluição do isótopo ^{15}N , confirmou-se que esta gramínea pode obter até 40% de seu N total, através da fixação biológica.

Em milho e sorgo, a aplicação foliar de Mo refletiu-se em aumentos de atividade da nitrogenase

nas raízes destas gramíneas, não causando, no entanto, aumentos de atividade da nitrato redutase. Nenhuma medida de atividade destas enzimas foi realizada durante este experimento, não podendo portanto, ser definida ainda que qualitativamente, a origem de N coletado nas plantas.

As áreas com Mo acumularam, em média, durante o período estudado, 18,5 kg/ha de N a mais do que as áreas em que Mo foi omitido. Para compensar esta quantidade através de adubação nitrogenada, considerando-se uma eficiência de aplicação de 50%, seria necessário o uso aproximado de 40 kg/ha N. Comparando-se os custos dos fertilizantes, os gastos com Mo representam a metade dos necessários com sulfato de amônio.

REFERÊNCIAS

- BALDANI, V.L.D. & DÖBEREINER, J. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. *Soil Biol. Biochem.*, 12:433-9, 1980.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R. & VALADARES, J. M.A.S. O molibdênio em solos do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 15., Campinas, SP, 1975. *Anais...* Campinas, s.ed., 1976. p.107-11.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A., ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy, 1965. part. 2, cap. 8, p. 1149-78.
- BROWN, D. *Methods of surveying and measuring vegetation*. s.l., s.ed., 1959. 223p. (Commonwealth Bureau of Pastures and Field Crops. Bulletin, 42).
- BRUCE, R.C. Effect of *Centrosema pubescens* Benth on fertility in the humid tropics. *Queensl. J. Agric. Anim. Sci.*, 22:221-6, 1965.
- DOBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em gramíneas tropicais. *Interciência*, 4:200-5, 1979.
- DOBEREINER, J. & DAY, J.M. Associative symbiosis in tropical grasses; characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. In: NEWTON, W.E. & NYWMAN, C.T., eds., *Proceedings of the 1 st International Symposium on N₂ Fixation*. Pullman, Washington State Univ., 1976. p.518-38.
- FERNANDES, M.S. & ALMEIDA, D.J. Resposta da cana-de-açúcar (cultivar CB 45-3) à aplicação de NO₃ e Mo, em dois solos de tabuleiro. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 17(1):39-42, jan. 1982.
- FRANCO, A.A.; PERES, J.R.R. & NERY, M. The use of *Azotobacter paspali* N₂-ase (C₂H₂-reduction activity) to measure molibdenum deficiency in soils. *Plant Soil*, 50:1-11, 1976.
- HARDY, R.W.F.; BURNS, R.C.; HERBERT, R.R.; HOLSTEN, R.D. & JACSON, E.K. Biological nitrogen fixation; a key to world protein. *Plant Soil*, 1971. p.561-90. Número especial.
- HENZELL, F. Nitrogen nutrition of tropical pastures. In: SKERMAN, P.J., ed. *Tropical forage legumes*. Rome, FAO, 1977. p.86-102.
- PEREIRA, A.A.A.; DOBEREINER, J. & NEYRA, C.A. Nitrogen assimilation and dissimilation in five genotypes of *Brachiaria* spp. *Can. J. Bot.*, 59(8):1475-9, 1983.
- RAO, N.S.S. Response of crops to *Azospirillum* inoculation. In: VOSE, P.B. & RUSCHEL, H.P., eds. *Associative N₂ fixation*. Palm Beach, CRC Press, 1981. v. 1, p.137-44.
- SANCHELLI, V. Molybdenum. In: TRACE elements in agriculture. New York, Van Norstrand, 1969. cap. 10, p.113-50.
- TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R. & DOBEREINER, J. A taxonomic study of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasiliense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.*, 24:967-80, 1978.