

## INTERRELAÇÕES ENTRE VARIEDADES E NUTRIÇÃO NA NODULAÇÃO E SIMBIOSE DA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill)<sup>1</sup>

JOHANNA DÖBEREINER<sup>2</sup> e NORMA BERGALLO DE ARRUDA<sup>3</sup>

### Sumário

Foram feitos três experimentos com soja, em casa de vegetação, baseados em observações de experimentos de campo, onde certas variedades sempre apresentaram nodulação abundante, enquanto outras somente nodularam em certos solos. Nos presentes experimentos foi comparada uma variedade de fácil nodulação (Mamouth) com duas de difícil nodulação (L-571 e L-2006).

Os três experimentos confirmaram a maior facilidade de nodulação da variedade Mamouth sendo que esta variedade apresentou maior peso de nódulos, o qual ainda foi menos afetado pelos diversos tratamentos e pelos fatores não controlados nestes experimentos. Isto foi confirmado, num dos experimentos, pelo coeficiente de variação baixo (11,8%) na análise do peso de nódulos da variedade Mamouth quando comparado com o da variedade L-2006 que foi de 47,5%.

Enquanto a calagem estimulou a nodulação e a fixação de N de ambas as variedades usadas (Mamouth e L-2006), o efeito do CaSO<sub>4</sub> dependeu da dosagem e da variedade. Para a variedade Mamouth, a concentração de 100 ppm CaSO<sub>4</sub> foi ótima, ao passo que para a variedade L-2006 a concentração ótima foi de 200 ppm. A dosagem de 400 ppm de CaSO<sub>4</sub> prejudicou a simbiose e o desenvolvimento das duas variedades.

As duas variedades responderam diferentemente à adubação nitrogenada. Enquanto a fixação do N da variedade Mamouth foi prejudicada somente com 40 ppm de N, a da variedade L-2006 já sofreu com 20 ppm de N no solo. Ao nível de 10 ppm de N no solo, a regressão do log N total das plantas sobre o peso dos nódulos mostrou um coeficiente mais baixo nos dados da variedade L-2006, do que nos da variedade Mamouth, o mesmo não acontecendo nos vasos sem N ou com 40 ppm.

O magnésio estimulou, igualmente, a nodulação e a fixação do nitrogênio das variedades Mamouth e L-571, enquanto o potássio parece ter tido efeito contrário.

Os resultados permitem admitir a hipótese de que a diversidade verificada na nodulação e fixação do N nas variedades de soja seja devida a diferenças fisiológicas relacionadas com o metabolismo do Ca e N que por sua vez seria determinado por fatores hereditários.

### INTRODUÇÃO

A importância dos fatores genéticos da planta na nodulação e fixação simbiótica do nitrogênio pelas leguminosas foi realçada pela primeira vez, por Nutman (1946, 1959). Segundo este autor, há vários fatores genéticos da planta envolvidos na formação dos nódulos e no mecanismo da fixação do nitrogênio atmosférico. Williams e Lynch (1954) descreveram na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) um gen de hereditariedade simples e recessiva que inibe completamente a formação de nódulos. Johnson e Means (1960)

sugeriram a existência de determinados genótipos tanto na soja como no *Rhizobium* que, quando reunidos, apresentariam alta compatibilidade determinando, assim, grande nodulação. Para selecionar estes genótipos deveriam ser montados experimentos planejados especificamente para essa finalidade.

Por outro lado, é conhecido o efeito de vários nutrientes na nodulação e fixação do nitrogênio pelas leguminosas. Assim, o ócio é necessário para o desenvolvimento dos tecidos meristemáticos nas raízes bem como dos nódulos (Andrew & Norris 1961), proporcionando, assim, um aumento no número e tamanho dos nódulos, (Van Schreven 1958, Döbereiner et al. 1966a). O potássio pode aumentar o número de nódulos em soja, sem afetar o seu peso total (Van Schreven 1958).

Em outros trabalhos, encontraram-se efeitos negativos do K na fixação simbiótica do feijão (Franco & Döbereiner 1967). Roberts e Olsen (1942) observaram diferenças entre estirpes de *Rhizobium* em re-

<sup>1</sup> Trabalho recebido para publicação em 15 de maio de 1967 e constitui o Boletim Técnico n.º 49 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Apresentado no I Simpósio Latino-Americano de Microbiologia do Solo, Rio de Janeiro, 1967.

<sup>2</sup> Eng.º Agrônomo da Seção de Solos do IPEACS e bolsista do CNPq, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

<sup>3</sup> Chefe da Seção de Fitotecnia e Genética do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB. ZC-26.

lação ao efeito do K na simbiose. Com uma estirpe a fixação de N foi estimulada pelo K enquanto com outra foi prejudicada.

O efeito favorável do magnésio no desenvolvimento do *Rhizobium* foi salientado por Norris (1959) e Ruschel *et al.* (1962). Andrew (1962) relatou os efeitos estimulantes do magnésio no desenvolvimento dos nódulos de *Phaseolus vulgaris* e Longstoff e Graham (1951) na fixação do nitrogênio pela soja. Entretanto, de um modo geral, o magnésio e o potássio são considerados sem efeito específico na simbiose das leguminosas (Andrew 1962).

Entre os elementos minerais, o nitrogênio ocupa lugar específico na nutrição das leguminosas, pois pode ser absorvido em forma combinada pelas raízes ou fixado, a partir do N molecular, através da simbiose. É conceito geral que, pela simbiose, somente é fixada a quantidade de nitrogênio necessária para completar as necessidades da planta após ter a mesma tirado do solo o nitrogênio disponível. Weber (1966), em experimentos de campo com a soja, durante 7 anos, verificou que a quantidade de N fixada depende da quantidade de N disponível no solo. Duas linhagens idênticas de soja, diferindo apenas pelo fato de uma delas não nodular, apresentaram produções iguais quando a que não nodulava foi adubada com 150 kg de N/ha. A quantidade de matéria seca em relação aos grãos produzidos foi sempre menor nas plantas com nódulos, indicando que o N fixado biologicamente é mais favorável para a produção de sementes que o N mineral.

Nos trabalhos de Allos e Bartholomew (1955) observou-se que 37 ppm de N, em solução nutritiva, não reduziram a fixação de N da soja, enquanto quantidades maiores o fizeram. Os mesmos autores, em 1959, acharam até aumento da fixação do N em soja com concentrações baixas de N mineral.

Um aspecto interessante foi observado por Hampton e Albrecht (1945), quando verificaram que plantas noduladas absorveram mais  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  e  $Mg^{++}$  do que plantas não noduladas, indicando existir uma relação entre a nodulação e a absorção de elementos minerais, o que é exatamente oposto ao que tem sido geralmente considerado, isto é, a influência dos elementos minerais na nodulação.

Bower e Wadleigh (1948) observaram em quatro espécies de plantas, diferenças entre variedades em relação à reação aos ions. Não achamos na literatura nenhuma referência indicando efeitos genéticos da planta na nodulação e fixação simbiótica do N, através de diferenças nutricionais; contudo, os resultados de experimentos anteriores indicaram tais efeitos em diversas variedades de soja. (Döbereiner *et al.* 1965, 1966b, c). A variedade Mamouth, em tôdas as loca-

lidades e sob tôdas as condições incluindo as mais adversas e com tôdas as estirpes usadas, apresentou peso de nódulos significativamente maior que a maioria das demais. Por outro lado, as variedades L-2006 e L-571, além de apresentarem nodulação sempre inferior, mostraram-se muito mais dependentes de outros fatores, havendo mesmo vários experimentos onde elas não apresentam nenhum nódulo.

A finalidade dos três experimentos apresentados no presente trabalho foi a de elucidar as causas destas diferenças entre variedades, as quais possivelmente foram devidas a variações nutricionais. Foi estudada a interferência dos elementos Ca, K, Mg e N, deixando-se para estudos posteriores os demais elementos possivelmente envolvidos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram feitos três experimentos em casa de vegetação com a finalidade de estudar a interferência dos elementos K, Ca, Mg e N na nodulação de uma variedade de soja de nodulação abundante (Mamouth) e de duas outras de nodulação incerta e esparsa.

### Experimento 1

O esquema experimental usado foi um fatorial  $2 \times 2 \times 2$  com três repetições e os seguintes tratamentos: duas variedades (Mamouth e L-571), com e sem magnésio e com e sem potássio. Usaram-se vasos de barro, pintados por dentro, com 2,5 kg de solo da série Itaguaí (Red yellow podzólico) misturado a 2% de palha de arroz. Esta última foi adicionada para imobilizar o nitrogênio que estivesse em forma de nitrato. Todos os vasos levaram uma adubação básica de 150 ppm de  $P_2O_5$  (75 ml/vaso de uma sol. de  $Ca(H_2PO_4)_2$  a 0,875%) e de elementos menores. Estes foram aplicados à razão de 2,5 ml/vaso da seguinte solução:  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ : 1,75 g;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ : 3,95 g;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ : 2,23 g;  $H_3BO_3$ : 0,25 g;  $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 9H_2O$ : 5,00 g; ácido cítrico: 5,00 g;  $H_2O$ : 250 ml.

Os tratamentos com potássio receberam 50 ppm de K (25 ml/vaso de uma solução de 14,8 g/l de  $K_2SO_4$ ) e os tratamentos com magnésio receberam 14,7 ppm Mg (2 ml/vaso de uma solução de 150 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  por litro).

As sementes foram inoculadas com o inoculante comercial da Leivas Leite. Foram plantadas oito sementes por vaso e, posteriormente, foi feito o desbaste para três plantas. O experimento foi plantado em 9/8/65 e colhido em 19/9/65.

A colheita foi feita na época da floração, da seguinte maneira: as plantas foram retiradas com raiz mediante um jato d'água e lavadas cuidadosamente

sobre uma peneira para evitar perda de nódulos. Os nódulos foram retirados, secos a 65°C, contados e pesados após rigorosa limpeza de partículas de raízes e solo. As plantas, também, foram secas a 65°C, pesadas e moídas para análise de N, K, Ca e Mn.

O N foi determinado pelo método de Kjeldahl (semi-micro) com HgO como catalisador. O Mn foi determinado colorimetricamente no produto de digestão do Kjeldahl adicionando-se HNO<sub>3</sub> e pericadato de potássio.

O Ca foi determinado por titulação com KMnO<sub>4</sub> e o K no fotômetro de chama.

#### Experimento 2

O esquema experimental adotado foi um fatorial 2 x 2 x 2 x 2 com quatro repetições e os seguintes tratamentos:

- 2 variedades de soja (Mamouth e L-2006)
- 2 tratamentos calcários (com e sem)
- 2 tratamentos de inoculação (com e sem)
- 2 solos: A e B.

Os dois solos usados foram provenientes de campos onde, no ano próximo passado, havia sido instalado o Ensaio Nacional de Variedades de Soja, em que foi usado o inoculante comercial da Leivas Leite. No referido ensaio, no solo B, poucas variedades nodularam satisfatoriamente e, entre elas, a variedade Mamouth. No solo A, no entanto, tôdas as variedades mostraram boa nodulação, inclusive a variedade L-2006 que é de difícil nodulação.

A análise química dos dois solos, feita quando os mesmos foram colhidos para os experimentos de vasos, consta do Quadro 1.

QUADRO 1. Análise química dos dois solos usados no Experimento 2

	Solo A	Solo B
Ca++ (mE/100g)	2,59	0,74
Mg++ (mE/100g)	1,25	0,22
K++ (mE/100 g)	0,29	0,09
C (%)	0,94	0,42
N (%)	0,12	0,06
C/N	7,8	7,0
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100 g,		
Truog)	1,1	1,3
pH	5,8	5,3

Usaram-se vasos plásticos com 2 kg de solo. Todos os vasos receberam uma adubação básica de PK na concentração de 50 ppm de K e 22 ppm de P, aplicando-se 10 ml/vaso de uma solução KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (35 g/l). Nos vasos com tratamento calcário foram misturados 3 g de CaCO<sub>3</sub> p. a./vaso.

As sementes foram inoculadas com turfa umedecida com cultura líquida de *Rhizobium japonicum* (estirpe SMLb). Foram plantadas oito sementes por vaso, desbastando-se, posteriormente, para três plantas. O experimento foi plantado em 29/6/66 e colhido em 14/8/66. A colheita e tôdas as determinações foram feitas como no Experimento 1, apenas não tendo sido determinados o Ca, o K e o Mn.

#### Experimento 3

O esquema experimental usado foi um fatorial 4 x 4 com três repetições e os seguintes tratamentos:

- 4 níveis de N (0, 10, 20 e 40 ppm)
- 4 níveis de Ca (0, 100, 200 e 400 ppm de CaSO<sub>4</sub>).

Usaram-se vasos plásticos com 2,5 kg de solo. Usou-se o solo da série Ecologia (Gray Hidromórfico) para se obter uma areia deficiente de Ca, pois as areias de praia ou rio sempre contêm conchas. Entretanto, houve necessidade de lavá-la 48 horas em água corrente para eliminar as partículas mais finas e o excesso de Mn. Os resultados do experimento mostraram porém, que o Mn não foi eliminado, pois ao final da 3.<sup>a</sup> semana começaram a aparecer sintomas de toxidez de Mn nas folhas e o teor final do Mn nas plantas foi bem elevado.

Como adubação básica foram usados 300 ml/vaso da seguinte solução: KCl: 0,149 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,348 g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,493 g; H<sub>2</sub>O: 1000 g. Foram adicionados, a cada litro desta solução, 0,5 ml da seguinte solução: CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O: 0,157 g; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,44 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O: 0,02 g; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 1,53 g; H<sub>2</sub>O: 1000 ml; e ainda 0,5 ml desta outra solução: FeSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O: 5 g; ácido cítrico: 5 g; H<sub>2</sub>O: 1000 ml, um mês após adicionaram-se, novamente, 300 ml/vaso da mesma solução.

Os tratamentos de cálcio foram obtidos misturando-se com o solo 0, 0,25, 0,50 ou 1,00 g de CaSO<sub>4</sub> por vaso dependendo do tratamento. Os níveis de N foram obtidos adicionando-se aos vasos 0, 20, 40 ou 80 ml de uma solução de 3,57 g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>/litro.

As sementes foram inoculadas e plantadas como no Experimento 2. O experimento foi plantado em 16/7/66 e colhido em 15/9/66. A colheita e as determinações foram feitas como no Experimento 1, não tendo sido determinados o Ca e o K.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro experimento foi feito para pesquisar a interferência do K e do Mg na fixação simbiótica do N em duas variedades de soja. Analisando os dados apresentados no Quadro 2, verifica-se que a

variedade Mamouth apresentou maior número e peso de nódulos e maior teor de N e N total do que a variedade L-571. Isto vem confirmar os resultados de experimentos de campo, onde se verificou que a variedade Mamouth sempre foi uma das melhores em relação à nodulação, fixação do N e ainda em relação à produção de grãos. Nota-se, também, no Quadro 2 que, quando o peso dos nódulos foi analisado separadamente para cada variedade, o coeficiente de variação para a variedade Mamouth foi 11,8% enquanto que para a variedade L-571 foi de 47,5%. Esta diferença entre as duas variedades pode-se, ainda, observar na fig. 1, onde está representada a regressão do logaritmo do N total das plantas sobre o peso dos nódulos dos valores relativos à variedade L-571. Não foram incluídos nos cálculos de regressão os dados da variedade Mamouth, pois não se enquadram na mesma linha. Estes estão todos reunidos acima da linha de regressão, não apresentando grandes variações. No entanto, verifica-se uma grande variação no peso dos nódulos e no N fixado na variedade L-571, que apresenta pontos com valores muito baixos e outros tão altos como os da variedade Mamouth. Todos estes valores se enquadram perfeitamente numa linha de regressão, mostrando que há efeitos que prejudicaram o peso dos nódulos (número

ou tamanho) e conseqüentemente a fixação do nitrogênio. Como o C. V. para esta variedade foi elevado, conclui-se que além dos efeitos dos tratamentos ainda agiram fatores não controlados no presente experimento.

Observando-se a Fig. 1, verifica-se que a variedade Mamouth não somente produziu nódulos independentemente dos fatores ambientais que prejudicaram a nodulação da Variedade L-571, como também, produziu maior quantidade de tecido nodular que funcionou mais eficientemente, pois foi fixado mais N/unidade de peso nodular. Esta última observação contraria trabalhos anteriores (Döbereiner 1966 Döbereiner *et al.* 1966a) onde se observou que o coeficiente de regressão do log N total das plantas sobre o peso dos nódulos, em condições de campo, não foi afetado pelas variedades de soja. Isto, possivelmente, se deve ao fato de que estas variedades de fraca nodulação, em condições de campo, quase sempre têm pesos de nódulos muito baixos, caindo os mesmos na parte inferior da regressão, onde pequenas diferenças, neste sentido, não se distinguem.

Ainda no Quadro 2 pode-se observar um efeito significativo do magnésio no peso dos nódulos e no N total das plantas das duas variedades o que indica um efeito na simbiose. A literatura referente à im-

QUADRO 2. Efeito do potássio e do magnésio na nodulação e fixação do N em duas variedades de soja (Dados do Experimento 1, médias de 3 repetições)

Variedade	Tratamento	pH final do solo	Nódulos				Planta			
			N.º/vaso	Peso seco mg/vaso	Peso seco g/vaso	N%	N total mg/vaso	Mn ppm <sup>b</sup>	Ca + + % <sup>b</sup>	K + %
Mamouth	Mg+K	6,2	222	644	11,2	2,83	315	305	0,72	1,72
	K	6,1	214	535	8,1	2,89	247	323	0,79	1,92
	Mg	5,9	173	556	9,1	3,39	309	283	0,75	1,42
L-571	Testemunha	6,1	164	462	9,6	2,83	274	335	0,89	1,52
	Mg+K	5,8	150	486	7,3	2,06	152	262	0,90	1,89
	K	6,1	125	406	7,2	1,99	138	290	0,75	1,58
	Mg	6,1	168	515	7,7	2,35	181	300	0,84	1,44
	Testemunha	6,0	66	225	3,4	2,50	87	350	0,99	1,08
		GL <sup>c</sup>	F	F	F	F	F			F
Análise de variância da variedade		1	11,60**	5,62**	20,67**	37,90**	77,28**			—
K		1	3,36	1,72	2,58	7,01*	—			4,13
Mg		1	3,46	5,77*	4,99*	—	9,66**			1,97
Var. x K		1	—	—	—	—	—			3,11
Var. x Mg		1	2,01	—	—	1,03	—			—
K x Mg		1	—	—	—	—	—			4,06*
K x Mg x Var.		1	—	—	6,19*	—	—			7,70
C.V. (%)			29,5	30,0 <sup>a</sup>	24,7	11,6	19,6			13,5

<sup>a</sup> O C. V. foi 11,8 % para a variedade Mamouth e 47,5 % para a variedade L-571, quando a análise foi feita separadamente para as duas variedades.

<sup>b</sup> As análises do Ca e Mn não deram diferenças significativas.

<sup>c</sup> O n.º de graus de liberdade do erro para a análise do K e do peso seco das plantas foi 14 e para as demais análises foi 16.

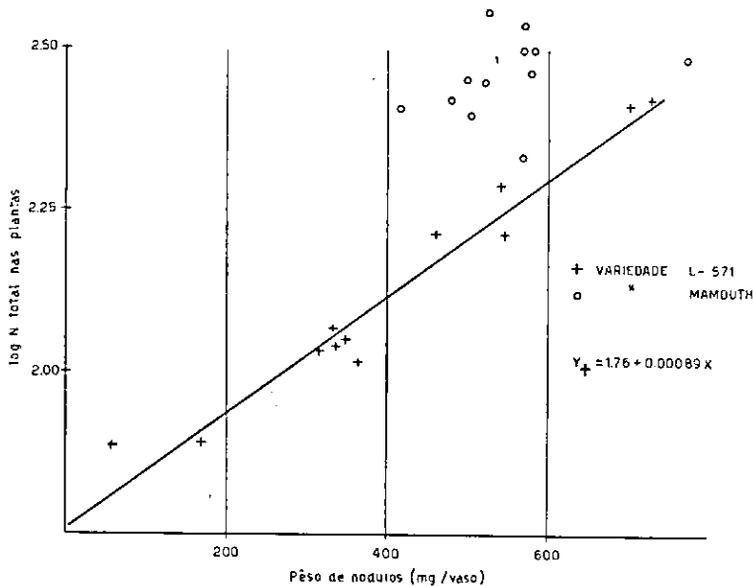


FIG. 1. Regressão do log N total nas plantas com o peso dos nódulos em duas variedades de soja. (Os pontos representam resultados de vasos individuais)

portância de Mg na simbiose é reduzida (Van Schreven 1958, Andrew 1962). A importância da relação Mg/Ca (Ruschel *et al.* 1962) e a do magnésio (Norris 1959) no desenvolvimento do *Rhizobium* já foi demonstrada. No presente caso, parece pouco provável que o efeito do magnésio se tenha feito sentir somente sobre a multiplicação do *Rhizobium*, quando se observaria um aumento do número de nódulos, o que entretanto, não ocorreu, tendo havido um efeito sobre o peso dos nódulos e sobre o N fixado.

O potássio somente teve efeito significativo no teor de nitrogênio das plantas, tendo havido uma diminuição do mesmo. Van Schreven (1958) concluiu, depois de uma revisão de literatura, que na simbiose há mais evidência de efeitos negativos do potássio do que favoráveis. O teor do N da planta representa o seu estado de nutrição nitrogenada e tendo sido esta, neste experimento, dependente da fixação simbiótica, podemos confirmar as conclusões deste autor.

As duas variedades se comportaram igualmente em relação ao efeito do magnésio e do potássio, não tendo sido significativa nenhuma interação simples. Isto indica que as diferenças entre as duas variedades, com referência à facilidade de nodulação, não são devidas a diferenças relacionadas à nutrição do K ou do Mg. Nota-se, no Quadro 2, significância da interação tríplice (K x Mg x Var.) no peso seco das plantas e na percentagem do K na planta. Estas duas observações não dão uma medida direta da

simbiose, mas referem-se à fisiologia da planta e indicam que as duas variedades se comportaram diferentemente, sob o ponto de vista fisiológico.

Por parecer complexo o problema da interferência dos fatores nutricionais na capacidade de nodulação das variedades, foi feito um experimento no qual se usou o solo de um experimento de campo (Ensaio Nacional de Variedades de Soja) em que todas as variedades nodularam bem e outro solo de um experimento idêntico, mas no qual a maioria das variedades nodulou muito pouco. Os dois solos eram bem diferentes, como pode ser visto no Quadro 1, contendo o solo A teores mais elevados de Ca, Mg, K e matéria orgânica, mas a diferença entre o pH dos dois era pequena.

Adicionou-se calcário em excesso para verificar se o fator responsável pelas diferenças entre variedades era devido à acidez do solo e suas conseqüências. Foi feita a inoculação com uma estirpe de conhecida eficiência, para garantir a presença do *Rhizobium* além do provavelmente existente no solo, proveniente da inoculação das sementes do experimento de campo. Os resultados deste experimento constam do Quadro 3.

Confirmando os experimentos de campo, a variedade Mamouth apresentou maior peso de nódulos, maior peso da planta e maior teor do N. Da mesma maneira, o solo A mostrou-se superior ao solo B. Foi surpreendente o efeito altamente significativo da calagem, em ambos os solos e nas duas variedades, porque o pH em torno de 5,6 encontrado nos vasos

com o solo B ao final do experimento (Quadro 3), pelas experiências que se tem na prática, deveria ser suficiente para o bom desenvolvimento da soja. Não foram significativas as interações var.  $\times$  solos e var.  $\times$  calagem, para nenhuma das determinações, indicando que as variedades se comportaram igualmente em relação aos dois solos, o que vem mostrar que não é fácil transferir os resultados de campo para a casa de vegetação e vice-versa. Por razões não conhecidas, as condições para nodulação são sempre muito melhores na casa de vegetação do que no campo e pequenas diferenças na casa de vegetação, geralmente, são significativas no campo.

No Quadro 3 pode ser observada a significância da tríplice interação solo  $\times$  variedades  $\times$  inoculantes para as observações do peso da planta e do N total. O inoculante teve efeito na variedade L-2006 no solo B e na variedade Mamouth no solo A. Os valores baixos obtidos com a variedade L-2006 no solo B indicam que, neste caso, as condições eram tão desfavoráveis à nodulação que um acréscimo de *Rhizobium* ainda teve efeito, o mesmo não aconte-

cendo nas condições do solo A. Com esta interpretação, no entanto, fica difícil explicar o efeito do inoculante na variedade Mamouth no solo A, pois foi neste tratamento em que se observaram os maiores pesos de plantas.

O número de nódulos não foi afetado nem pelo solo nem pela calagem e nem se mostrou diferente nas duas variedades, indicando que os efeitos citados acima não agem sobre o *Rhizobium* e nem sobre a iniciação dos nódulos, mas sim sobre o desenvolvimento dos mesmos, uma vez formados. Observando-se as interações var.  $\times$  solo  $\times$  calagem e variedade  $\times$  inoculante  $\times$  calagem, que foram significativas quanto ao número dos nódulos, verifica-se até, um efeito oposto àquele esperado, pelos experimentos de campo, no que se refere à nodulação.

No solo B, a variedade Mamouth foi estimulada pela calagem, acontecendo o contrário com a variedade L-2006, mas no solo A estas interrelações foram exatamente opostas (Quadro 3). Do mesmo modo, observou-se um efeito negativo da calagem na varie-

QUADRO 3. Efeito de calagem e da inoculação na nodulação e fixação de N de duas variedades de soja, em dois solos. (Dados do Experimento 2, médias de 4 repetições)

Variedade	Solo	Inoculação	Calagem	pH final do solo	Nódulos		Planta		
					N.º/vaso	Peso seco g/vaso	Peso seco g/vaso	N%	N total mg/vaso
L-2006	B	+	+	7,60	84	277	14,3	2,37	82
		+	—	5,62	103	284	14,1	2,42	84
		—	+	7,33	98	221	11,8	2,42	70
	A	—	—	5,60	99	213	11,7	2,49	72
		+	+	7,37	91	333	19,8	2,55	124
		+	—	6,48	91	266	14,7	2,60	90
		—	+	7,62	102	335	20,6	2,32	118
		—	—	6,25	78	312	17,9	2,55	112
		—	—	6,25	78	312	17,9	2,55	112
Mamouth	B	+	+	7,36	94	364	19,7	2,70	132
		+	—	5,72	77	279	16,8	2,83	118
		—	+	7,30	78	349	20,9	2,81	146
	A	—	—	5,55	76	299	17,6	2,67	117
		+	+	7,30	104	401	25,5	2,77	174
		+	—	6,33	102	320	24,0	2,62	157
		—	+	7,36	79	349	24,5	2,51	153
		—	—	6,33	103	374	21,8	2,71	146
		—	—	6,33	103	374	21,8	2,71	146
Análise de variância				GL	F	F	F	F	F
Variedade				1	1,00	19,55**	88,94**	25,97**	127,60**
Solo				1	1,24	13,00**	74,13**	—	59,35**
Calagem				1	—	7,63**	14,43**	—	8,47**
Solo $\times$ Var. $\times$ Cal.				1	5,34*	2,01	3,81	—	3,38
Solo $\times$ Var. $\times$ Inoc.				1	—	3,23	8,37**	—	7,02*
Solo $\times$ Inoc. $\times$ Cal.				1	—	1,11	—	5,03*	2,18
Var. $\times$ Inoc. $\times$ Cal.				1	4,63*	—	—	—	—
Erro				45					
C.V. (%)					10,4	17,34	13,6	7,59	14,41

dade L-2006 quando inoculada e um efeito positivo quando não inoculada, acontecendo o oposto com a variedade Mamouth. Estas observações mostram que o número de nódulos pouco significa na interpretação de efeitos dos tratamentos na simbiose confirmando, até certo ponto, observações anteriores (Döbereiner *et al.* 1966a) de que o peso dos nódulos é o melhor índice para avaliar a eficiência da simbiose.

A interação solo x inoculante x calagem, que foi significativa para o teor de N da planta pode ter sido devida ao efeito prejudicial da calagem no

ligeiramente o pH, ao final do ciclo vegetativo da planta.

Neste experimento, em primeiro lugar, pode-se observar a diferença entre variedades, que foi altamente significativa para tôdas as determinações, com exceção do número dos nódulos. A variedade Mamouth, como nos experimentos anteriores, mostrou maior peso de nódulos, maior peso das plantas, maior teor de N e conseqüentemente mais N fixado, independentemente dos diversos tratamentos. O efeito do cálcio foi significativo para tôdas as observações, tendo-se veri-

QUADRO 4. Efeito do cálcio e do nitrogênio na nodulação e fixação do N da variedade de soja L-2006 (Dados do Experimento 3, médias de 3 repetições)

Tratamento		pH final do solo	Nódulos			Planta			
CaSO <sub>4</sub> (ppm)	N (ppm)		N.º/vaso	Pêso seco mg/vaso	Pêso médio (mg)	Pêso seco g/vaso	N%	N total mg/vaso	Mn ppm
0	0	6,0	88	437	4,96	5,2	2,41	125	535
0	10	6,0	101	364	3,60	5,2	2,30	121	547
0	20	6,1	93	363	3,90	6,2	2,08	129	602
0	40	5,9	60	141	2,35	6,0	1,86	111	501
100	0	6,1	84	441	5,25	5,2	2,36	123	612
100	10	5,9	84	448	5,33	5,6	2,37	133	757
100	20	6,2	81	310	3,82	6,2	1,93	120	628
100	40	5,6	82	264	3,21	6,5	1,88	119	497
200	0	5,7	94	457	4,86	5,1	2,52	127	669
200	10	5,4	76	487	6,40	5,5	2,61	144	723
200	20	5,6	81	396	4,88	6,8	2,18	148	710
200	40	5,8	60	219	3,65	6,6	2,08	140	690
400	0	5,4	67	423	6,31	4,1	2,39	97	495
400	10	5,4	74	376	5,08	4,8	2,46	118	728
400	20	5,5	53	201	3,79	5,8	1,94	112	619
400	40	5,4	25	102	4,08	6,3	1,67	104	646

*Rhizobium* proveniente do solo, no solo A, onde o pH tornou-se muito elevado. O mesmo efeito se nota no número de nódulos, mas somente na variedade Mamouth (Quadro 3).

No terceiro experimento procurou-se fazer um estudo mais detalhado da interação do N e do Ca na nodulação e fixação de N, nas duas variedades. Usou-se como fonte do cálcio o gesso, para separar os efeitos do cálcio dos possíveis efeitos através do aumento do pH. Pela mesma razão, usou-se o nitrato de amônio, pois êste pouco afeta o pH. Entretanto, houve um efeito no pH do solo, como pode ser visto nos Quadros 4 e 5, tendo ambos os adubos abaixado

ficado que as dosagens de 100 e 200 ppm tiveram um efeito positivo para tôdas as determinações, ao passo que a dosagem de 400 ppm teve um efeito negativo.

Não encontramos referência na literatura sobre a toxicidade de cálcio. É possível que os efeitos prejudiciais da dosagem mais alta de CaSO<sub>4</sub> sejam devidos a causas indiretas como o abaixamento do pH, o que por sua vez implicaria na nutrição. É pouco provável que seja através da toxicidade de Mn, pois na variedade Mamouth, onde o aumento do Ca proporcionou um aumento do teor de Mn na planta, o excesso de CaSO<sub>4</sub> teve menos efeito que na variedade L-2006, onde o cálcio não teve efeito na absorção do Mn (interação var. x cálcio).

QUADRO 5. Efeito do cálcio e do nitrogênio na nodulação e fixação do N da variedade de soja Mamouth (Dados do Experimento 3, médias de 3 repetições)

Tratamentos		pH final do solo	Nódulos			Planta			
CaSO <sub>4</sub> (ppm)	N (ppm)		N.º/vaso	Pêso seco mg/vaso	Pêso seco (mg)	Pêso seco g/vaso	N%	N total mg/vaso	Mn ppm
0	0	6,3	89	524	5,88	6,0	2,66	159	665
0	10	6,1	86	478	5,55	6,3	2,67	168	701
0	20	6,0	76	392	5,15	5,9	2,40	143	829
0	40	6,1	61	315	5,16	7,1	1,97	140	743
100	0	6,5	100	636	6,36	6,7	2,55	171	816
100	10	6,2	115	649	5,64	7,8	2,75	216	866
100	20	5,7	94	558	5,93	6,9	2,91	202	1.020
100	40	5,6	77	425	5,51	7,1	2,36	172	909
200	0	5,8	72	574	7,97	6,1	2,84	174	803
200	10	5,5	103	534	5,18	6,7	2,81	187	978
200	20	5,6	79	512	6,48	6,3	2,97	202	813
200	40	5,5	81	432	5,33	7,6	2,46	186	926
400	0	5,5	65	507	7,80	5,7	2,68	153	958
400	10	5,2	82	470	5,73	6,1	2,92	180	1.111
400	20	5,6	83	460	5,54	7,2	2,64	190	1.115
400	40	5,3	80	389	4,86	7,0	2,38	166	982

QUADRO 6. Análise de variância do Experimento n.º 3 (Valores F)

Fonte de variação	GL	Nódulos			Planta			
		Número	Pêso	Pêso médio	Pêso	N%	N total	Mn
Variedades	1	3,31	75,06**	16,41**	32,18**	64,91**	80,77**	56,38**
CaSO <sub>4</sub>	3	4,17**	8,18**	2,96*	3,10*	4,16**	6,46**	5,52**
Nitrogênio	3	6,20**	29,35**	9,06**	10,08**	19,47**	2,98*	3,92*
Var. x CaSO <sub>4</sub>	3	1,71	2,07	—	—	1,36	—	4,39**
Var. x N	3	—	1,46	—	1,93	2,95*	—	—
Erro	62							
C.V. (%)		29	21	31	13	11	18	22

Os dois níveis mais altos de N aumentaram o pêso das plantas, acontecendo o contrário com o pêso dos nódulos e com o teor de N nas plantas. O efeito negativo do N na nodulação poderia ser esperado e o teor de N se explica pelo fato da dosagem máxima usada de N (40 ppm), escolhida propositalmente baixa, não ter sido suficiente para a duração de todo o experimento (100 ppm têm sido suficientes em outros experimentos). Esta dosagem, que foi altamente prejudicial à nodulação, causou a deficiência de N nas plantas quando o mesmo acabou no solo, pois as plantas estavam deficientemente noduladas.

Observaram-se diferenças entre as variedades no seu comportamento fisiológico sob vários aspectos (Figs. 1 a 7). Foi significativa a interação variedade x nitrogênio no teor de N das plantas, mostrando que na

variedade Mamouth somente a dosagem de 40 ppm de N diminuiu o seu teor de N, enquanto na variedade L-2006 o teor de N já diminuiu com 20 ppm de N (Fig. 7). Tomando o N % como medida do estado de nutrição nitrogenada da planta, o que depende do pêso dos nódulos presentes por ocasião da colheita, parece que a variedade Mamouth foi capaz de nodular com maior concentração de N no solo do que a variedade L-2006. As diferenças entre as variedades, neste sentido, são observadas pelos dados de número e pêso dos nódulos (Figs. 2 e 3).

A discordância encontrada na literatura a respeito de efeitos favoráveis de pequenas dosagens de N na fixação simbiótica da soja pode ser explicada, possivelmente pelas diferenças acima mencionadas entre as variedades usadas pelos vários autores (Allos e Bartholomew 1955, 1959; Weber 1966). Na Fig. 4, ainda

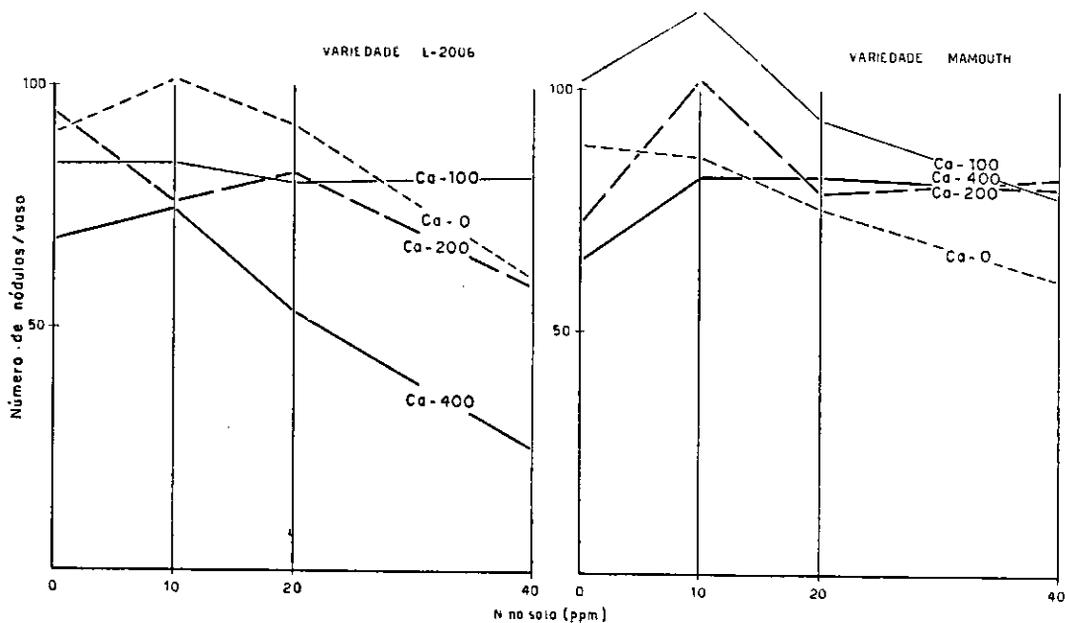


FIG. 2. Efeito da adubação nitrogenada no número de nódulos de duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

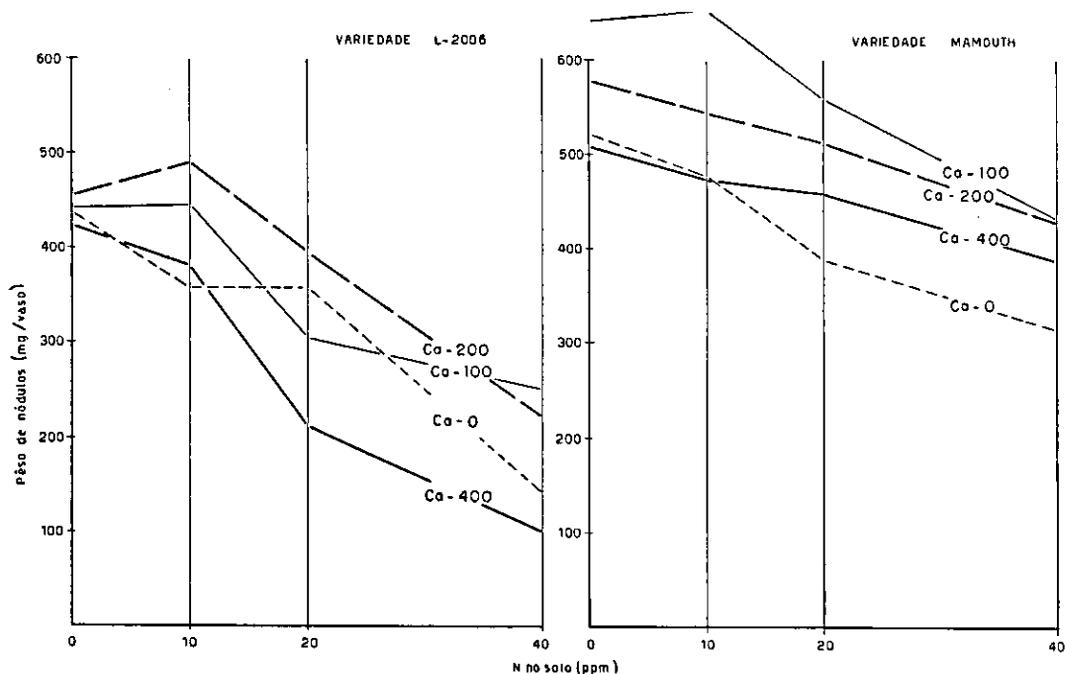


FIG. 3. Efeito da adubação nitrogenada no peso de nódulos de duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

pode ser comparado o N total das plantas com o N aplicado no solo como adubo, onde a diferença entre os dois representa o N fixado. Verificaram-se quantidades consideráveis de N fixado na variedade Mamouth, até nas maiores concentrações de N no solo, o mesmo não acontecendo com a variedade L-2006.

O efeito prejudicial da adubação nitrogenada sobre a simbiose, que foi mais pronunciado na variedade

L-2006, também foi confirmado nas Figs. 8 e 9. Na Fig. 8 está representada a regressão do log N total sobre o peso dos nódulos na dosagem mínima e na máxima de N. Foram obtidas duas linhas, uma para os valores dos vasos sem N com um ponto *a* mais baixo e o coeficiente de regressão mais alto e outra com *a* mais alto e coeficiente de regressão mais baixo. As duas variedades se enquadram perfeitamente na

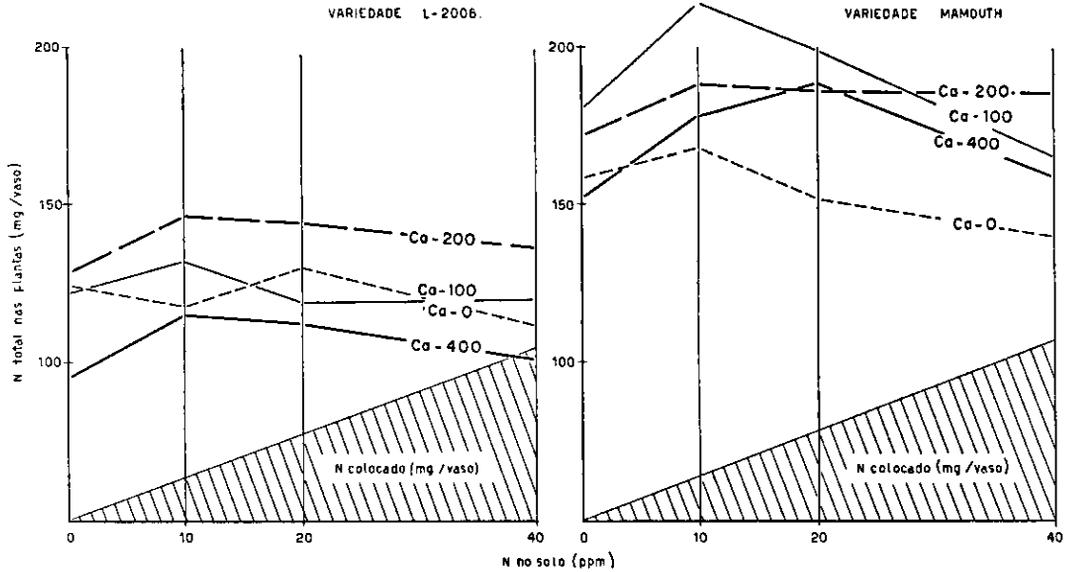


FIG. 4. Efeito da adubação nitrogenada na fixação do nitrogênio atmosféricos por duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

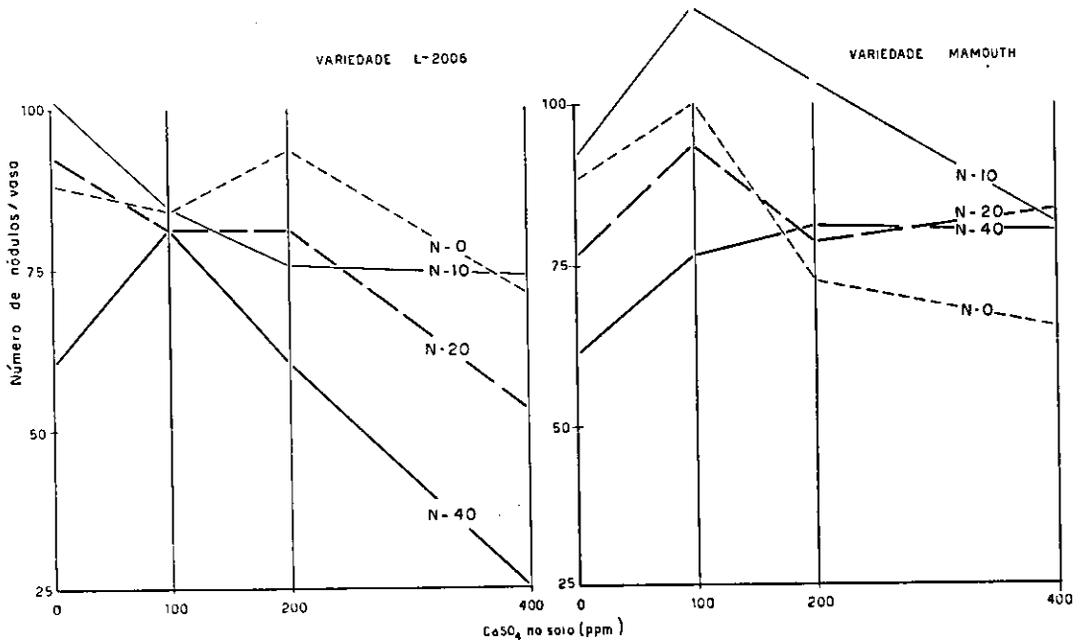


FIG. 5. Efeito do Gesso ( $CaSO_4$ ) no número de nódulos de duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

mesma linha, confirmando exatamente o que tem sido observado em trabalhos anteriores (Döbereiner *et al.* 1966a, Döbereiner 1966). Na Fig. 9, onde estão representados os pontos relativos a dosagem de 10 ppm, nota-se que as duas variedades não se enquadram em uma linha, verificando-se que a variedade L-2006 mostra um coeficiente de regressão mais baixo, indi-

cando que foi prejudicada a eficiência do tecido nodular desta variedade.

O efeito do nitrogênio, no entanto, parece ainda ligado ao cálcio disponível e também notam-se diferenças entre as duas variedades, sob este aspecto. A variedade Mamouth atingiu máxima nodulação e fixação ao nível de 100 ppm  $\text{CaSO}_4$ , enquanto a va-

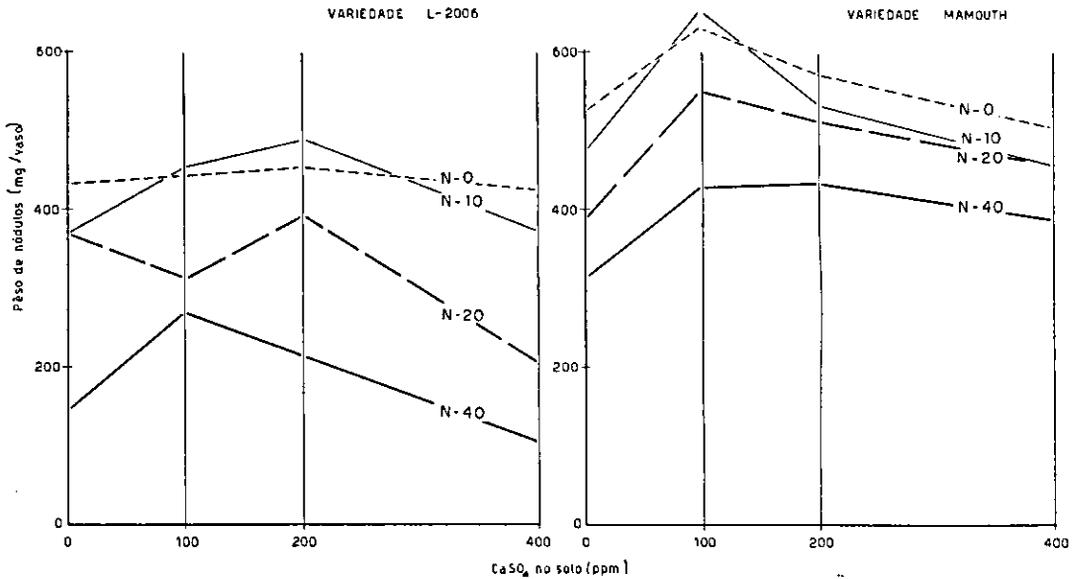


FIG. 6. Efeito do gesso ( $\text{CaSO}_4$ ) no peso dos nódulos de duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

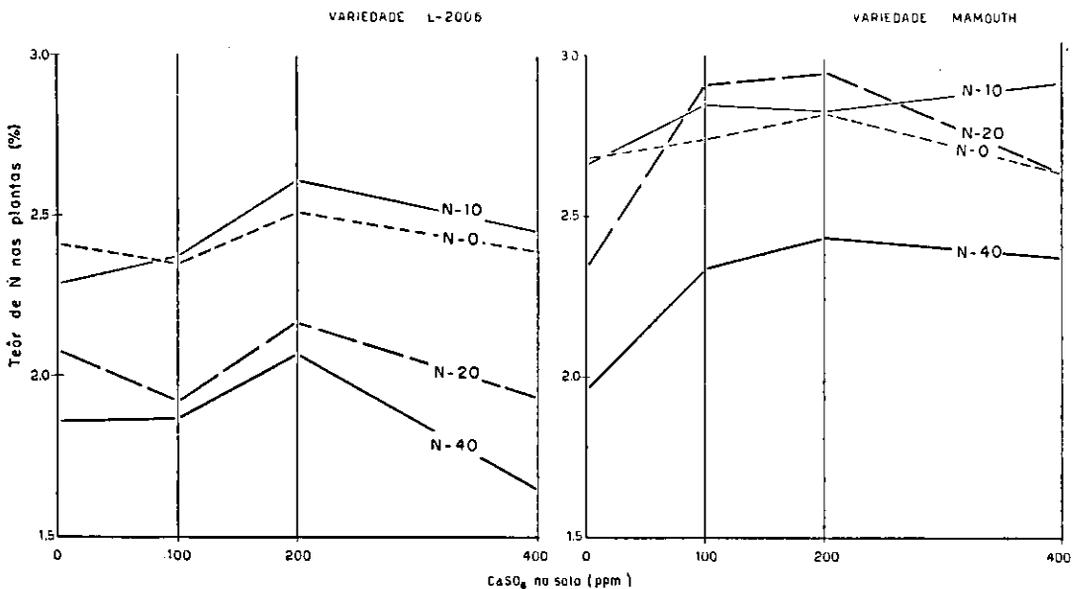


FIG. 7. Efeito do gesso ( $\text{CaSO}_4$ ) no teor de nitrogênio de duas variedades de soja. (Cada ponto representa média de três repetições)

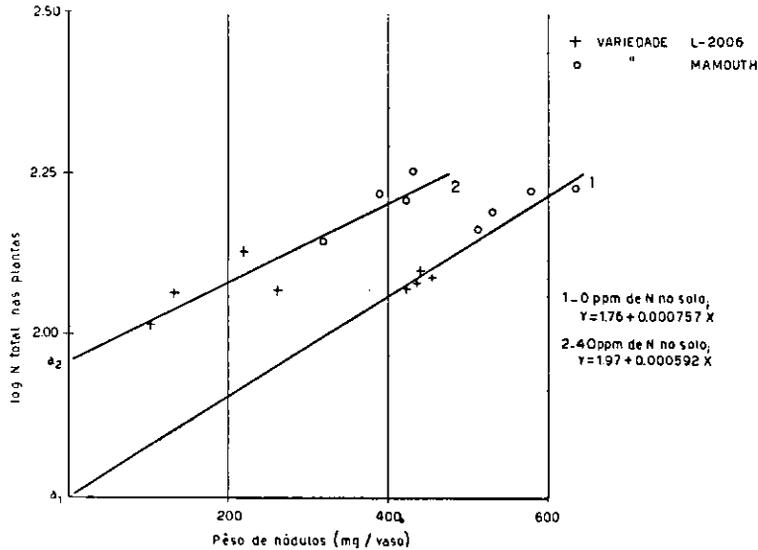


FIG. 8. Regressão do N total nas plantas (log) com o peso dos nódulos de duas variedades de soja, na dosagem mais alta (40 ppm) e na mais baixa (0) do nitrogênio no solo. (Cada ponto representa média de três repetições mas a regressão foi calculada a partir de dados individuais)

r'idade L-2006, na maioria dos casos, somente com 200 ppm. (Fig. 4. 5 e 5)

As diferenças fisiológicas entre as duas variedades ainda aparecem na análise do teor de Mn nas plantas. O Mn, como já foi dito, a partir da segunda metade do experimento apresentou concentrações excessivas. A interação altamente significativa variedades  $\times$   $\times$  CaSO<sub>4</sub> mostra que na variedade Mamouth o teor de Mn foi aumentado pelas dosagens de CaSO<sub>4</sub> no solo o que não aconteceu na variedade L-2006. Tendo sido a variedade Mamouth melhor em tôdas as

observações e ainda menos prejudicada pela dosagem mais alta do Ca, parece que as concentrações de Mn encontradas no fim do experimento, (até 1100 ppm), não prejudicaram substancialmente o desenvolvimento da soja, provavelmente porque somente começaram agir na planta adulta.

Concluindo podemos dizer que as diferenças entre variedades de fácil nodulação como a Mamouth e de outras de difícil nodulação poderiam ser explicadas por diferenças fisiológicas relacionadas com o metabolismo do Ca e N. Neste caso a variedade Mamouth teria um mecanismo que lhe permite o desenvolvimento de nódulos e seu funcionamento em níveis de N mais elevados. Esta variedade seria ainda capaz de suprir o cálcio necessário para a formação dos nódulos a partir de concentrações de Ca no solo, mais baixas.

#### AGRADECIMENTOS

Aos Eng.ºs Agrônomos Dirce Pinto Pacca de Souza Britto, Chefe da Seção de Documentação e Estatística do IPEACS e Ivan Barbosa Machado Sampaio, da Seção de Estatística Experimental do DPEA os nossos agradecimentos pela análise e interpretação estatística.

#### 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.

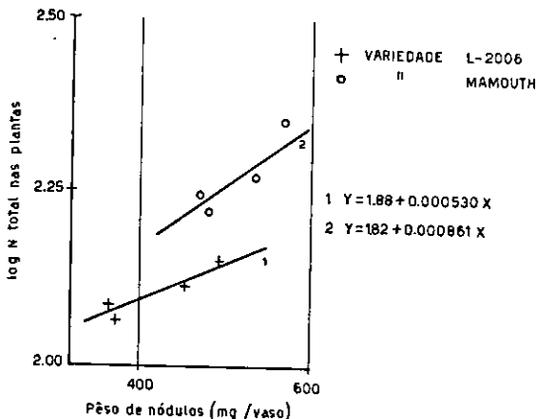


FIG. 9. Regressão do N total (log) nas plantas com o peso dos nódulos de duas variedades de soja numa dosagem intermediária (10 ppm) de N no solo. (Cada ponto representa média de três repetições mas a regressão foi calculada a partir dos dados individuais)

- Andrew, C. S. & Norris, D. O. 1961. Comparative responses to calcium of five tropical and four temperate pasture legume species. *Aust. J. agr. Res.* 12:40-55.
- Andrew, C. S. 1962. Influence of nutrition on nitrogen fixation and growth of legumes. *Commonw. Bur. Past. Field Crops Bull.* 46:130-146.
- Bower, C. A. & Wadleigh, C. H. 1948. Growth and cation accumulation by four species of plants as influenced by various levels of exchangeable sodium. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 13:—.
- Döbereiner, J., Arruda, N. B. & Penteadó, A. F. 1965. Problemas da inoculação da soja em solos ácidos. *An. IX Congr. Int. Past., São Paulo*, 2:1153-1157.
- Döbereiner, J. 1966. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. *Nature* 210:850-852.
- Döbereiner, J., Arruda, N. B. & Penteadó, A. F. 1966a. 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. & Penteadó, A. F. 1966b. Especificidade hospedeira, em variedades de soja, na simbiose com *Rhizobium*. *Pesq. agropec. bras.* 1:207-210.
- Döbereiner, J., Arruda, N. B. & Penteadó, A. F. 1966c. Resultados não publicados.
- Franco, A. A. & Döbereiner, J. 1967. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium-feijão* e influência de diferentes nutrientes. *Pesq. agropec. bras.* 2:467-474.
- Hampton, H. E. & Albrecht, W. A. 1945. Nodulation modifies nutrient intake from colloidal clay by soybeans. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 8:234-237.
- Johnson, H. W. & Means, U. M. 1960. Interactions between genotypes of soybeans and genotypes of nodulating bacteria. *Agr. J.* 52:651-654.
- Longstaff, W. H. & Graham, E. R. 1951. Release of mineral magnesium and its effects on growth and composition of soybeans. *Soil Sci.* 71:167-174.
- Norris, D. O. 1959. The role of calcium and magnesium in the nutrition of *Rhizobium*. *Aust. J. agr. Res.* 10: 651-698.
- Nutman, P. S. 1946. Variation within strains of clover nodule bacteria in the size of nodule produced and in the effectivity of the symbiosis. *J. Bact.* 51:411-432.
- Nutman, P. S. 1959. Sources of incompatibility affecting nitrogen fixation in legume symbiosis. *Symp. Soc. Expl. Biol.* 13:42-58.
- Roberts, J. L. & Olsen, F. R. 1942. The relative efficiency of strains of *Rhizobium trifolii* as influenced by soil fertility. *Science* 95:413-414.
- Ruschel, A. P., Alvahydo, A. & Penteadó, A. F. 1962. Influência do cálcio, do magnésio e da acidez sobre o *Rhizobium phaseoli* em meio de cultura. *Comm. Técn. n.º 16, Inst. Ecol. Exp. Agrícolas, Min. Agricultura, Rio de Janeiro*, p. 1-12.
- 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, Inc., 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.
- Williams, L. F. & Lynch, D. L. 1954. Inheritance of non-nodulating character in the soybean. *Agronomy J.* 46:28-29.

## INTERRELATIONS BETWEEN VARIETIES AND NUTRITION IN NODULATION AND SYMBIOSIS OF SOYBEAN (*Glycine max* (L.) Merrill)

### Abstract

Three greenhouse experiments with soybeans were carried out following observations in several field experiments that certain varieties always were abundantly nodulated while others nodulated only on certain soils.

In the present experiments one easy nodulating variety (Mamouth) was compared with two varieties presenting difficulties in nodulation (L-571 or L-2006).

In confirmation of the field experiments, the variety Mamouth, in all three experiments showed higher nodule weight and nitrogen fixation less affected by the different treatments or by factors not controlled in these experiments. This is apparent in one of the experiments by the low coefficient of variability (11,8%) in the analysis of nodule weight for the variety Mamouth compared to a very high coefficient of variability (47,5%) for the variety L-571.

Liming stimulated nodulation and nitrogen fixation of the varieties Mamouth and L-2006 while the effect of gypsum was dependent on the level applied and on the variety. For the variety Mamouth 100 ppm of gypsum seemed to be optimal and 200 ppm for the variety L-2006 whereas 400 ppm of gypsum were excessive for both varieties.

The varieties also responded differently to nitrogenous fertilizer. Nitrogen fixation and nodulation for the variety Mamouth were reduced less by N applications than were those of the variety L-2006. The regression of total plant nitrogen (log) with nodule weight showed different coefficients for the two varieties (Mamouth and L-2006) at the lowest N level (10 ppm). This was not the case in the pots without nitrogen or at the highest N level (40 ppm).

Magnesium stimulated nodulation and nitrogen fixation of the varieties Mamouth and L-571 while potash seemed to have the opposite effect.

It is suggested that physiological differences between varieties, related to calcium and nitrogen metabolism might be the cause of hereditary differences in nodulation and nitrogen fixation of soybeans.