

## Contribuição de nódulos estratificados por tamanho para a fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro<sup>(1)</sup>.

Stella Cristiani Gonçalves Matoso<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recurso do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia.

<sup>(2)</sup> Professora; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia; Colorado do Oeste, RO; stella.matoso@ifro.edu.br.

**RESUMO:** O número total de nódulos é uma variável comum em estudos de fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Entretanto, sua eficiência é questionável, sendo mais adequado indicadores de massa e tamanho de nódulos. O objetivo deste trabalho foi consolidar um tamanho mínimo de nódulo que contribui efetivamente para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea e crescimento do feijoeiro. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5x2, que corresponde à aplicação nas sementes de duas fontes (molibdato de sódio e molibdato de amônio) e cinco doses (0, 1, 2, 3 e 4 g kg<sup>-1</sup> de sementes) de Mo, na presença e ausência de inoculante rizobiano (*Rhizobium tropici* SEMIA 4088). As variáveis avaliadas foram as massas da parte aérea seca, da raiz seca, total da planta seca, dos nódulos secos e média unitária de nódulos secos, número total de nódulos, nitrogênio total da parte aérea, número de nódulos grandes, médios, pequenos e muito pequenos. A análise estatística consistiu na correlação linear entre as variáveis dentro de cada tratamento. Para aumentar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro devem-se obter nódulos considerados no mínimo médios (> 2,00), e menor frequência de nódulos pequenos e muito pequenos (≤ 2,00 mm).

**Termos de indexação:** *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium tropici*, nodulação.

### INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma fabácea nodulífera com capacidade de estabelecer simbiose mutualista com determinadas espécies de bactérias da família Rhizobiaceae e assim se beneficiar do nitrogênio atmosférico fixado por este processo. Porém, ao contrário da soja, no feijoeiro a fixação biológica de nitrogênio (FBN) não é capaz de suprir a necessidade de N da cultura.

Com isso as investigações científicas da FBN do feijoeiro são necessárias e relevantes. Para realização destas é frequente a utilização variáveis indicadoras de nodulação, acúmulo de nitrogênio e crescimento de planta e, segundo Vargas et al. (1994) estas possuem correlação significativa e positiva entre si.

O número total de nódulos (NTN) é frequentemente empregado como variável indicadora de nodulação. Contudo, nem sempre seu aumento resulta em

incrementos de massa da planta e de nitrogênio acumulado na parte aérea (Matoso, 2012).

Há indicativos de que a variável que mais se correlaciona com a elevação dos níveis de nitrogênio e, por consequência, com o crescimento da planta e produtividade da cultura é massa nodular e não o número de nódulos (Vargas et al., 1994).

O NTN, em experimentos com feijoeiro, além de possuir coeficientes de variação relativamente altos, de até 75,9% (Pelegri et al., 2009), possui grande variabilidade de valores médios que vão desde 4 (Romanini Júnior et al., 2007) a até 477 nódulos.planta<sup>-1</sup> (Moraes et al., 2010). Portanto, é uma variável útil apenas para comparar tratamentos dentro de um mesmo experimento, principalmente, em situações de presença e ausência de inoculação.

A eficiência da simbiose na fixação do N depende mais do tamanho e massa nodular do que do NTN. Desta forma, quando predominam nódulos grandes há tendência de ter-se maior massa nodular e, maior quantidade de N fixado. Por outro lado, grande número de nódulos somente é desejável em quando estes se destacam por seu tamanho e massa, pois como a manutenção dos nódulos depende de fotoassimilados da planta, quando estes são pequenos podem representar dreno sem retorno adequado de N fixado (Vargas et al., 1994).

São necessárias análises mais detalhadas da nodulação para conclusões sobre eficiência da FBN. Estratégia interessante pode ser a estratificação dos nódulos por tamanho, aliada a massa nodular. Avaliação esta, presente em poucos trabalhos (Campanharo, 2006; Kusdra, 2002; Matoso, 2012). Entretanto não se encontram na literatura valores padrões de tamanho de nódulos, sendo importante a consolidação dos mesmos.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi consolidar um tamanho mínimo de nódulo que contribui efetivamente para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea e crescimento do feijoeiro.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram desenvolvidos dois experimentos em esquema fatorial 2x5x2, que corresponde a duas fontes e cinco doses de molibdênio e presença e ausência de inoculante rizobiano, totalizando 20 tratamentos, com quatro repetições, em delineamento inteiramente casualizado. A pesquisa foi realizada em casa de vegetação, em Colorado do Oeste.

Como planta teste utilizou-se as cultivares IPR Colibri (Experimento 1) e IPR 139 (Experimento 2) de feijoeiro. Ambas pertencem ao grupo carioca, possuem porte ereto e flor de cor branca. A IPR Colibri apresenta hábito de crescimento tipo I e ciclo de 67 dias, enquanto que a cultivar IPR 139 possui hábito de crescimento tipo II e ciclo de 89 dias.

As unidades experimentais consistiram em vasos de 1,8 L, contendo aproximadamente 2 kg de solo classificado como Argissolo Vermelho Eutrófico típico.

O inoculante consistiu de produto comercial contendo *Rhizobium tropici* SEMIA 4088 veiculado em turfa esterilizada, contendo  $1,10 \times 10^9$  células viáveis de rizóbio  $g^{-1}$  de inoculante. As fontes de Mo foram molibdato de amônio e de sódio. As doses consistiram em 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 g de Mo  $kg^{-1}$  de sementes.

Entre os estádios V2 e V3, efetuou-se o desbaste mantendo-se a planta a mais vigorosa por vaso. As irrigações foram realizadas mantendo a umidade do solo a 75% da capacidade de campo.

As variáveis foram as massas da parte aérea seca (MPAS); da raiz seca (MRS); total da planta seca (MTS); dos nódulos secos (MNS); média unitária de nódulos secos (MMUNS); número total de nódulos (NTN) e; nitrogênio total da parte aérea (NTPA).

A coleta das plantas ocorreu no estádio R6 (floração). O NTN foi obtido a partir da retirada e contagem dos nódulos visualmente perceptíveis, seguido de sua estratificação em número de nódulos grandes (NNG) ( $\geq 3,35$  mm), de nódulos médios (NNM) (entre 3,35 e 2,00 mm), de nódulos pequenos (NNP) (entre 2,00 e 1,00 mm) e de nódulos muito pequenos (NNMP) ( $\leq 1,00$  mm) (**Figura 1**). A MSMUN foi obtida pela razão MSN/NTN. Foi realizada a secagem em estufa a 65 °C, até massa constante da parte aérea, raízes e nódulos, obtendo-se a MPAS, MRS e MNS, e a partir do somatório destas a MTPS. O NTPA foi determinado pelo método Kjeldahl (Tedesco, 1995) e de acordo com a MPAS foi calculado o NTPA.

A análise estatística consistiu na correlação linear entre as variáveis dentro de cada tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a estratificação por tamanho dos nódulos do feijoeiro IPR Colibri, verificou-se que com doses intermediárias (1, 2 e 3 g  $kg^{-1}$  de sementes) de Mo na forma de molibdato de amônio obteve-se maior percentual de NNM. Com o uso de molibdato de sódio este resultado se repetiu apenas na presença do inoculante. A ocorrência de NNG foi quase que insignificante, predominando NNP e NNMP (**Tabela 1**).

Os coeficientes de correlação do feijoeiro IPR Colibri (**Tabela 2**) demonstram que a MMUNS obteve correlação positiva com o NNM e negativa com o NNMP, resultado este explicado pelo fato da MMUNS ter sido obtida pela razão entre a MNS e NTN. Logo, a ocorrência de nódulos maiores eleva a

massa média unitária. Houve também correlação positiva entre o NNM e NNP, demonstrando que há proporcionalidade entre estes tamanhos.

O NTN correlacionou-se positivamente com o NNP e NNMP, evidenciando que o NTN é composto em sua maioria por nódulos pequenos e muito pequenos, o que explica a ausência de correlação entre o tamanho dos nódulos com as demais variáveis, pois o NNM e NNG que ocorreu não foram suficientes para alterar a MNS e contribuir para NTPA.

Observa-se que MNS, NTN e MMUNS não se correlacionaram com as variáveis MPAS, MRS, MTPS e NTPA. O NTPA apresentou correlação altamente significativa com as variáveis indicadoras de crescimento de plantas (MPAS e MRS).

Para o feijoeiro IPR 139 (**Tabela 1**) constata-se que o NNP e NNMP foram predominantes, porém com diferença para o molibdato de sódio, pois na presença de inoculante rizobiano (considerando valores médios entre as doses) ocorreu maior percentual de NNMP (63%) do que NNP (35%), e o contrário, na ausência, 80% de NNP e 18% de NNMP, constatando então que as estirpes nativas promoveram nódulos maiores do que quando combinadas com a introduzida. Para o molibdato de amônio a distribuição foi mais homogênea.

Observando as doses de Mo para as duas fontes não se constata diferença expressiva. Campanharo (2006) avaliando estas variáveis em estádios fenológicos distintos obteve correlações diferentes. Aos 21 dias após a semeadura, verificou correlação significativa e positiva entre MNS e o N acumulado na parte aérea, porém aos 42 dias encontrou correlação significativa e negativa entre MNS e crescimento da raiz, e ausência de correlação entre MNS e tamanho de nódulos com o N da parte aérea. Resultado semelhante ao do presente experimento, que foi avaliado aos 52 dias após a semeadura.

No feijoeiro IPR 139, o aumento do NNM contribuiu para o incremento de MRS, MTPS, NTN e MSMUN, porém não influenciou o NTPA (**Tabela 3**). Estas correlações corroboram em partes com Pereira et al. (1993), que afirmam que quanto maior o NTN e MNS maior é o acúmulo de massa e N na parte aérea. Esta situação foi verificada apenas para as variáveis indicadoras de massa (MTPS e MRS).

Por outro lado o NNMP influenciou negativamente a MNS, NNM e NNP. Portanto, de modo similar ao feijoeiro IPR Colibri, a elevada frequência de NNMP e a quantidade insuficiente de NNM e NNG para aumentar significativamente a MNS, fizeram com que esta não obtivesse correlação significativa com as variáveis relacionadas à MTPS e NTPA da parte aérea, mas apenas com MMUNS e NTN (**Tabela 3**).

Observa-se que os diferentes tratamentos influenciaram de forma distinta a formação dos nódulos e a correlação entre as variáveis.

**Tabela 1 – Estratificação de nódulos do feijoeiro IPR Colibri e IPR 139. Colorado do Oeste, RO, 2011.**

Tratamentos combinados <sup>1</sup>	NTN		NNMP		NNP		NNM		NNG	
	un	%	un	%	un	%	un	%	un	%
<b>IPR Colibri</b>										
101	68	100	31	45	34	49	4	6	0	0
111	43	100	18	42	23	53	2	5	0	0
121	58	100	32	55	25	43	1	2	0	0
131	84	100	40	48	41	49	3	4	0	0
141	69	100	30	43	37	54	2	3	0	0
102	80	100	56	70	24	30	0	0	0	0
112	62	100	24	39	36	58	2	3	0	0
122	71	100	25	35	39	55	7	10	0	0
132	49	100	23	46	21	42	6	12	0	0
142	67	100	29	43	38	57	0	0	0	0
201	111	100	38	42	52	57	1	1	0	0
211	67	100	18	27	42	63	6	9	1	1
221	121	100	38	32	65	54	16	13	1	1
231	55	100	17	31	33	60	5	9	0	0
241	95	100	51	54	44	46	0	0	0	0
202	74	100	36	48	39	52	0	0	0	0
212	74	100	17	23	43	57	15	20	0	0
222	48	100	21	43	26	53	2	4	0	0
232	97	100	37	38	55	56	6	6	0	0
242	86	100	45	52	40	47	1	1	0	0
<b>IPR 139</b>										
101	38	100	7	24	29	76	0	0	0	0
111	103	100	14	17	84	81	2	2	0	0
121	63	100	18	14	51	80	3	5	0	0
131	49	100	20	14	41	83	1	3	0	0
141	70	100	24	19	57	81	0	0	0	0
102	51	100	15	36	33	63	1	1	0	0
112	65	100	30	31	45	69	0	0	0	0
122	97	100	9	25	67	69	6	6	1	0
132	42	100	9	35	28	65	0	0	0	0
142	57	100	9	52	28	48	0	0	0	0
201	37	100	28	24	28	76	0	0	0	0
211	60	100	16	14	50	82	2	3	0	0
221	68	100	23	13	53	78	6	9	0	0
231	94	100	10	24	86	73	3	3	0	0
241	50	100	9	32	34	67	1	1	0	0
202	78	100	11	29	53	68	2	3	1	0
212	38	100	14	26	28	74	0	0	0	0
222	37	100	7	25	28	75	0	0	0	0
232	66	100	14	16	55	84	0	0	0	0
242	66	100	18	21	52	79	0	0	0	0

<sup>1</sup> O primeiro dígito corresponde às fontes utilizadas, sendo 1 = molibdato de sódio e 2 = molibdato de amônio. O segundo corresponde às doses de Mo, sendo 0 = 0,0; 1 = 1,0; 2 = 2,0; 3 = 3,0 e 4 = 4,0 g.kg<sup>-1</sup> de sementes. O terceiro corresponde ao

inoculante rizobiano, sendo 1 = ausência (somente rizóbios nativos) e 2 = presença (rizóbios nativos + *Rhizobium tropici* SEMIA 4088).

Deve-se então buscar combinações entre cultivares de feijoeiro e espécies e/ou estirpes de rizóbio e manejos de adubação molíbdica que proporcionem o predomínio de nódulos de tamanho mínimo de 2 mm.

### CONCLUSÕES

Para aumentar a eficiência da FBN do feijoeiro devem-se obter nódulos considerados no mínimo médios (> 2,00), e menor frequência de nódulos pequenos e muito pequenos (≤ 2,00 mm).

### REFERÊNCIAS

CAMPANHARO, M. Acidez do solo na fixação biológica do nitrogênio em feijão. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

KUSDRA, J. F. Nodulação do feijoeiro e fixação biológica do nitrogênio em resposta à microbiolização das sementes e à aplicação de micronutrientes. 2002. 128 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MATOSO, S. C. G. Nodulação e crescimento do feijoeiro em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano. 2012. 111f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, 2012.

MORAES, W. B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G. de O.; SIMONE DE PAIVA CAETANO, S. de P.; MORAES, W. B.; COSMI, F. C. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. 28:61-68, 2010.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 33:219-226, 2009.

PEREIRA, P. A. A.; MIRANDA, B. D.; ATTEWELL, J. R.; KMIECIK, K. A.; BLISS, F. A. Selection for increased nodule number in common vean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant and Soil, 148:203-209, 1993.

ROMANINI JUNIOR, A.; ARF, O.; BINOTTI, F. F. da S.; SÁ, M. E. de; BUZETTI, S.; FERNANDES, F. A. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. Bioscience Journal, 23:74-82, 2007.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C.; PERES, J. R. R. Fixação biológica de nitrogênio em solos de Cerrados. Brasília, DF: Embrapa. 83p.

**Tabela 2** – Correlação linear simples entre as variáveis avaliadas em experimento realizado com feijoeiro IPR Colibri em Colorado do Oeste, RO, 2011.

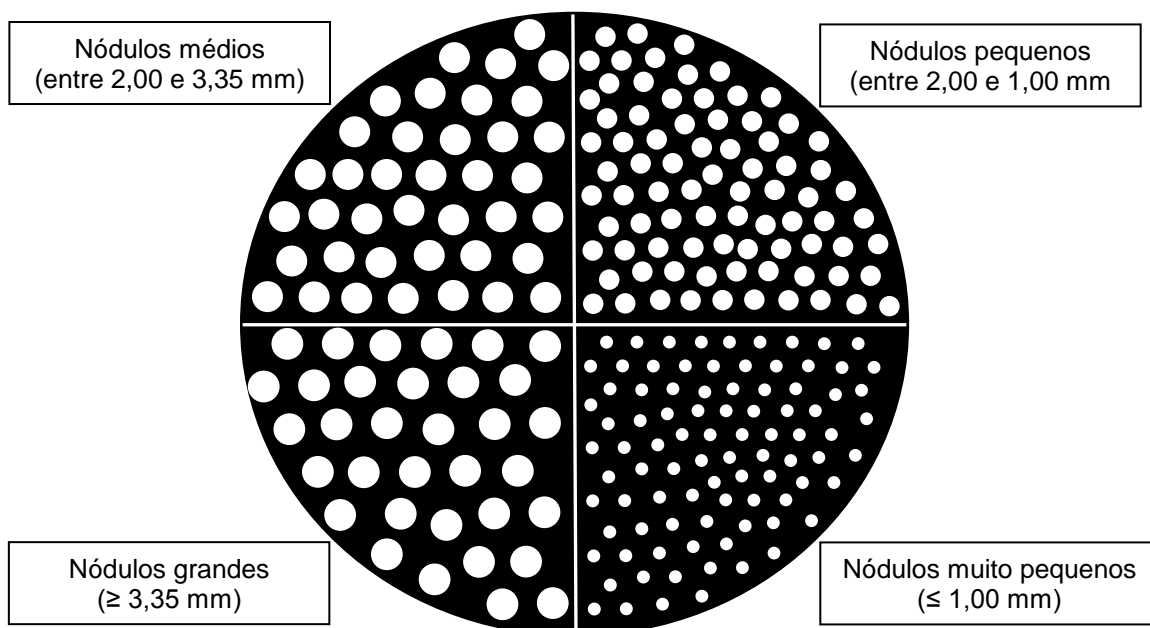
Variáveis <sup>1</sup>	MSR	MSN	MST	NTN	MSMUN	NPA	NTPA	NNM	NNP	NNMP
MSPA	0,59**	-0,29 <sup>ns</sup>	0,57**	0,07 <sup>ns</sup>	-0,26 <sup>ns</sup>	0,44*	0,55**	0,04 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>
MSR		-0,26 <sup>ns</sup>	0,88**	0,20 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,61**	0,82**	0,36 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>
MSN			-0,27 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,25 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>
MST				-0,01 <sup>ns</sup>	0,34 <sup>ns</sup>	0,68**	0,96**	0,42 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	-0,21 <sup>ns</sup>
NTN					0,01 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>	-0,12 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	0,88**	0,64**
MSMUN						0,21 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>ns</sup>	0,74**	0,28 <sup>ns</sup>	-0,49*
NPA							0,85**	0,20 <sup>ns</sup>	-0,08 <sup>ns</sup>	-0,25 <sup>ns</sup>
NTPA								0,35 <sup>ns</sup>	-0,06 <sup>ns</sup>	-0,28 <sup>ns</sup>
NNM									0,54*	-0,21 <sup>ns</sup>
NNP										0,29 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup> MSPA: massa seca da parte aérea; MSR: massa seca da raiz; MSN: massa seca de nódulos; NTN: número total de nódulos; MSMUN: massa seca média unitária de nódulos; NPA: nitrogênio da parte aérea; NTPA: nitrogênio total da parte aérea; NNM: número de nódulos médios; NNP: número de nódulos pequenos; NNMP: número de nódulos muito pequenos.

**Tabela 3** – Correlação linear simples entre as variáveis avaliadas em experimento realizado com feijoeiro IPR 139 em Colorado do Oeste, RO, 2011

Variáveis <sup>1</sup>	MSR	MSN	MST	NTN	MSMUN	NPA	NTPA	NNM	NNP	NNMP
MSPA	0,70**	0,35 <sup>ns</sup>	0,99**	0,12 <sup>ns</sup>	0,24 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>	0,83**	0,43 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	-0,25 <sup>ns</sup>
MSR		0,39 <sup>ns</sup>	0,77**	0,09 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	0,40 <sup>ns</sup>	0,69**	0,57**	-0,04 <sup>ns</sup>	-0,12 <sup>ns</sup>
MSN			0,40 <sup>ns</sup>	0,61**	0,79**	0,06 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>	0,86**	0,42 <sup>ns</sup>	-0,62**
MST				0,13 <sup>ns</sup>	0,29 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	0,85**	0,49*	0,15 <sup>ns</sup>	-0,27 <sup>ns</sup>
NTN					0,15 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	0,46*	0,10 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>ns</sup>
MSMUN						0,09 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,76**	0,36 <sup>ns</sup>	-0,54 <sup>ns</sup>
NPA							0,82**	0,15 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
NTPA								0,34 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	-0,18 <sup>ns</sup>
NNM									0,21 <sup>ns</sup>	-0,46*
NNP										-0,96**

<sup>1</sup> MSPA: massa seca da parte aérea; MSR: massa seca da raiz; MSN: massa seca de nódulos; NTN: número total de nódulos; MSMUN: massa seca média unitária de nódulos; NPA: nitrogênio da parte aérea; NTPA: nitrogênio total da parte aérea; NNM: número de nódulos médios; NNP: número de nódulos pequenos; NNMP: número de nódulos muito pequenos.



**Figura 1** – Disco com a estratificação do tamanho de nódulos de feijoeiro.