

## EFEITO DA TEMPERATURA DO SOLO NA NODULAÇÃO E NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA PERENE (*Glycine javanica* L.)<sup>1</sup>

EGÍDIO FERRARI<sup>2</sup>, SEBASTIÃO MANHÃES SOUTO<sup>3</sup> e JOHANNA DÖBEREINER<sup>4</sup>

### Sumário

Foi realizado um experimento de casa de vegetação que teve como finalidade estudar a influência da temperatura do solo e de fontes de nitrogênio no desenvolvimento de cinco variedades de soja perene (*Glycine javanica*).

Tanto para as determinações de peso e nitrogênio total das plantas como da nodulação, a interação nitrogênio x temperaturas foi altamente significativa demonstrando efeitos específicos da temperatura nas plantas dependentes do nitrogênio atmosférico fornecido pela simbiose. Enquanto as plantas adubadas com nitrogênio foram estimuladas no seu desenvolvimento pelo aumento das temperaturas do solo, a nodulação, o teor de nitrogênio e o nitrogênio total das plantas nos vasos sem N foi prejudicado por temperaturas máximas diurnas entre 35 e 40° C. As cinco variedades de soja perene se comportaram idênticamente.

Discutiu-se a pronunciada sensibilidade da soja perene a fatores ambientais como da temperatura, os quais, em muitos casos, devem ser a causa das dificuldades de estabelecimento da soja perene na Baixada Fluminense.

### INTRODUÇÃO

A soja perene (*Glycine javanica*), por se caracterizar como de uma versatilidade capaz de atingir, de pronto, o interesse primordial do homem, que é a parte econômica, tem a sua aplicabilidade maior nas pastagens consorciadas ou mistas.

Trata-se de um tipo de pastagens em que a graminea se consorcia a uma leguminosa. A soja perene entra neste processo porque é capaz de dar as pastagens a prosperidade procurada, de emprestar-lhe maior longevidade e de conciliar o verde do inverno com as desejáveis concentrações de proteína através de sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico.

Além de outras vantagens em relação às três leguminosas forrageiras perenes até o presente recomendadas o kudzu comum (*Pueraria thumbergiana*),

kudzú tropical (*Pueraria javanica*) e jetirana (*Centrosema pubescens*) a soja perene produz apreciáveis quantidades de sementes por área, sementes essas de fácil colheita, quase que totalmente mecanizada, porque as vagens são indeiscentes.

Num pequeno teste de palatabilidade, no qual foram incluídas 16 leguminosas, Gullöve e Quinn (1963) verificaram a preferência dos animais pela forragem de soja perene em confronto com qualquer das demais estudadas nessa prova, o que lhe confere situação destacada no que se refere a êsse atributo de forrageira.

Diversos trabalhos em andamento na Seção Experimental de Agrostologia do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul, do Min. da Agricultura, com soja perene consorciada, nos anos de 1964 e 1965, mostram o não estabelecimento desta leguminosa, quando o seu plantio foi feito no período de outubro a fevereiro.

Um dos fatores principais da falta do estabelecimento desta leguminosa foi a deficiência de uma simbiose eficiente.

Para várias leguminosas já foram feitos trabalhos que mostravam a influência da temperatura na eficiência da simbiose (Mes 1959). Döbereiner e Aro-novich (1965) verificaram que para *Centrosema pubescens* temperaturas do solo acima de 30°C prejudicaram a nodulação, a fixação de nitrogênio e a produção de forragem.

<sup>1</sup> Trabalho recebido para publicação em 3 de maio de 1967 e constitui o Boletim Técnico n.º 47 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Foi apresentado ao I Simpósio Latino-Americano de Microbiologia do Solo, Rio de Janeiro. Subvencionado pela Aliança para o Progresso Projeto de Pesquisas - Ministério da Agricultura (Departamento de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias) USAID - Brasil (Instituto de Pesquisas IRI).

<sup>2</sup> Formando de 1966 da Escola Nacional de Agronomia e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

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

<sup>4</sup> Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS e bolsista do CNPq, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

Estirpes de *Rhizobium* indígenas e importadas, selecionadas para ervilha, comportaram-se diferentemente em relação a altas temperaturas e dessecação do solo, sendo que as indígenas foram mais tolerantes em condições adversas (Mes 1959).

Joffe *et al.* (1961), verificaram para *Arachis hypogea* e *Trifolium pratense*, que a fixação do nitrogênio atmosférico é processo termo-sensível, no qual o efeito da fixação é dependente de estreitos limites de temperaturas.

O presente estudo tem a finalidade de conhecer a influência de diferentes temperaturas no estabelecimento de variedades de soja perene quando inoculadas ou adubadas com nitrogênio mineral.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi feito um experimento, em vasos, sob condições controladas de casa de vegetação.

O esquema experimental foi de blocos partidos com três repetições e os seguintes tratamentos:

Nas parcelas: frio, médio e quente.

Nas sub-parcelas as variedades e fontes de N:

A	—	<i>Glycine javanica</i>	variedades	S. P. —1	} inoculado com, <i>Rhizobium</i>
B	—	»	»	Deodoro	
C	—	»	»	Tinaroo	
D	—	»	»	303	
E	—	»	»	Cooper	
F	—	»	»	Q — 363	
G	—	»	»	S. P. —1	} com adubação nitrogenada
H	—	»	»	Deodoro	
I	—	»	»	Tinaroo	
J	—	»	»	303	
K	—	»	»	Cooper	
L	—	»	»	Q — 363	

Para obter as diferentes temperaturas procedemos do seguinte modo:

a) a temperatura máxima (quente) foi obtida usando-se vasos de Mitscherlich (vasos de metal esmaltado); b) para se obter temperatura média usamos vasos de barro, pintado; c) obtivemos a temperatura mínima (frio) usando vasos de barro em refrigeração por evaporação, ou seja, vaso de barro embutido em outro maior e poroso, o espaço entre ambos sendo preenchido com areia mantida sempre úmida (Döbereiner & Pimenta 1964).

Obtivemos realmente três temperaturas diferentes, devido às altas temperaturas reinantes na região, como pode ser visto na Fig. 1.

As temperaturas foram tomadas no solo do interior dos vasos às 7:30h da manhã e às 2:00h da tarde.

O solo usado foi o classificado como "Gray hidromórfico", antigamente designado como série "Ecologia".

O solo em questão apresenta toxidez de manganês (Döbereiner & Alvahydo 1963) e foi colhido na profundidade de 0 a 40 cm.

Todos os vasos foram preenchidos com 3 kg de solo, sendo misturados 20 g de casca de arroz por kg de solo com a finalidade de abaixar o teor de nitrogênio mineral no solo e diminuir a toxidez de manganês.

Os vasos de barro foram pintados internamente com tinta a óleo preta, para evitar possíveis trocas ou retenção de elementos.

Determinamos a curva de neutralização do solo e fizemos uma calagem de 500 mg de  $\text{CaCO}_3$ , puro, por kg solo, para elevar o pH de 5,1 a aproximadamente 6,5.

Fizemos uma adubação básica constituída de 37,5 mg de P e 47,4 mg de K por kg de solo e uma de elementos menores empregando uma solução com a seguinte composição:

$\text{Na}_2\text{MoO}_4$ .....	1,75 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .....	37,50 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	3,95 g
$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	0,25 g
$\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .....	5,00 g
Acido cítrico .....	5,00 g
Água .....	250 ml

Usamos desta solução 1 ml por kg de solo.

Para os tratamentos que receberam adubação nitrogenada, usamos uma dosagem de 50 mg de N/kg de solo, em solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  colocada em cobertura.

O número de sementes por vaso foi calculado em relação ao peso de 100 sementes de cada variedade.

Os tratamentos com inoculante, o receberam no momento da sementeira e foi usado meio de cultura líquido.

A sementeira foi efetuada no dia 12 de março de 1966. A variedade SP-1 foi omitida dos quadros e cálculos estatísticos por não ter germinado satisfatoriamente.

Devido ao grande número de plantas, fizemos um desbaste deixando apenas 10 plantas por vaso. Tomamos 10 plantas desbastadas por vaso, secamos em estufa a 65°C e determinamos o peso.

O experimento foi colhido dois meses após a sementeira. Determinamos o número e o peso dos nódulos bem como suas posições nas raízes. O material foi secado em estufa a 65°C, pesado e determinado os teores de nitrogênio pelo método de Kjeldahl (semi-micro) e o teor de manganês colorimetricamente, após oxidação com periodato.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método usado para obter variações na temperatura mostrou-se satisfatório apesar da época do ano um pouco adiantada, como pode ser visto nas Figs. 1 e 2. Aos tipos de vasos usados em trabalhos anteriores (Döbereiner & Pimenta 1964), ainda foram acrescentados vasos de metal esmaltado nos quais, devido a falta de isolamento, a temperatura atingiu 40°C. Verifica-se na Fig. 1 uma diferença constante na temperatura do solo dos três tratamentos, que aumenta com o acréscimo da temperatura do ambiente, sendo que os vasos do tratamento "frio" se distanciavam mais dos do tratamento "médio" que os do médio do "quente". Isto confirma o efeito pronunciado do sistema de vasos de refrigeração por evaporação.

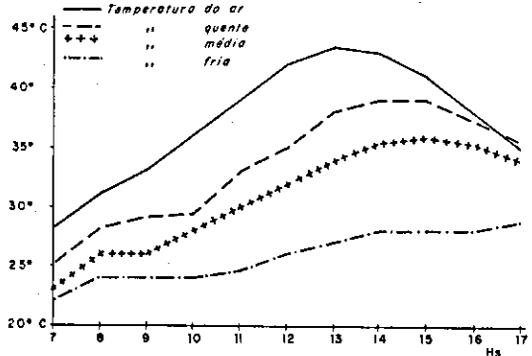


FIG. 1. Curvas das temperaturas do ar e no interior dos vasos, tiradas de hora em hora no dia 21 de março de 1966.

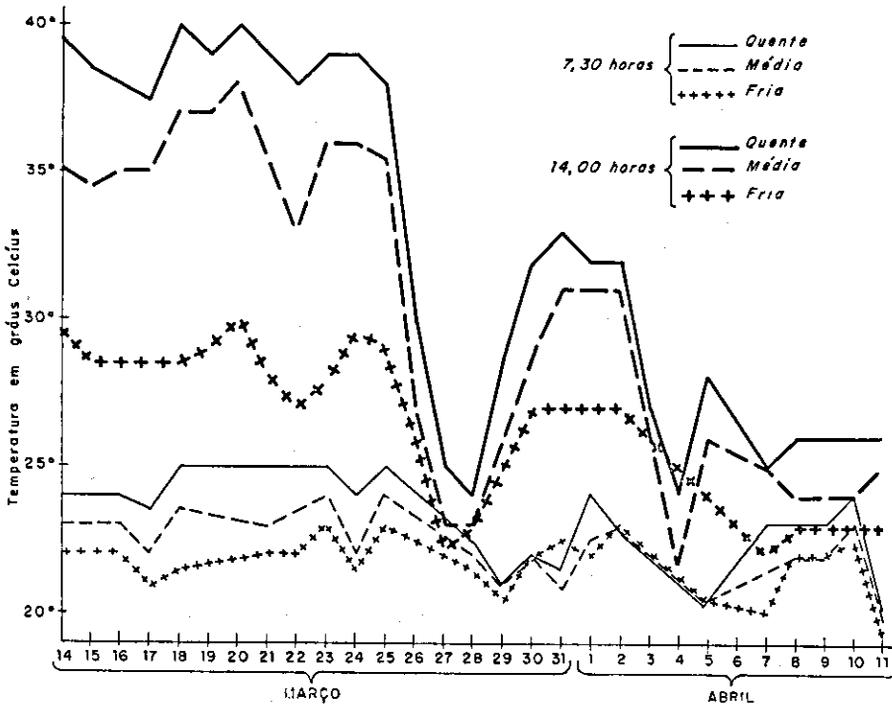


FIG. 2. Curvas das temperaturas do solo no interior dos vasos, durante o período de 14-3 a 11-4-66.

Na Fig. 2 são apresentadas as temperaturas medidas às 7:30 h e as medidas às 14:00 h durante o primeiro mês do experimento. Devido a época do ano adiantada, no segundo mês do experimento não se notaram mais temperaturas excessivas. Como na Fig. 1, notam-se diferenças acentuadas de temperatura do solo, nos três tratamentos, atingindo esta, entre frio a quentes, 11°C.

Os efeitos destes tratamentos de temperaturas no desenvolvimento da soja perene podem ser apreciados nos Quadros 1 e 2. Verifica-se em primeiro lugar que esta planta parece altamente sensível aos mais varia-

dos efeitos do ambiente, especialmente da temperatura do solo. Nos vasos com adubação nitrogenada, isto é, onde a planta se desenvolveu sem necessidade de uma fixação de nitrogênio atmosférico pela simbiose, o aumento da temperatura até a mais alta, proporcionou melhor desenvolvimento das plantas, sendo isto já aparente na época do desbaste (Quadro 1), apesar de ainda não significativo.

Nos vasos sem adubação nitrogenada, o fator limitante do desenvolvimento das plantas foi o nitrogênio fixado pela simbiose, e conseqüentemente os efeitos foram diferentes, pois foram indiretos (interação

N x temperatura). Devemos, aqui, separar entre dois efeitos, os que agiram sobre o crescimento da planta diretamente e os que agiram sobre o processo complexo da simbiose. Nestes últimos ainda podemos distinguir os efeitos sobre o desenvolvimento do *Rhizobium*

na rizosfera, revelados até certo ponto nos números e na posição dos nódulos, os efeitos sobre o desenvolvimento dos nódulos, que se mostraram no seu tamanho e peso total, e finalmente os efeitos sobre o processo da fixação em si.

QUADRO 1. Efeito da temperatura do solo no desenvolvimento da soja perene e na fixação do nitrogênio atmosférico (médias de 3 repetições)

Fontes de nitrogênio	Variedades	Peso seco de 10 plantas no desbaste (mg)			Peso seco das plantas no final (g/vaso)			Teor de N nas plantas (%)			N total nas plantas (mg/vaso)		
		Frio	Médio	Quente <sup>a</sup>	Frio	Médio	Quente	Frio	Médio	Quente	Frio	Médio	Quente
Inoculado com <i>Rhizobium</i>	Deodoro	135	129	130	1,50	2,70	0,90	2,95	2,27	2,70	44	61	25
	Tinaroo	131	154	125	1,03	2,60	0,90	2,94	2,50	2,17	30	65	19
	303	125	149	134	1,17	2,40	1,10	3,03	2,51	2,53	35	60	25
	Cooper	123	168	150	1,33	2,43	1,37	2,97	2,37	2,07	40	58	27
	Q — 363	118	125	116	1,10	2,66	1,40	2,91	2,33	2,20	32	61	29
50 ppm $\text{NH}_4\text{NO}_3$	Deodoro	112	119	167	1,83	3,20	3,70	2,34	3,25	2,95	42	103	108
	Tinaroo	153	165	206	1,77	3,30	4,27	2,55	2,96	2,46	44	98	102
	303	143	149	134	1,63	3,70	3,53	2,63	2,99	2,94	43	110	102
	Cooper	142	159	143	1,80	4,03	4,23	2,55	2,92	3,01	46	119	128
	Q — 363	137	132	159	1,80	2,93	3,70	2,37	3,13	3,05	46	92	109

<sup>a</sup> Diferenças de temperatura do solo obtidas pelo sistema de refrigeração por evaporação.

QUADRO 2. Efeito da temperatura do solo na nodulação da soja perene (médias de 3 repetições)

Fonte de N	Variedade	Número de nódulos/vaso			Peso seco dos nódulos (mg/vaso)			Posição dos nódulos na raiz <sup>a</sup>		
		Frio	Médio	Quente <sup>b</sup>	Frio	Médio	Quente	Frio	Médio	Quente
Inoculado com <i>Rhizobium</i>	Deodoro	62	64	84	40	74	36	2,7	1,7	1,0
	Tinaroo	62	50	54	35	35	24	2,3	1,3	1,3
	303	57	52	80	41	36	33	2,0	1,7	1,0
	Cooper	80	37	67	55	56	43	3,3	1,3	1,0
	Q — 363	59	53	54	34	36	27	3,0	1,0	1,3
50 ppm $\text{NH}_4\text{NO}_3$	Deodoro	78	2	4	48	0	2	1,3	0,3	0,3
	Tinaroo	66	2	18	56	0	5	1,7	0,7	1,0
	303	66	4	11	49	1	3	2,0	0,7	0,3
	Cooper	77	12	0	58	4	0	2,7	0,7	0,3
	Q — 363	57	5	22	47	2	4	1,7	0,3	0,3

<sup>a</sup> Posição dos nódulos avaliada empiricamente pela seguinte numeração: 1 = semente nas raízes secundárias, 2 = mais nas raízes secundárias que nas primárias, 3 = mais nas raízes primárias que nas secundárias, 4 = semente na raiz primária.

<sup>b</sup> Diferenças de temperaturas como no Quadro 1.

A posição dos nódulos apesar de ser apenas uma avaliação empírica, sujeita a certa subjetividade, quando feito como no presente experimento, isto é, sem conhecimento dos respectivos tratamentos na hora da avaliação, mostrou resultados interessantes. Nota-se (Quadro 2) que os índices atribuídos à posição dos nódulos baixaram com aumento da temperatura, indicando nodulação situada mais afastada da raiz principal e com isto um retardamento do início da nodulação, com aumento da temperatura. Nestes vasos, a temperatura não diminuiu o número de nódulos, indicando que temperaturas excessivas prejudicaram mais a formação dos nódulos que o desenvolvimento do *Rhizobium*.

Já nos vasos adubados com nitrogênio, onde as condições para a formação dos nódulos foram favoráveis, devido ser mais baixa a relação C/N na planta e na rizosfera, a temperatura teve um efeito pronunciado, tanto no número como no peso total dos nódulos. Enquanto nos vasos frios a nodulação foi equivalente à dos vasos sem N, já na temperatura média e quente, a nodulação foi praticamente inibida.

A fixação do nitrogênio, como consequência do tecido nodular disponível, também foi afetada consideravelmente pelas temperaturas (N total, Quadro 1). Verifica-se maior fixação de N nos vasos com temperatura média. O mesmo se nota, embora menos pronunciadamente, no peso seco das plantas. O teor de N nas plantas, que nos dá medida do estado de nutrição nitrogenada e que tendeu a decrescer com aumento da temperatura nos vasos sem adubação nitrogenada, explica porque o peso seco aumentou mais na temperatura média que o N total. O teor de N nas plantas, decrescente com o aumento da temperatura do solo, indica ainda, que o funcionamento da simbiose em si foi prejudicado com aumento da temperatura, mas que os máximos valores de N fixados nas temperaturas médias, foram devidos ao melhor desenvolvimento das plantas. Enquanto o desenvolvimento da planta foi favorecido pelo aumento da temperatura, a fixação de N parece ter sido reduzida, atingindo-se então na temperatura média, as condições mais favoráveis para a ação conjunta de ambos. Assim sendo na temperatura baixa, o crescimento da planta foi fator limitante e o teor de N das plantas foi elevado, o contrário acontecendo na temperatura mais elevada, onde a fixação do N foi fator limitante.

Estas observações confirmam trabalhos de Vincent (1962), que verificou que temperaturas mais elevadas foram ótimas para o desenvolvimento de *Medicago tribuloides* não o sendo para a formação dos nódulos da mesma planta. Joffe *et al.* (1961) ainda observaram em trevo e amendoim, que temperaturas médias foram mais favoráveis à simbiose que temperaturas

altas ou baixas. Assim para o ótimo desenvolvimento do amendoim, 30°C durante o dia e 22°C durante a noite, foram melhores que 21°C ou 40°C diurnos com a mesma temperatura noturna.

Além do melhor desenvolvimento da variedade Tinaroo no princípio do experimento (peso no desbaste), não se observaram diferenças entre as cinco variedades usadas. Infelizmente a variedade SP-1, que em experimentos anteriores tem mostrado comportamento fisiológico diferente dos demais, neste experimento apresentou tão baixo índice de germinação que teve de ser eliminada.

É interessante notar a nodulação abundante das plantas nos vasos frios e com nitrogênio, as quais não foram inoculadas. O problema da inoculação da soja perene de fato ainda está bastante controverso. Apesar de ser planta forrageira já distribuída em escala comercial na Austrália e no Brasil, não existe inoculante satisfatório para esta planta, nem naquele país (Norris 1964). Apesar de ser conhecida a especificidade desta leguminosa, que teoricamente somente nodula com estirpes de *Rhizobium* isoladas da mesma espécie, ultimamente o CSIRO na Austrália, tem recomendado a estirpe CB-756 para a soja perene, estirpe esta usada para um grupo grande de leguminosas tropicais do grupo "cow-pea". Em experimento anterior de vasos, com solo onde nunca tinha sido plantada a soja perene notamos sempre nodulação abundante nos vasos não inoculados o que nos leva a crer que nas condições ótimas de umidade como nos vasos, a soja perene é muito menos específica nodulando mesmo com *Rhizobium* não específico do grupo "cow-pea". Em condições de campo, no entanto, mesmo com a inoculação com *Rhizobium* específico não é fácil de se obter nodulação satisfatória.

Tudo isto indica que a nodulação da soja perene depende, mais que em outras leguminosas, de fatores nutricionais e do ambiente, como no presente caso da temperatura e que esta nutrição por sua vez ainda também depende do ambiente. Assim, até a absorção do Mn pela planta foi afetada pela temperatura (Quadro 3).

QUADRO 3. Efeito da temperatura no teor de Mn da variedade Tinaroo (médias de 3 repetições)

Temperatura do solo	Sem nitrogênio inoculado ppm Mn	Com nitrogênio ppm Mn
Fria	274	285
Média	306	700
Quente	260	418

QUADRO 4. Análise da variância dos resultados apresentados nos Quadros 1, 2 e 3

Fonte da variância	GL	Número	Pêso	Pêso	Pêso	N% <sup>c</sup>	N Total	Mn <sup>a</sup>
		nódulos <sup>b</sup>	nódulos <sup>b</sup>	planta desbaste	planta			
		F	F	F	F	F	F	F
Temperatura	2	12,86*	4,52	1,48	20,25**	—	15,81**	5,30
Erro (a)	4	—	—	—	—	—	—	—
Varietades	4	—	2,14	2,93*	—	—	—	—
Fonte de N	1	106,45**	404,44**	6,49*	138,60**	8,79**	90,53**	18,20**
Temp. × Fonte N	2	31,00**	134,70**	2,69	34,10**	23,71**	25,53**	6,39*
Erro (b)	78	—	—	—	—	—	—	—
C.V. (%)		26,1	16,3	18,6	24,0	9,2	26,3	24,3

<sup>a</sup> Os graus de liberdade do erro (b) da análise de Mn foi 10 e não 78 como nas outras.

<sup>b</sup> Transformação  $\sqrt{\frac{n}{n+1}}$ .

<sup>c</sup> Transformação  $\sqrt{\frac{1}{n}}$ .

É surpreendente o efeito pronunciado de diferenças de temperaturas, que agiram somente na época do estabelecimento das mudas (Fig. 2), diferenças estas que somente existiam na temperatura do solo, tendo sido a temperatura do ambiente uniforme para todos os tratamentos. Confirma isto dificuldades encontradas no estabelecimento da soja perene, no campo, quando plantada na época habitual de verão.

O efeito pronunciado na fixação do N, de temperaturas elevadas durante apenas algumas horas por dia, indica que o mecanismo da simbiose é seriamente deturpado, efetuando-se possivelmente não somente uma paralização, mas sim, uma destruição de certos enzimas chaves, pelas temperaturas acima de 30°C. Esta é a temperatura indicada por Vincent (1962) como crítica para a fixação. Em trabalho anterior observamos efeitos comparáveis, embora menos pronunciados, na *Centrosema pubescens* (Döbereiner & Aronovich 1965).

## REFERÊNCIAS

- Döbereiner, J. & AlvaHydo, R. 1963. Toxidez de manganês em solos da série Ecologia. IX Congr. Bras. Ciênc. Solo, Fortaleza, Ceará.
- Döbereiner, J. & Aronovich, S. 1965. Efeito da calagem e da temperatura do solo na fixação de nitrogênio de *Centrosema pubescens* Benth. em solo com toxidez de manganês. An. IX Congr. Intern. Pastagens, p. 1121-1124.
- Döbereiner, J. & Pimenta, T. G. 1964. A simple method to lower the soil temperature in greenhouse experiments. Soil Biol. Int. News Bull. n.º 2, p. 30-33.
- Gullöve, F. II. & Quinn, L. R. 1963. The collection and evaluation of tropical and subtropical legumes of indigenous and world origin. IBEC Res. Inst. (IRI) Matão, São Paulo. 10 p.
- Joffé, A., Weyer, F. & Saubert, S. 1961. The role of root temperature in symbiotic nitrogen fixation. South Afr. J. Sci. 57:278.
- Mes, M. G. 1959. The influence of night temperature and day length on the growth, modulation, nitrogen assimilation and flowering of *Stizolobium deerigianum* (velvet bean). South Afr. J. Sci. 55:35-39.
- Norris, D. O. 1964. Comunicação pessoal.
- Vincent, J. M. 1962. Australian studies of the root nodule bacteria. A review. Proc. Linn. Soc. N. S. Wales 87:8-36.

## EFFECT OF SOIL TEMPERATURE ON NODULATION AND DEVELOPMENT OF PERENNIAL SOYBEANS (*Glycine javanica* L.)

### Abstract

A greenhouse experiment was carried out to study the influence of soil temperature and nitrogen source on the establishment of the legume-*Rhizobium* symbiosis and plant growth of five varieties of perennial soybeans (*Glycine javanica*).

The interaction temperature x nitrogen source was highly significant for plant dry weight, total plant nitrogen and nodule weight and number, demonstrating specific temperature effects on the plants depending on symbiotic nitrogen fixation. The plant growth in the treatments with mineral nitrogen was stimulated with increased temperature (up to 40°C daily maxima), whereas nodulation, nitrogen percentage and total nitrogen in the plants dependent on symbiotic fixation decreased at these temperatures. Maximal nitrogen fixation was obtained at the intermediate temperature treatment where the daily maxima varied between 30 and 36°C, during the first month.

The five varieties of perennial soybeans reacted in the same way.