

BRAGANTIA

Boletim Técnico do Instituto Agrônomico do Estado de São Paulo

Vol. 17

Campinas, dezembro de 1958

N.º 14

FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO DO AR ATMOSFÉRICO PELAS BACTÉRIAS QUE VIVEM ASSOCIADAS ÀS RAÍZES DA SOJA (*)

H. GARGANTINI e R. A. CATANI (**), *engenheiros-agrônomos, Seção de Fertilidade do Solo, Instituto Agrônomico*

RESUMO

Com o objetivo de conhecer a quantidade de nitrogênio do ar fixado simbioticamente pelas bactérias que vivem associadas às raízes da soja foi instalado o presente experimento, em vasos de Mitscherlich contendo terra-roxa-misturada, sendo os seguintes os tratamentos empregados: 1) testemunha; 2) NPK; 3) NPK + calcário; 4) NPK + inoculante; 5) NPK + calcário + inoculante; 6) PK + calcário + inoculante; 7) PK + calcário.

O ensaio foi conduzido até a época do florescimento das plantas, quando então foram colhidas a parte aérea e a subterrânea, sêcas e analisadas em seu teor de nitrogênio.

Os resultados obtidos permitem concluir que a soja não apresentou, neste experimento, grande capacidade fixadora de nitrogênio do ar atmosférico.

1 — INTRODUÇÃO

O emprêgo de leguminosas para adubação verde está se tornando prática das mais generalizadas entre nós. Devido a êste fato torna-se de grande interêsse o conhecimento da quantidade de nitrogênio capaz de ser fixado simbioticamente pelas bactérias que vivem associadas às raízes destas plantas.

Para as regiões tropicais e sub-tropicais são ainda bastante escasos os dados quantitativos, relativos a essa fixação. Experiências similares à do presente trabalho já foram executadas pelo Instituto Agrônomico (1) com as leguminosas mucuna-anã e crotalária júncea.

(*) Trabalho apresentado no VI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em Salvador, Bahia, de 15 a 26 de julho de 1957.

Recebido para publicação em 18 de dezembro de 1957.

(**) Atualmente na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

Na literatura (1,4,7) encontram-se dados acêrca da influência e diversidade dos fatôres de que depende a atividade das bactérias fixadoras.

Thompson (5), comentando a capacidade fixadora do nitrogênio do ar atmosférico por várias espécies vegetais, cita trabalhos de Lyon e Bizzel em experiências que tiveram a duração de dez anos, mostrando que a alfafa é consideravelmente mais eficiente do que a soja ou trevos: a alfafa fixa cêrca de 270 quilos por hectare e por ano, alguns trevos fixam 164 e 152 quilos, e à soja é atribuída a quantidade de 114 quilos por hectare e por ano. Tomando para a alfafa o valor 100, teremos os seguintes valores relativos:

Alfafa	100
Trevo (Sweet clover)	67
Trevo (Red clover)	60
Trevo (Alcika clover)	56
Soja	42

Russell (6) diz que a soja, feijões de campo (*Vicia faba*) e ervilhas, quando cultivados para a produção de grãos deprimem o solo tanto quanto uma cultura de cereais. Elas fixam de 112 a 124 quilos de nitrogênio por hectare, porém todo êle é removido com o material colhido. Apresenta ainda um quadro, em que mostra que a soja provoca perda de cêrca de 9 quilos de nitrogênio do solo por hectare, quando empregada em rotação, enquanto que outras culturas, como os trevos, apresentam enriquecimento do solo.

Hanway (2) mostra que quando a cultura de soja recebe uma adubação nitrogenada há um grande aumento na produção de grãos. Conclui o mesmo autor dizendo que o emprêgo de 33,6 quilos de nitrogênio por hectare produz maior aumento de produção do que quando se empregam inoculantes. A aplicação de nitrogênio produz aumento no tamanho das sementes, assim como na porcentagem de proteínas nas mesmas.

Wiss (8) mostra que nos Estados Unidos da América do Norte cêrca de 79% da cultura de soja foram plantados para colheita de sementes, 12% para fenação e sòmente 9% com a finalidade de

enterrio ou pastoreio. Na área central norte, aproximadamente 93% da cultura se destinam à produção de grãos.

Procurando determinar a quantidade do nitrogênio do ar atmosférico fixado pelas bactérias que vivem associadas às raízes da soja, foi que se instalou o ensaio relatado no presente trabalho.

2 — MATERIAL E MÉTODO

O ensaio foi realizado em estufa de vidros na sede do Instituto Agrônomo, em vasos de ferro esmaltado (Mitscherlich) contendo solo tipo terra-roxa-misturada, da Estação Experimental Central do Instituto Agrônomo, município de Campinas e a leguminosa estudada foi a soja (*Glycine max* (L.) Merrill), variedade "abura".

O solo, coletado à profundidade de 0 — 20 cm, foi sêco ao ar, muito bem misturado e passado através de uma peneira de 2 mm de abertura de malha. Sua análise revelou as seguintes características físicas e químicas:

Argila	49,0	%
Limo	30,0	%
Areia grossa	21,0	%
pH internacional	5,30	
C (carbono)	1,07	%
N (nitrogênio)	0,049	%
PO ₄ ⁻⁻⁻ (1)	0,01 e.mg	por 100 g de solo sêco
K ⁺ trocável	0,08 e.mg	por 100 g de solo sêco
Ca ⁺⁺ trocável	3,45 e.mg	por 100 g de solo sêco
Mg ⁺⁺ trocável	1,17 e.mg	por 100 g de solo sêco
H ⁺ trocável	3,52 e.mg	por 100 g de solo sêco

Os tratamentos empregados foram sete (com três repetições de cada um), a saber: 1) Testemunha geral; 2) N P K; 3) N P K + cal-

(1) Extraído com solução de H₂SO₄ 0,05 N.

cário; 4) N P K + inoculante; 5) N P K + calcário + inoculante; 6) P K + calcário + inoculante; 7) P K + calcário.

Os materiais fertilizantes foram empregados nas formas de NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e KCl, em solução e nas quantidades de 2,0 g de N, 2,2 g de P_2O_5 e de 3,0 g de K_2O por vaso, nos tratamentos em que entraram os elementos correspondentes. Para o preparo dos vasos foram colocados aproximadamente 4,5 kg de terra nos mesmos, a seguir juntaram-se os materiais fertilizantes, completando-se depois o peso de 6 kg com solo, em cada vaso.

O calcário utilizado foi do tipo dolomítico (CaO 27,6% e MgO 19,2%), com grau de finura da peneira 50 (0,3 mm de abertura de malha) e na quantidade de 12 g por vaso. Nos vasos em que entrou este tratamento, os 6 kg de solo foram previamente misturados intimamente com o calcário.

As sementes, nos tratamentos em que receberam inoculantes, foram previamente inoculadas com *Rhizobium japonicum*, na proporção de 240 g de inoculante para 60 kg de sementes (1).

Umedeceu-se o solo e semeou-se a soja, em 2 de dezembro de 1955. Os vasos foram em seguida cobertos com placas de vidro. A germinação deu-se aos 7 dias do mesmo mês e o desbaste foi feito em 16 de dezembro, deixando-se três plantinhas por vaso.

Foram feitas observações relativas ao desenvolvimento da parte aérea, durante todo o período vegetativo ou seja, desde a germinação até a época do corte.

No período de florescimento, época que se recomenda para o corte das leguminosas quando empregadas para adubação verde, procedeu-se à colheita. A parte aérea foi cortada bem rente ao solo, pesada, picada e colocada em estufa para secagem a 60°C. A parte subterrânea, raízes e nódulos, foi cuidadosamente retirada dos vasos, lavada, fotografada, após o que foi seca também a 60°C. Determinou-se o nitrogênio total nas partes aérea e subterrânea, pelo processo de Kjeldahl.

Durante todo o transcorrer do experimento os vasos foram mantidos com umidade favorável. O percolado era retornado aos vasos, seguindo-se, em linha gerais, a técnica preconizada por Mitscherlich.

(1) O inoculante empregado foi fornecido pelo Eng.º Agr.º Cyro G. Teixeira, do Laboratório de Microbiologia do Instituto Agronômico.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças bastante sensíveis entre os tratamentos que receberam nitrogênio como fertilizante e os que não receberam esse elemento. Nestes, as plantas se apresentavam com sintomas acentuados de deficiência de nitrogênio, além de terem o porte bastante inferior ao das demais, dos outros tratamentos (figura 1).

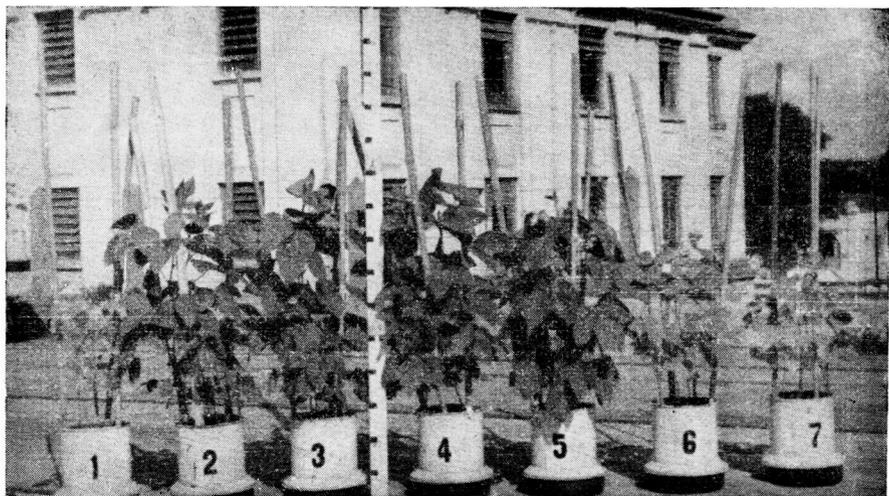


FIGURA 1. — Fotografia no final do ensaio, mostrando um exemplar de cada tratamento: 1) Testemunha geral, 2) NPK, 3) NPK + calcário, 4) NPK + inoculante, 5) NPK + calcário + inoculante, 6) PK + calcário + inoculante e 7) PK + calcário.

Os resultados obtidos com relação ao peso do material, assim como a dosagem do nitrogênio dos mesmos, são apresentados no quadro 1.

Por esses dados pode ser verificado que o nitrogênio fez falta nos tratamentos que não receberam tal fertilizante. Os tratamentos 6 (PK + calcário + inoculante) e 7 (PK + calcário) produziram pequena quantidade de material aéreo e subterrâneo, quando comparados aos tratamentos que receberam adubação nitrogenada. As plantas não tiveram desenvolvimento normal e produziram praticamente três vezes menos, em peso.

QUADRO 1. — Resultados da determinação do material seco na parte aérea e raízes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) var. "abura" cultivada em vasos contendo terra-roxa-misturada, e do nitrogênio total na parte aérea e raízes das plantas e no solo utilizado (*)

Tratamento	Hastes e folhas		Raízes		N no solo no final da experiência
	Material seco	N no material seco	Material seco	N no material seco	
	g	%	g	%	
1 — Testemunha	19,9	0,693	10,6	1,092	0,049
2 — NPK	157,6	0,880	33,5	0,840	n.d.
3 — NPK + calcário	150,3	0,889	46,9	1,078	n.d.
4 — NPK + inoculante	158,8	0,877	47,5	1,064	n.d.
5 — NPK + calcário + inoculante	161,6	0,910	58,7	1,092	n.d.
6 — PK + calcário + inoculante	54,1	0,819	25,8	1,736	0,049
7 — PK + calcário	53,4	0,789	23,7	1,694	0,047

(*) Dados relativos às três repetições de cada tratamento.

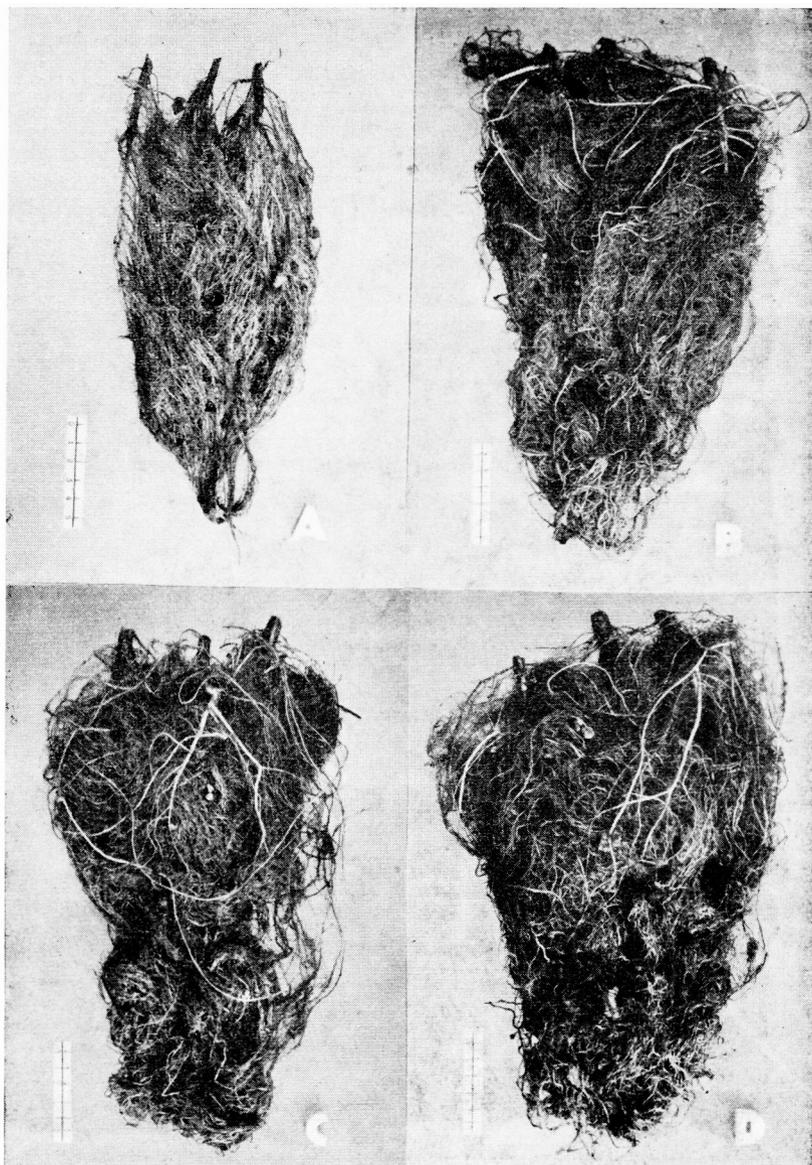


FIGURA 2. — Raízes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, var. *abura*) mostrando a nodulação obtida nos tratamentos: A — Testemunha; B — NPK; C — NPK + calcário; e D — NPK + inoculante.

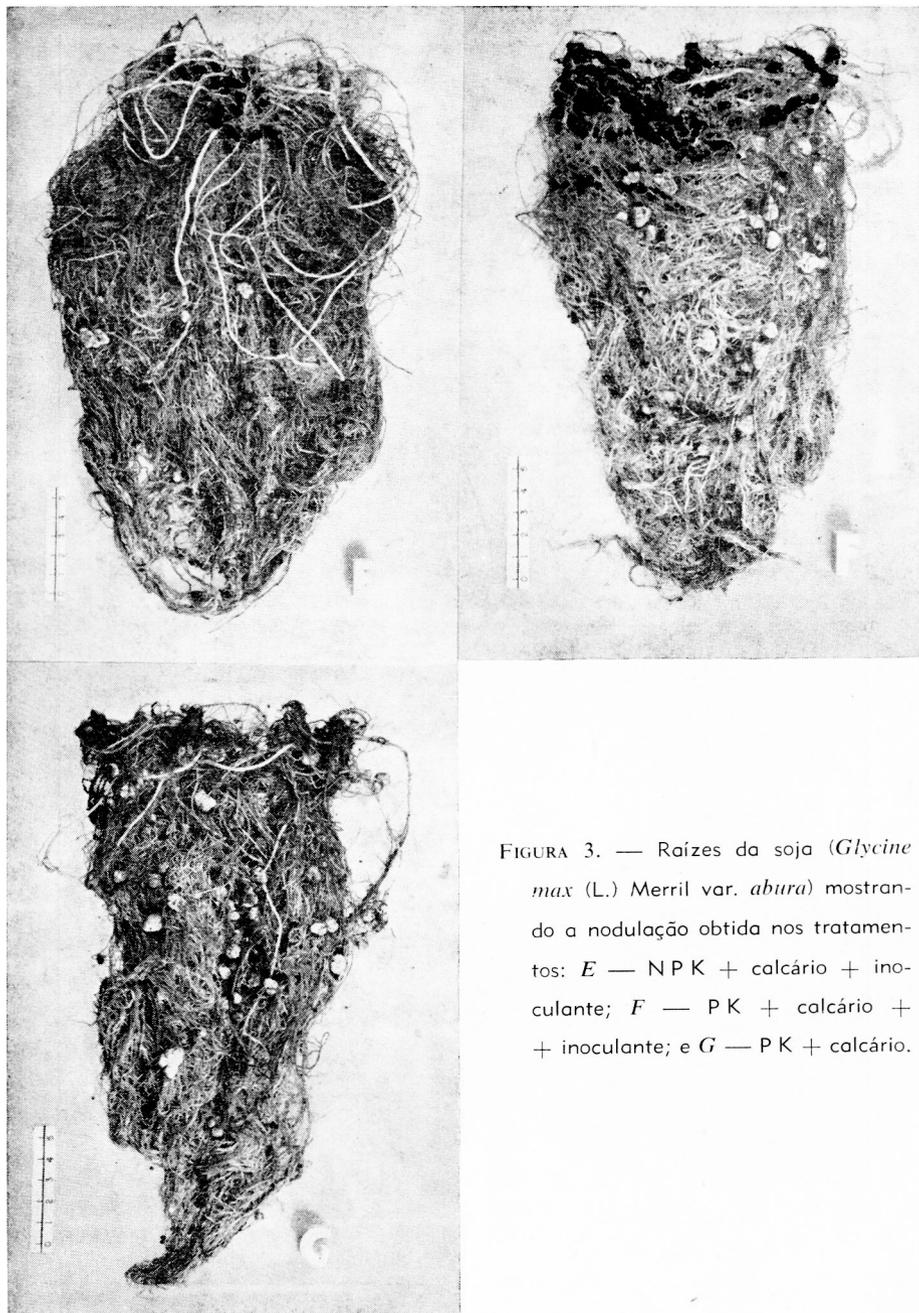


FIGURA 3. — Raízes da soja (*Glycine max* (L.) Merrill var. *abura*) mostrando a nodulação obtida nos tratamentos: *E* — NPK + calcário + inoculante; *F* — PK + calcário + inoculante; e *G* — PK + calcário.

O teor em nitrogênio na parte aérea das plantas que não receberam fertilizante nitrogenado foi inferior ao das plantas que receberam aquêle elemento fertilizante.

Nas raízes verificou-se o inverso: nos tratamentos em que entrou fertilizante nitrogenado o teor em nitrogênio se apresentou sempre inferior ao dos tratamentos onde se omitiu aquêle fertilizante. Entretanto, a quantidade total de nitrogênio absorvido pelas plantas nos tratamentos que receberam êsse elemento foi cêrca de duas a três vêzes maior do que nos que o não receberam.

A formação dos nódulos bacterianos nas raízes, conforme mostram as figuras 2 e 3 foi bastante intensa nos tratamentos 6 e 7, enquanto que nos demais foi muito reduzida.

Pelos dados obtidos pôde-se calcular que a quantidade de nitrogênio fixado por três plantas de soja em um vaso (20 cm de diâmetro), foi de 0,273 g para o tratamento P K + calcário e de 0,297 g para o tratamento P K + calcário + inoculante. A análise do solo dêstes tratamentos, feita após o término do experimento, mostrou um teor igual ou ligeiramente inferior ao inicial.

Experiências similares (1), conduzidas com mucuna-anã e crotalária júncea, mostraram que a fixação de nitrogênio no tratamento P K + calcário foi de 0,52 g para a crotalária júncea e 1,18 g para a mucuna-anã, e que para o tratamento P K + calcário + inoculante, a fixação foi de 0,74 g para a crotalária júncea e de 1,20 g para a mucuna-anã. Para estas duas leguminosas foi verificado um enriquecimento do solo em ambos os tratamentos, enriquecimento êsse que não foi constatado para a soja.

4 — CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos com o presente experimento, as seguintes conclusões podem ser tiradas.

a) As plantas dos vasos que não receberam nitrogênio na forma de fertilizante não conseguiram fixar simbioticamente quantidade suficiente dêsse elemento para o seu desenvolvimento normal, porquanto:

1.º) apresentaram sintomas pronunciados de deficiência de nitrogênio, manifestados por intensa clorose;

2.º) a massa produzida pela parte aérea nos tratamentos sem nitrogênio foi praticamente 1/3 da formada nos tratamentos em que entrou o citado fertilizante.

b) A quantidade total de nitrogênio encontrado nas plantas que receberam fertilizante nitrogenado foi cêrca de duas a três vêzes a existente nas plantas não tratadas com o adubo nitrogenado.

c) A quantidade de nitrogênio fixado por vaso (20 cm de diâmetro) foi de 0,273 g no tratamento P K + calcário e 0,297 g para o tratamento P K + calcário + inoculante.

NITROGEN FIXATION BY BACTERIA IN ASSOCIATION WITH SOYBEAN

SUMMARY

The experiment reported in this paper was carried out to determine the amount of nitrogen fixed from the air by nodule bacteria associated with soybean roots.

The soybean plants were sown in Mitscherlich pots filled with the "terra-roxa-misturada" type of soil that had received the following treatments: 1) check; 2) N P K; 3) N P K + limestone; 4) N P K + inoculant; 5) N P K + limestone + inoculant; 6) P K + limestone + inoculant; and 7) P K + limestone.

When the plants started to blossom, both the aerial part, as well as the roots were collected separately, dried, and analysed for their nitrogen content. The soil was also analysed prior to planting and after the plants had been harvested.

The results indicated that under the conditions of the experiment the symbiotic association — nodule bacteria plus soybean — did not show a great capacity for fixing nitrogen from the air.

LITERATURA CITADA

1. CATANI, R. A., GARGANTINI, H. & GALLO, J. R. A fixação do nitrogênio do ar pelas bactérias que vivem associadas com as leguminosas crotalária e mucuna. *Bragantia* 14:[1]-8. 1954.
2. HANWAY, D. G. Fertilizers and fertility for high yields. *Soybean Dig.* 12(4):12-14. 1952.
3. LYON, L. T., BUCKMAN, H. O. & CADY, N. The nature and properties of soils. 5.ª ed. New York, The Mac Millan Company, 1942. xvii, 591 p.
4. NORMAN, A. G. Recent advances in soil microbiology. *Proc. Soil Sci. Soc. Amer.* 11:9-15. 1946.
5. THOMPSON, L. M. Soil and soil fertility. New York, McGraw Hill Book Company, Inc., 1952. p. 140-149.
6. RUSSEL, E. J. Soil conditions and plant growth. New York, Longmans Green & Co., 1950. p. 311-325.
7. WAKSMAN, S. A. Soil microbiology. New York, Wiley and Sons, 1952. vii, 356 p.
8. WEISS, M. G. Soybeans. *In* Norman, A. G. ed. *Advances in Agronomy*. New York, Academic Press Inc., 1949. p. 77-157.