

TOXIDEZ DE MANGANÊS DE UM SOLO ÁCIDO NA SIMBIOSE SOJA - *Rhizobium*¹

AVÍLIO ANTONIO FRANCO² e JOHANNA DÖBEREINER³

Sinopse

Foram feitos dois experimentos em casa de vegetação para se estudar, num solo que apresenta toxidez de manganês, o desenvolvimento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e a fixação de nitrogênio atmosférico através da simbiose com *Rhizobium japonicum* (Kirchner) Buchanan.

Os resultados obtidos demonstraram elevada toxidez no solo usado. A diluição do solo com areia aumentou de 4 a 6 vezes e a calagem de 2 a 3 vezes o nitrogênio fixado e o desenvolvimento das plantas. Número, peso e tamanho dos nódulos foram mais ainda afetados pela toxidez de manganês.

Observou-se que a absorção do manganês, dependia, além do pH e da diluição do solo, ainda de outros fatores não controlados. A nodulação e fixação de nitrogênio foram mais sensíveis à toxidez de manganês do que o desenvolvimento das plantas. A simbiose da variedade Abura foi mais sensível que a da variedade Pelicano e a calagem ainda aumentou esta diferença. Nestes tratamentos a variedade Abura absorveu mais manganês que a variedade Pelicano enquanto o contrário foi observado no solo sem calagem. A estirpe de *Rhizobium* também afetou a absorção de manganês.

Devido ao verificado sugere-se seja o manganês em excesso no solo um fator a ser considerado ao se fazer a calagem para o plantio da soja.

INTRODUÇÃO

A importância da toxidez de manganês em solos ácidos, que além de prejudicar o desenvolvimento das plantas em geral (Schmehl *et al.* 1950), tem efeito específico sobre a nodulação das leguminosas (Kliwer 1961, Döbereiner 1963, 1966), torna-se evidente ao se tratar de leguminosas de interesse econômico.

Investigações sobre o manganês trocável em solos brasileiros mostraram valores entre 22 e 120 ppm (Cattani & Gallo 1951, Paiva Neto 1941), sendo que muitos destes valores são considerados tóxicos às leguminosas em solução nutritiva (Morris & Pierre 1947). Ainda Morris (1948) sugeriu que o crescimento deficiente de leguminosas em muitos solos ácidos seja devido à toxidez de manganês.

Davies (1952) verificou que plantas crescendo em solo ácido contém mais manganês que crescendo em solo neutro, enquanto Kliwer (1961) observou que em solução nutritiva com manganês fornecido sob a forma de $MnSO_4$, as plantas absorveram mais man-

ganês com pH 6 e 7 do que em pH mais baixo. Esta aparente controvérsia poderia ser explicada pelo fato de que o aumento do pH aumenta a absorção do manganês pelas plantas ao mesmo tempo que diminui a sua disponibilidade no solo, sendo este último efeito mais intenso que o primeiro.

Döbereiner e Alvahydo (1966) verificaram que o feijoeiro apresentou melhor desenvolvimento ao se eliminar o manganês tóxico pela adição de matéria orgânica, argila ou através da calagem.

Spencer (1950) verificou que a toxidez de manganês reduz a fixação simbiótica do nitrogênio pelas leguminosas, mas não o número de nódulos. Döbereiner (1963) também verificou que o nitrogênio total de feijoeiros crescendo em areia foi reduzido em 30 a 60% com a adição de 25 ppm de Mn, quando as plantas dependiam de nitrogênio proveniente da simbiose. Quando era fornecido nitrogênio mineral, a redução baixou a 13% com a mesma adição de manganês. Kliwer (1961) observou que 20 ppm de Mn em solução nutritiva reduziram a nodulação de alfafa de 50%, enquanto em trevo a nodulação não foi afetada.

Vose e Jones (1963), observaram efeitos de toxidez de manganês no tamanho e número dos nódulos de muitas variedades de trevo, adubados com nitrogênio mineral.

¹ Recebido 15 mai. 1969, aceito 22 abr. 1970.

Apresentado na IV Reunião Latino-Americana sobre Inoculantes para Leguminosas, Porto Alegre, 1968.

² Eng.º Agrônomo do Setor de Solos do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS) e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) (Pesquisador Assistente, Proc. n.º 8007/68).

³ Eng.º Agrônomo, Chefe Substituto do Setor de Solos do IPEACS e bolsista do CNPq (Pesquisador Conferencista, Proc. 7105/68).

Devido à crescente importância da soja na economia nacional, foram instalados os experimentos do presente trabalho visando, para fins de calagem racional, estudar a influência da toxidez de manganês no aproveitamento do nitrogênio atmosférico pela soja quando em simbiose, com *Rhizobium*.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento 1. No primeiro experimento tentou-se avaliar os efeitos da toxidez de manganês no solo da série Ecologia, através de várias diluições do solo com areia. Este experimento foi instalado em casa de vegetação com o delineamento experimental fatorial 4 x 2 x 3 com 3 repetições e os seguintes tratamentos:

- 4 diluições de solo-areia: 0:4, 1:3, 3:1 e 4:0;
- 2 inoculantes: estirpes de *R. japonicum* SM1b e R54a do Setor de Solos do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS);
- 2 variedades de soja: Pelicano e Abura.

Foram usados vasos plásticos com 2,8 kg de solo, areia ou solo mais areia, conforme o tratamento. Usou-se areia do Rio Guandu lavada e solo da série Ecologia (Gray Hydromorphic), retirado do mesmo local que o solo usado no experimento 2, cuja análise química é apresentada no Quadro 1.

Para se evitar uma possível deficiência de cálcio, todos os vasos receberam uniformemente 280 mg de sulfato de cálcio, além dos seguintes nutrientes: 490,00 mg de KH_2PO_4 ; 420,00 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 44,24 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 24,92 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2,80 mg de H_3BO_3 ; 1,40 mg de $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e 56,00 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Foram plantadas 8 sementes esterilizadas, por vaso, que foram inoculadas com 2 ml de culturas líquidas de 7 dias de idade, das estirpes de *Rhizobium* correspondentes. Posteriormente, fêz-se desbaste para três plantas por vaso.

As plantas foram colhidas 50 dias após o plantio, tendo sido determinado o número e peso seco (65°C)

dos nódulos e o peso seco (65°C), teor de nitrogênio e de manganês das plantas. O nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl. O manganês foi determinado a partir do produto de digestão para determinação do nitrogênio (método de Kjeldahl), diluído para 20 ml. Após decantação pipetaram-se 5 ml do líquido sobrenadante, ao qual se adicionaram 4 ml de HNO_3 concentrado, aproximadamente 100 mg de KIO_4 e aqueceu-se em banho-maria por 30 minutos. Com a solução resultante fêz-se leitura colorimétrica, usando-se filtro de 540 milimicra, comparando-se esta leitura com curva padrão.

Experimento 2. O segundo experimento, teve como objetivo comparar o efeito da diluição do solo da série Ecologia com o da calagem. Este experimento teve um esquema experimental de blocos ao acaso, com 3 repetições e os seguintes tratamentos:

- cinco diluições solo-areia: 4:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:4;
- cinco níveis de calagem elevando o pH do solo ao pH de cada tratamento de diluição;
- duas variedades de soja: Abura e Pelicano;
- duas estirpes de *R. japonicum*: SM1b e R54a.

Foram usados vasos plásticos com 2,8 kg de solo, areia ou solo mais areia, conforme o tratamento e a mesma adubação básica do experimento 1, excluindo-se a aplicação do gesso. A areia usada foi do Rio Guandu e o solo foi retirado do mesmo local do experimento 1. A análise do solo, 30 dias após adubado e com dosagens crescentes de CaCO_3 (resultado no Quadro 1), foi efetuada pelo Setor de Solos do IPEACS, na seguinte maneira:

P: extraído segundo Bray e dosado colorimetricamente após redução do fosfomolibdato de amônio com ácido ascórbico;

K: extraído segundo Bray e dosado por fotometria de chama;

Ca^{++} + Mg^{++} : extraídos com KCl 1N e dosados com EDTA empregando murexida, e negro de eriocromo como indicadores;

Al^{+++} : extraído com KCl 1N e dosado com NaOH , tendo como indicador o azul de bromotimol;

Mn^{++} : extraído o Mn facilmente reduzível com acetato de amônio e hidroquinona e dosado por colorimetria após oxidação com periodato de potássio.

QUADRO. 1. Análise química de solo da série Ecologia (gray hydromorphic) 30 dias após adubado com P, K e micronutrientes, com 5 níveis de calagem

CaCO_3 (ppm)	Fósforo (P) (ppm)	Potássio (K) (ppm)	mE Ca^{++} + Mg^{++} (100 cm^3 solo)	mE Al^{+++} (100 cm^3 solo)	Mn^{++} (ppm)	pH
0	29	58	0,7	00	65	5,3
500	29	68	1,4	00	65	6,9
1.000	33	68	1,6	00	89	7,1
1.500	29	66	1,7	00	89	7,4
2.000	31	70	1,9	00	71	7,5

QUADRO 2. Comportamento de duas estirpes de *Rhizobium* em simbiose com duas variedades de soja, em solo ácido com toxidez de Mn, diluído com areia (Exp. 1) (médias de três repetições)

Variedades de soja	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Relação solo-areia	Plantas				Nódulos		
			P. seco (g/vaso)	N (%)	N total (mg/vaso)	Mn (ppm)	n.º vaso	P. seco (mg/vaso)	P. médio (mg/nódulo)
Pelicano	R54a	4:0	1,9	2,7	51	4.280	6	18,7	4,5
		3:1	2,8	2,0	56	3.710	27	64,0	2,1
		1:3	6,6	2,9	195	660	94	814,6	10,1
		0:4	9,4	2,7	247	320	132	778,7	5,9
	SM1b	4:0	2,3	2,5	54	4.890	6	18,6	2,9
		3:1	3,9	1,6	59	2.300	36	118,6	2,9
		1:3	7,9	2,8	207	590	128	785,7	6,1
		0:4	7,3	3,2	233	410	110	808,6	7,5
Abura	R54a	4:0	2,3	2,3	54	4.210	34	86,3	3,6
		3:1	5,4	2,2	125	2.090	122	384,7	3,9
		1:3	8,0	3,3	266	590	93	838,3	9,2
		0:4	10,3	3,2	327	440	120	1.050,0	9,0
	SM1b	4:0	2,8	2,8	70	5.530	26	86,0	3,3
		3:1	4,5	1,9	89	2.710	39	172,6	3,8
		1:3	7,6	3,0	237	610	77	724,0	10,2
		0:4	10,1	3,0	302	380	146	955,0	6,7

QUADRO 3. Comportamento de duas estirpes de *Rhizobium* em simbiose com duas variedades de soja, em solo ácido com toxidez de Mn, diluído com areia (Exp. 1) (Análise da variância: valores F)

F.V.	GL	Plantas				Nódulos		
		P. seco	N% ^a	N total	Mn ppm	N. ^b	P. seco ^b	P. médio ^b
Dil.	3	165,67 ⁺⁺	15,49 ⁺⁺	139,32 ⁺⁺	34,67 ⁺⁺	30,44 ⁺⁺	143,35 ⁺⁺	8,59 ⁺⁺
Var.	1	14,15 ⁺⁺	2,15	25,53 ⁺⁺	—	6,19 ⁺⁺	13,30 ⁺⁺	1,84
Inoc.	1	—	—	—	—	—	—	—
V x I	1	—	—	—	—	3,76	4,68 ⁺⁺	—
V x D	3	1,39	—	2,17	—	3,90 ⁺	2,39	—
I x D	3	1,64	1,36	—	—	—	—	—
V x I x D	3	2,14	1,02	—	—	2,92 ⁺	1,30	1,04
Res.	31	—	—	—	—	—	—	—
C.V.		18,7%	8,8%	19,8%	17,9%	22,5%	17,3%	20,8%

^a Valores transformados para \sqrt{n}

^b Valores transformados para $\sqrt{n+1}$

A equivalência de pH nos tratamentos de diluição e calagem (Quadro 4 e 5) foi obtida fazendo-se uma curva com dosagens crescentes de CaCO₃ no solo 30 dias após a adubação e mantida a umidade na capacidade de campo. Colocaram-se 100 g de solo em copo plástico com 0 - 62,5 - 125,0 - 250,0 e 500,0 ppm de CaCO₃ e manteve-se inundado durante 4 dias. Após este período fez-se a leitura em um potenciômetro Beckman sendo os pH respectivamente 5,2 - 6,1 - 6,4 - 6,8 e 7,1.

As diluições do solo com areia, 30 dias após adubadas e com umidade mantida na capacidade de campo, apresentaram pH 5,0 - 5,1 - 5,5 - 5,8 e 6,0 respectivamente para 4:0 - 3:1 - 1:1 - 1:3 e 0:4 de solo-areia.

Devido ao pH do solo sem calagem ter variado de 5,0 a 5,3 e o pH da diluição 3:1 solo-areia estar dentro desta faixa e o solo não apresentar quase nenhum poder tampão (com 62,5 ppm de CaCO₃ o

QUADRO 4. *Eficácia da simbiose de Rhizobium-soja em solo ácido com toxidez de Mn, diluído em areia (Exp. 2) (média de três repetições)*

Variedades de soja	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Diluição solo-areia	pH do solo		Plantas					Nódulos		
			Inicial	Final	Tox. de Mn* (%)	P. seco (g/vaso)	N (%)	N total (mg/vaso)	Mn (ppm)	n.º vaso	P. seco (mg/vaso)	P. médio (mg/vaso)
Pelicano	R54a	4:0	5,0	5,5	100	2,2	2,35	53	2.450	37	107	3,0
		3:1	5,3	5,7	3	4,5	2,19	101	566	72	191	2,4
		1:1	5,7	5,9	0	7,4	2,55	190	350	111	566	5,2
		1:3	6,0	5,9	0	8,2	2,56	207	340	114	542	4,7
		0:4	6,3	6,3	0	8,8	2,57	219	226	114	600	5,4
	SM1b	4:0	5,0	5,9	92	2,2	2,19	50	2.433	19	44	1,4
		3:1	5,3	5,6	0	5,8	1,85	107	546	75	416	5,1
		1:1	5,7	6,2	0	5,8	2,48	146	800	129	633	4,8
		1:3	6,0	5,9	0	8,5	2,53	217	306	174	1.100	6,6
		0:4	6,2	6,3	0	9,6	2,30	216	226	155	900	5,8
Abura	R54a	4:0	5,0	6,2	86	2,6	1,67	51	2.020	6	2	0,1
		3:1	5,4	5,7	0	6,8	1,67	116	473	51	234	4,2
		1:1	5,7	5,7	0	9,0	2,52	230	366	97	416	4,5
		1:3	5,9	5,7	0	11,5	2,39	277	290	70	423	5,6
		0:4	6,2	6,0	0	10,1	1,87	192	196	78	500	6,5
	SM1b	4:0	5,0	6,2	69	2,7	1,71	47	1.873	17	22	1,0
		3:1	5,3	5,5	0	5,8	2,00	116	586	56	256	4,1
		1:1	5,7	5,9	0	7,8	1,99	152	286	90	477	5,1
		1:3	6,1	5,7	0	8,9	2,09	188	256	117	866	7,6
		0:4	6,3	6,0	0	10,6	2,48	258	193	128	866	6,7

* Sintomas de toxidez de Mn tomados por valores de 1 a 3, sendo considerado 100% quando tôdas as plantas das 3 repetições foram classificadas com toxidez máxima no experimento.

QUADRO 5. *Eficiência da simbiose Rhizobium-soja em solo ácido com toxidez de Mn, em cinco tratamentos de calagem (Exp. 2) (Média de três repetições)*

Variedades de soja	Estirpes de <i>Rhizobium</i>	Calagens (ppm de CaCO ₃)	pH do solo		Plantas					Nódulos		
			Inicial	Final	Tox. de Mn* (%)	P. seco (g/vaso)	N (%)	N total (mg/vaso)	Mn (ppm)	n.º vaso	P. seco (mg/vaso)	P. médio (mg)
Pelicano	R54a	0	5,0	5,5	100	2,2	2,35	53	2.450	37	107	3,0
		0	5,1	6,0	100	2,0	2,20	44	2.550	14	47	2,9
		35	5,3	5,8	94	3,1	2,52	78	1.273	55	139	2,6
		107	5,7	5,8	38	5,3	2,14	113	1.020	80	370	4,5
		178	6,3	6,2	0	6,8	2,09	143	400	91	533	5,8
	SM1b	0	5,0	5,9	92	2,2	2,19	50	2.433	19	44	1,4
		0	5,2	6,0	100	2,2	1,72	39	1.784	1	1	0,1
		35	5,3	5,7	69	4,8	1,85	90	1.353	72	196	3,2
		107	5,4	5,8	49	4,2	1,97	84	1.253	84	310	3,5
		178	6,3	6,4	0	5,5	2,10	118	806	136	633	4,7
Abura	R54a	0	5,0	6,2	86	2,6	1,67	51	2.020	6	2	0,1
		0	5,5	6,7	74	2,3	2,36	54	2.233	7	16	1,2
		35	5,3	6,0	60	4,1	1,56	61	1.860	15	22	1,6
		107	5,6	6,6	42	4,6	1,40	66	1.220	15	39	1,5
		178	6,5	6,4	0	6,7	2,52	168	506	59	277	6,1
	SM1b	0	5,0	6,2	69	2,7	1,71	47	1.873	17	22	1,0
		0	5,1	5,7	63	3,2	2,05	66	1.373	2	1	0,1
		35	5,4	6,0	61	4,0	1,49	60	1.293	18	32	1,0
		107	6,0	6,3	58	4,0	1,72	70	1.186	6	54	3,7
		178	6,5	6,5	0	6,3	1,58	106	426	45	248	5,9

* Sintomas de toxidez de manganês tomados por valores de 1 a 3, sendo considerado 100% quando tôdas as plantas das três repetições foram classificadas com toxidez máxima no experimento.

pH foi de 5,2 a 6,1), não foi efetuada a calagem do solo de tratamento com pH equivalente à diluição 3:1 solo-areia.

Foram plantadas 8 sementes esterilizadas por vaso as quais foram inoculadas com 2ml de cultura líquida de 7 dias das estirpes de *Rhizobium* correspondentes. Posteriormente, fêz-se desbaste para duas plantas por vaso.

As plantas foram colhidas 50 dias após o plantio, sendo feitas determinações como no experimento 1.

Para facilitar a interpretação dos dados e permitir a análise estatística, como fatorial $5 \times 2 \times 2$, este experimento foi desdobrado conforme aparece nos Quadros 6 e 7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando os resultados do Experimento 1, apresentados no Quadro 2, e a análise de variância no Quadro 3, verifica-se que a diluição de solo com areia aumentou o pêsso, N% e N total das plantas,

QUADRO 6. *Interação variedades x calagens em número e pêsso de nódulos e na % de N e ppm de Mn nas plantas (Exp. 2)**

	Variedade soja	Calagens-ppm de CaCO ₃				
		0	0	35	107	178
% de N	Pelicano	4,54	3,92	4,37	4,11	4,19
	Abura	3,38	4,41	4,05	3,12	4,10
N.º de nod.	Pelicano	56	15	127	164	227
	Abura	23	9	33	21	109
Pêsso de nod. (mg)	Pelicano	151	48	335	680	1.166
	Abura	24	17	54	93	525
ppm de Mn	Pelicano	4.883	4.334	2.626	2.273	706
	Abura	3.893	3.606	3.153	2.406	932

* Soma de valores médios das duas estirpes de *Rhizobium*.

QUADRO 7. *Simbiose de Rhizobium-soja em solo ácido com toxidez de Mn, diluído em areia (Exp. 2) (Análise da variância: valores F)*

F. Variação	GL	Plantas				Nódulos		
		P. seco	N (%)	N total	Mn (ppm)	n.º	P. seco*	P. médio*
Var.	1	9,265 ⁺	11,064 ⁺⁺	—	16,029 ⁺⁺	17,447 ⁺⁺	8,742 ⁺⁺	—
Inoc.	1	—	—	—	—	5,234 ⁺	14,363 ⁺⁺	2.461
Dil.	4	38,320 ⁺⁺	4,730 ⁺⁺	49,063 ⁺⁺	619,138 ⁺⁺	44,438 ⁺⁺	65,151 ⁺⁺	26.223
V x I	1	—	—	—	—	—	—	—
V x D	4	—	—	—	9,787 ⁺⁺	—	—	2.426 ⁺
I x D	4	—	—	2,922 ⁺	—	—	3,605 ⁺	—
Resíduo	42							
C.V.		24%	15%	24%	17%	17%	20%	14%

* Valores transformados para $\sqrt{n+1}$

QUADRO 8. Simbiose de *Rhizobium-soja* em solo ácido com toxidez de Mn, em 5 tratamento de calagem (Exp. 2) (Análise da variância: valores F)

F. Variação	GL	Plantas				Nódulos		
		P. seco	N (%)	N total	Mn (ppm)	n.*	P. seco	P. médio*
Var.	1	—	9,289++	—	3,892	46,665++	84,273++	7,627++
Inoc.	1	—	9,849++	2,782	4,913+	—	—	—
Cal.	4	40,500++	—	23,891++	73,882++	24,448++	56,129++	14,469++
V x I	1	—	—	—	—	—	—	3,984
V x Cal.	4	—	3,281++	2,215	2,656+	4,114++	5,514++	—
I x Cal.	4	2,295	—	2,005	5,106+	—	—	—
Resíduo	42							
C.V.		22%	18%	44%	20%	31%	31%	23%

* Valores transformados para $\sqrt{n+1}$

e o número, peso seco e peso médio dos nódulos, como ainda diminuiu a concentração do manganês nas plantas.

A variedade Abura apresentou, com ambas as estirpes, maior peso seco, N% e N total nas plantas, e maior número e peso dos nódulos do que a variedade Pelicano. A estirpe R54a apresentou maior nodulação na simbiose com a variedade Abura do que com a variedade Pelicano, o mesmo não acontecendo com a estirpe SMIb (interação variedade x inoculante).

O número de nódulos representa uma medida do início da formação dos nódulos e pode ser tomado como um indicador da tolerância do *Rhizobium* à toxidez de manganês. Através da interação significativa variedade x diluição x inoculante, no número de nódulos, verificou-se ser o início da formação dos nódulos na variedade Abura menos prejudicado com a estirpe R54a do que com SMIb, o mesmo não ocorrendo na variedade Pelicano. Diferenças entre estirpes de *R. phaseoli* em relação à tolerância à toxidez de manganês, já foram anteriormente observadas (Döbereiner 1966).

Pelos dados relativos ao peso médio dos nódulos, verificou-se que a toxidez de manganês, além do efeito no início da formação dos nódulos, prejudicou, sensivelmente, o seu desenvolvimento.

O nitrogênio percentual na planta é uma medida do seu estado de nutrição nitrogenada no momento da colheita. No presente experimento observou-se uma deficiência de nitrogênio na diluição 3:1 de solo-areia. Por outro lado, notou-se um aumento do

peso seco das plantas com esta primeira diluição. Estes resultados poderiam ser interpretados pelo fato de esta concentração de manganês não inibir mais o desenvolvimento das plantas mas sim a simbiose.

Nos vasos sem diluição de solo o N% não indicou deficiência deste elemento; pois a toxidez de manganês, antes da fixação, parece ter inibido o próprio desenvolvimento da planta.

Em trabalho anterior sobre calagem de um solo com toxidez de manganês, Döbereiner (1966) observou aumento de 123% de nitrogênio total nas plantas de soja inoculadas e de 63% nas não inoculadas, quando no mesmo experimento o feijoeiro sofreu aumentos de 339% e 79% respectivamente. No presente experimento, o aumento de nitrogênio total devido à diluição de solo com areia na relação 1:3 foi de 291%. Este efeito tão pronunciado se explica pela maior toxidez do solo usado, apresentando de 4.000 a 5.000 ppm de manganês nas plantas enquanto naquele trabalho tinha sido em torno de 1.000 ppm.

Os resultados do Experimento 2 confirmaram os efeitos pronunciados da diluição do solo tóxico com areia (Quadro 4) e permitem ainda compará-las com calagens que levaram o solo a níveis de pH equivalentes aos obtidos com a diluição (Quadro 5). Pode-se verificar que o efeito das diluições foi muito mais pronunciado que o da calagem, mesmo em níveis de pH equivalentes. Isto fica aparente tanto nos sintomas (% toxidez de manganês) como no teor de manganês nas plantas, como ainda na conseqüente nodulação, fixação de nitrogênio e crescimento das plantas (Quadros 4 e 5). Esta diferença poderia ser explicada por um efeito acumulativo da diminuição

do nível de manganês na solução do solo devido à diluição, de um lado, e por um aumento da absorção do manganês pela maior disponibilidade de cálcio nos tratamentos de calagem, pelo outro. Tal aumento foi observado em experimentos com aplicação de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) por Schmehl *et al.* 1950.

Verifica-se na Fig. 1 que a absorção de manganês, além do pH do solo, dependia de outros fatores. Enquanto nos vasos com calagem a absorção do manganês decresceu quase linearmente com o aumento do pH do solo, o efeito de diluição do solo com areia se manifestou curvilíneo. Assim sendo, principalmente nos níveis de pH intermediários (pH 5,3 a 6,0), as plantas nos vasos com calagem, no mesmo pH, absorveram muito mais manganês que as plantas nos vasos de diluição.

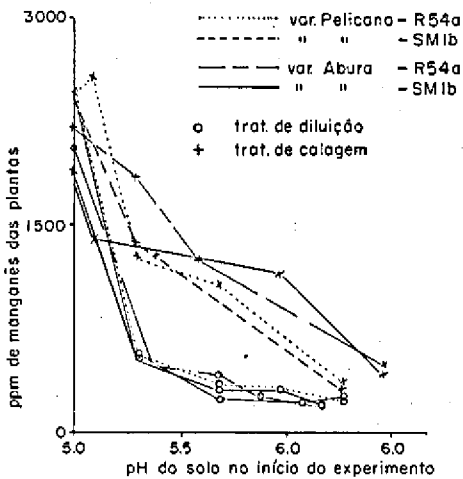


FIG. 1. Absorção de manganês pelas plantas correlacionada com o pH inicial do solo nos tratamentos de diluição e calagem no experimento 2 (média de 3 repetições).

Independentemente dos tratamentos parece ter havido maior interferência de fatores incontroláveis quando foi feita calagem do que quando o solo foi diluído com areia, no que se refere às medidas da simbiose (nodulação e N total nas plantas), pois nestas medidas o coeficiente de variação foi mais alto nos vasos com calagem (Quadros 7 e 8). A quantidade de manganês oxidado pela elevação do pH com a calagem também não pode ser estimada pela análise do solo através do chamado manganês facilmente disponível, não se achando nenhuma correlação entre os valores de Mn no solo encontrados e os realmente absorvidos (Quadros 1 e 5).

Mas apesar de todas estas interferências, notou-se um efeito pronunciado da calagem no número, peso total e peso médio dos nódulos como também no peso e nitrogênio total das plantas, que parece consequência da diminuição da absorção de manganês.

Como no Experimento 1, o teor de nitrogênio (N%) no tratamento de diluição 3:1 foi menor, indicando nesta concentração de manganês efeito específico sobre a simbiose, sem afetar o desenvolvimento da planta em si (Quadro 4). No mesmo quadro verifica-se ainda que neste experimento valores de 400 a 600 ppm de Mn nas plantas parecem suficientes para afetar a simbiose enquanto concentrações maiores são necessárias para prejudicar o crescimento da planta. Estes valores são abaixo dos observados no Experimento 1 o que possivelmente se deve à aplicação do gesso naquele experimento. Maior tolerância à toxidez de manganês com maior absorção de cálcio já foi observada por Quelette e Dessureaux (1958). Estão aqui em jogo dois fenômenos aparentemente opostos, isto é, de um lado o sinergismo entre os íons Ca^{++} e Mn^{++} na absorção, como citado acima (Schmehl *et al.* 1950) e a maior tolerância a concentrações elevadas de Mn na planta com maior concentração de Ca^{++} "ativo" nas raízes, como designado por Quelette e Dessureaux (1958), do outro.

Foi significativa a interação calagem x variedades no N% e no número e peso dos nódulos, como pode ser visto nos Quadros 6 e 8. No Quadro 6 são apresentadas em conjunto estas interações junto com a do teor de manganês da planta e número e peso de nódulos que também foram significativas. Pode-se observar que os dois primeiros níveis de calcário (35 e 107 ppm) na variedade Pelicano permitiram uma nodulação e fixação de nitrogênio considerável, enquanto na variedade Abura isto somente ocorreu com a dosagem máxima de calcário. Parece tratar-se de um efeito sobre a iniciação dos nódulos pois aparece mais claro no número de nódulos. O teor de N nos vasos sem calagem aqui não deveria ser tomado em consideração pois não provinha da fixação mas sim da reserva das sementes, como pode ser visto no peso reduzido das plantas. A forte inibição da nodulação na variedade Abura nos vasos com calagem, que mesmo com a máxima dosagem de calcário não foi eliminada, pode ser observado também na Fig. 2. Esta maior sensibilidade da variedade Abura não se verificou nos vasos com diluição e parece ser explicada pelo teor de manganês relativamente mais alto nesta variedade, nos vasos com calagem, o que indicaria sinergismo Ca^{++} Mn^{++} mais pronunciado nesta variedade (interação variedades x calagem) Quadros 6 e 8. Nos vasos sem calagem, o teor de Mn na variedade Abura foi mais baixo que o da variedade Pelicano. Diferenças entre variedades na tolerância da simbiose à toxidez de manganês, também relacionadas com a metabolização do cálcio, já foram observadas em soja perene (*Glycine javanica*) (Souto & Döbereiner 1968).

Nos vasos sem calagem, observou-se ainda que as plantas, quando em simbiose com a estirpe de *Rhizobium* R54a, absorveram mais manganês do que aquelas em simbiose com a estirpe SM1b, desaparecendo esta diferença com a calagem (interação estirpes x calagem). Diferenças entre estirpes de *Rhizobium phaseoli* na indução de maior ou menor absorção de manganês tóxico pela planta foram atribuídas a diferenças na composição dos amino-ácidos produzidos da fixação e incorporação de N₂ (Döbereiner 1963).

Ainda na Fig. 2 e nos Quadros 7 e 8 observa-se maior peso nodular das plantas inoculadas com a estirpe SM1b que das correspondentes inoculadas com a estirpe R54a, quando a toxidez de Mn foi eliminada com a diluição do solo (interação inoculantes x diluição).

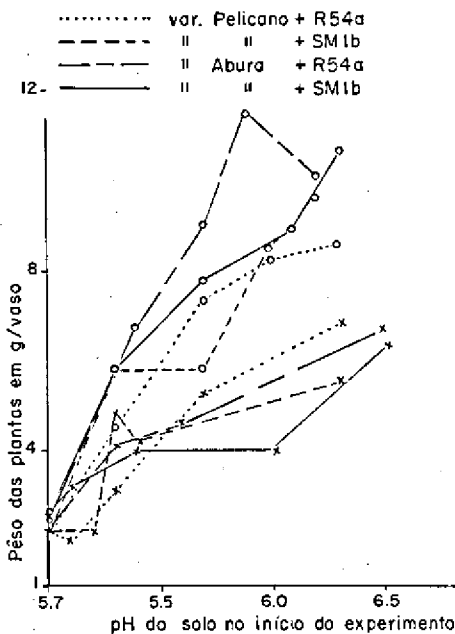


FIG. 2. Peso dos nódulos correlacionado com o pH inicial do solo nos tratamentos de diluição e calagem no experimento 2 (média de 3 repetições).

O peso médio dos nódulos representa uma medida do tamanho médio dos nódulos, isto é, avalia o desenvolvimento dos nódulos uma vez iniciados. Observaram-se diferenças altamente significativas também nestas medidas, principalmente devidas à diluição ou calagem. Nos vasos com calagem, a variedade Pelicano apresentou nódulos maiores que a variedade Abura, mas a eliminação da toxidez de manganês pela diluição do solo estimulou o desenvolvimento dos nódulos da variedade Abura mais que os da variedade Pelicano (interação variedade x di-

lução, Quadro 7), confirmando isto a maior sensibilidade da variedade Abura à toxidez de manganês.

Sendo a fixação de nitrogênio dependente do tecido nodular disponível, era de se esperar que efeitos tão pronunciados na nodulação também se manifestassem no nitrogênio fixado e no desenvolvimento das plantas (Quadros 4 e 5). Como na nodulação, o efeito da diluição do solo como areia foi muito mais efetivo na eliminação da toxidez de manganês que a calagem (Fig. 3 e 4). Na Fig. 4 pode-se observar que a fixação de nitrogênio aumentou linearmente com o pH do solo, podendo ser calculadas regressões lineares do N total nas plantas sobre o pH do solo altamente significativas e que apresentam duas linhas de regressão com "slope" significativamente diferente ($t = 2,67^*$). Dos coeficientes de regressão (b) se pode concluir que para cada unidade de pH que aumentou através da diluição, a fixação de N aumentou de 142 mg, enquanto a calagem aumentou de somente 56 mg a fixação de N por unidade de pH. Finalmente correlacionando o nitrogênio fixado com a toxidez de manganês independentemente da diluição ou calagem no Experimento 2, observa-se uma só curva (Fig. 5) com forma semelhante à da absorção do manganês com o pH do solo (Fig. 1), mas onde desaparece a diferença entre calagem e diluição. Fica bem aparente a dependência da fixação de nitrogênio do teor de manganês da planta, apresentando-se em forma de uma relação hiperbólica. Como devia ser esperado neste tipo de curva, não se observando valores zero, pois mesmo com inibição completa da fixação, há ni-

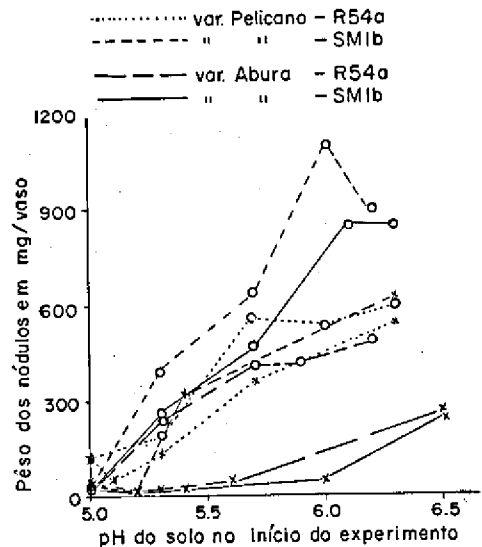


FIG. 3. Peso das plantas correlacionado com o pH inicial do solo nos tratamentos de diluição e calagem no experimento 2 (média de 3 repetições).

trogênio proveniente da semente (aprox. 50 mg); neste caso e abaixo de certa concentração, 600 ppm de Mn neste experimento, não ocorreu inibição da fixação de nitrogênio.

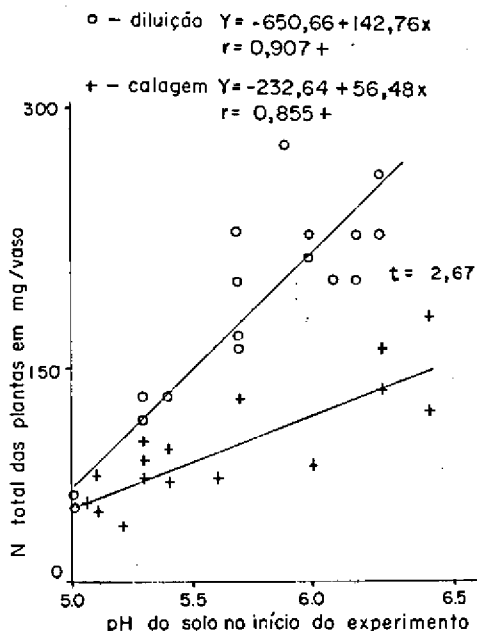


FIG. 4. Regressão de nitrogênio total das plantas sobre o pH inicial do solo, nos tratamentos de diluição e calagem no experimento 2 (média de 3 repetições).

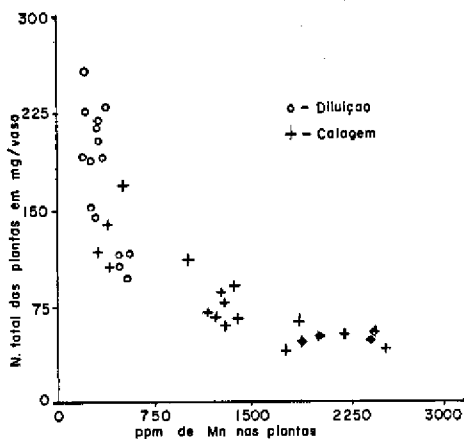


FIG. 5. Nitrogênio total das plantas correlacionado com o ppm de manganês das mesmas nos tratamentos de diluição e calagem do experimento 2 (média de 3 repetições).

Em trabalho anterior com feijão, foi obtida uma curva semelhante (Döbereiner & Alvaehdo 1966) que aparentemente pode ser transformada em uma reta colocando os valores de N fixado em escala logarítmica.

Se no presente experimento os valores de ambas as coordenadas são colocados em escala logarítmica, esta curva se transforma em uma reta com um coeficiente de correlação igual a 0,935⁺⁺ (Fig. 6). Daí se pode tentar calcular neste tipo de experimento o efeito da toxidez de manganês na fixação de nitrogênio pela equação da reta $Y = a + bX$ e onde $\log N \text{ fixado} = 3,826 - 0,635 \log Mn \text{ na planta}$. É evidente que esta equação somente pode ser aplicada quando a toxidez de Mn é fator limitante da fixação de N.

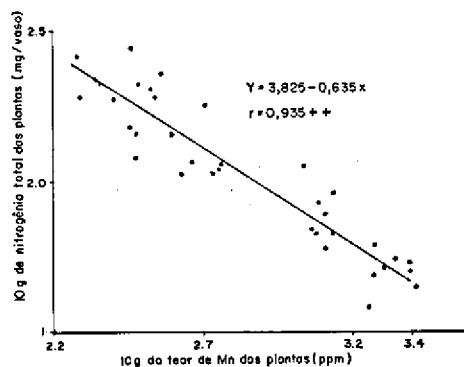


FIG. 6. Regressão do logaritmo do nitrogênio total das plantas sobre o logaritmo do teor de manganês das mesmas, no experimento 2 (média de 3 repetições).

Devido aos resultados obtidos, sugere-se que ao fazer a calagem para o plantio da soja, além do pH propriamente dito e do alumínio, seja também considerado o manganês do solo.

REFERÊNCIAS

- Catani, P.A. & Gallo, J.A.R. 1951. A extração de manganês e suas formas de ocorrência em alguns solos do Estado de S. Paulo. *Bragantia* 11:245-266.
- Davies, E.B. 1952. Minor element problems in New Zealand. *Proc. int. Soil Fertility Meeting, Dublin, Vol. 1, p. 167-179.*
- Döbereiner, J. 1963. Manganese toxicity in the *Rhizobium* bean symbiosis (*Phaseolus vulgaris* L.). M.S. thesis, Univ. Wisconsin. 137 p.
- Döbereiner, J. 1968. Manganese toxicity effects on nodulation and nitrogen fixation of beans (*Phaseolus vulgaris* L.), in acid soils. *Plant and Soil* 24:153-166.
- Döbereiner, J. & Alvaehdo, R. 1966. Eliminação da toxidez de manganês pela matéria orgânica em solos "gray hydromorphics". *Pesq. agropec. bras.* 1:243-248.
- Kliwer, W.M. 1961. The effects and interactions of various combinations of molybdenum, aluminum, manganese, phosphorus, nitrogen, calcium, hydrogen ion concentration, lime and *Rhizobium* strain on growth, composition and nodulation of several legumes. Ph. D. thesis, Cornell Univ. 212 p.
- Morris, H.D. & Pierre, W.H. 1947. Effect of calcium, phosphorus and ions on the tolerance of lespedeza to manganese toxicity in culture solution. *Soil Sci. am. Proc.* 12:362-386.
- Morris, H.D. 1948. The soluble manganese content of acid soils and its relation to the growth and manganese content of sweet clover and lespedeza. *Soil Sci. Soc. am. Proc.* 13:362-371.
- Paiva Neto, J.E. 1941. O manganês e os solos do Estado de S. Paulo. *Revta Agron.* 16:515-583.

- Quellette, G.L., & Dessureaux, L. 1958. Chemical composition of alfalfa as related to the degree of tolerance to manganese and aluminum. *J. Plant Sci.* 38:206-214.
- Schmehl, W.R., Peech, M. & Bradfield, R. 1950. Causes of poor growth of plants in acid soils and beneficial effects of liming I. Evaluation of factors responsible for acid soil injury. *Soil Sci.* 70:393-410.
- Schmehl, W.R., Peech, M. & Bradfield, R. 1952. Influence of soil acidity on absorption of calcium by alfalfa as revealed by radiocalcium. *Soil Sci.* 73:11-21.
- Souto, S.M. & Döbereiner, J. 1968. Toxidez de Mn em leguminosas forrageiras tropicais. *Anais IV Reun. lat.-am. Inocul. Leguminosas, Porto Alegre.*
- Spencer, D. 1950. The effects of calcium and soil pH in nodulation of *T. subterraneum* L. clover on yellow podsol. *Aust. J. agric. Res.* 1:374-381.
- Vose, P.B. & Jones, D.G. 1963. The interaction of manganese and calcium on nodulation and growth in varieties of *Trifolium repens*. *Plant and Soil* 18:372-401.

MANGANESE TOXICITY IN AN ACID SOIL AFFECTING THE SOYBEAN-*Rhizobium* SYMBIOSIS

Abstract

In two greenhouse experiments a soybean growth and nitrogen fixation with *Rhizobium japonicum* were conducted on a soil high in manganese. The soybean plants showed a high manganese toxicity to the soil. Dilution of the soil with sand increased nitrogen fixation and plant growth 4 to 6 times and the addition of lime 2 to 3 times. Nodule number, weight and size were even more affected by manganese toxicity.

Manganese absorption by the plant was found to be dependent on the dilution, soil pH and other uncontrolled factors. Nodulation and nitrogen fixation were more sensitive to manganese toxicity than plant growth. Soybean varieties and strains of *Rhizobium* varied as to their tolerance to manganese toxicity and absorption of manganese by the plant.