



## Nodulação e crescimento do feijoeiro em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano

Stella C. G. Matoso<sup>1</sup> & Jorge F. Kusdra<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Rodovia, RO. E-mail: stellamatoso\_rm@hotmail.com (Autor correspondente)

<sup>2</sup> Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. E-mail: kusdra@globo.com

### Palavras-chave:

fixação biológica de nitrogênio

*Phaseolus vulgaris*

*Rhizobium tropici*

IPR 139

### RESUMO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) possui a capacidade de se beneficiar da fixação biológica de nitrogênio; entretanto, o sucesso deste processo é influenciado por diversos fatores. O objetivo deste trabalho foi dimensionar a magnitude da contribuição do molibdênio (fontes e doses) e rizóbios (nativos e introduzidos) para nodulação, acúmulo de nitrogênio e crescimento do feijoeiro IPR 139. O experimento foi realizado no ano de 2011 em casa de vegetação, no delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 5 \times 2$  que, nas sementes, corresponde respectivamente à aplicação, 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 analisadas foram: 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 e nitrogênio total da parte aérea. Os resultados indicam o molibdato de amônio como a melhor fonte para elevar a massa de nódulos formados por rizóbios nativos, nas doses entre 2,0 e 3,0 g kg<sup>-1</sup> de sementes. A inoculação de *R. tropici* SEMIA 4088 não se mostrou eficiente para aumentar o crescimento de planta nem, tampouco, a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio.

### Key words:

biological nitrogen fixation

*Phaseolus vulgaris*

*Rhizobium tropici*

IPR 139

## Nodulation and growth of bean in response to application of molybdenum and rhizobia inoculation

### ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) has the capacity to benefit from biological nitrogen fixation (FBN). However the success of this process is influenced by several factors. The aim of this study was to scale the magnitude of the contribution of molybdenum (sources and doses) and rhizobia (native and introduced) for nodulation, nitrogen accumulation and growth of IPR 139 bean. The experiment was conducted in 2011 in a greenhouse in a completely randomized factorial  $2 \times 5 \times 2$ , corresponding respectively to the application in seeds from two sources (sodium molybdate and ammonium molybdate) and five doses of Mo (0, 1, 2, 3 and 4 g kg<sup>-1</sup> seed) in the presence and absence of rhizobia inoculation (*Rhizobium tropici* SEMIA 4088). The variables analysed were: dry mass of shoot, root and total (shoot + root), dry nodules and average unit nodule, the total number of nodules and total nitrogen in aerial parts. The results indicate ammonium molybdate as the best source for raising the mass formed by indigenous rhizobia nodules, at doses between 2 and 3 g kg<sup>-1</sup> seed. Inoculation of *R. tropici* SEMIA 4088 was not efficient to increase plant growth, nor nodulation and nitrogen fixation.

## INTRODUÇÃO

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

Dentre os fatores que interferem na FBN do feijoeiro estão as características intrínsecas à planta e ao rizóbio. O ciclo da cultura e o tempo de resposta à nodulação são aspectos importantes (Deka et al., 2006).

Normalmente, a nodulação é tardia no feijoeiro sendo os benefícios da simbiose iniciados 15 a 20 dias após a semeadura razão pela qual cultivares de ciclo mais longo são as de maior potencial de resposta a este processo (Araújo et al., 1996). O fato de o feijoeiro ser capaz de formar nódulos promovidos por várias espécies e estirpes de *Rhizobium* (Rufini et al., 2011) também interfere na eficiência da FBN devido a diferenças no potencial de fixação, competição por sítios nodulares e adaptação às condições ambientais (Deka et al., 2006).

Grande parte dos problemas relacionados à FBN no feijoeiro está ligada ao processo de domesticação e seleção de determinadas cultivares visando características desejáveis apenas no aspecto comercial negligenciando caracteres de

nodulação, o que pode ter alterado o equilíbrio simbiótico entre o rizóbio e a planta, situação esta evidenciada pelo fato de que feijoeiros silvestres frequentemente apresentam maior capacidade de nodulação do que os domesticados (Franco et al., 2002).

Devido ao descrédito do feijoeiro se beneficiar da FBN de forma eficiente, a adubação nitrogenada tem sido prática recorrente para elevar o rendimento da cultura. Contudo, os ganhos de produtividade são obtidos a partir do aumento dos custos de produção e dos impactos ambientais (Crusciol et al., 2007).

Esses impactos decorrem das diversas dificuldades no manejo do N em razão do seu baixo aproveitamento efetivo pelas plantas e ao seu comportamento dinâmico no solo, caracterizado por vários processos relacionados à entrada (fixação biológica, adubação, mineralização) e saída (colheitas, erosão, lixiviação, volatilização, desnitrificação) do elemento do solo e às suas diferentes formas químicas ( $N_2$ ,  $NH_3$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ) (Cantarella et al., 2007).

Neste contexto se destaca a necessidade do desenvolvimento de tecnologias eficientes e de baixo custo econômico e ambiental capazes de elevar os níveis de produtividade da cultura. Há indicativos de que alguns fatores podem aumentar a eficiência da FBN no feijoeiro destacando-se o uso da adubação molibídica (Albuquerque et al., 2012) uma vez que o Mo, sendo constituinte básico das enzimas nitrogenase e redutase do nitrato, está diretamente envolvido no metabolismo do N promovendo seu aproveitamento na forma nítrica (redutase do nitrato) ou atmosférica (nitrogenase) (Pessoa et al., 2001).

Objetivou-se com este trabalho dimensionar a magnitude da contribuição do molibdênio (fontes e doses) e rizóbios (nativos e introduzidos) para nodulação, acúmulo de nitrogênio e crescimento do feijoeiro IPR 139.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições tratamentos no esquema fatorial  $2 \times 5 \times 2$  que correspondem, respectivamente, a duas fontes (molibdato de sódio e de amônio) e cinco doses (0, 1, 2, 3 e 4 g  $kg^{-1}$  de semente) de Mo e presença e ausência de inoculante rizobiano. A pesquisa foi desenvolvida em casa de vegetação, no setor de Agricultura III do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), Campus Colorado do Oeste.

Como planta teste utilizou-se o feijoeiro IPR 139, que pertence ao grupo carioca, possui porte ereto, hábito de crescimento tipo II, ciclo de 89 dias, potencial produtivo de 3.500 kg  $ha^{-1}$  e teor médio de proteína nos grãos de 23,00% (IAPAR, 2012).

As unidades experimentais consistiram em vasos plásticos de 1,8 L confeccionados a partir de garrafas PET (Politereftalato de etileno), contendo aproximadamente 2 kg de solo classificado como Argissolo Vermelho Eutrófico típico, como substrato; após coletado o solo foi tamizado em peneira de malha 5 mm.

Com base em análise química foi efetuada a calagem e, considerando a condição de trabalho em vasos 30 dias após, elevou-se o nível de fertilidade do substrato mediante adubação fosfatada com 200 mg de P na forma de superfosfato simples (18% de  $P_2O_5$ ), e potássica com 100 mg de K na forma de cloreto de potássio (60% de  $K_2O$ ).

Na instalação dos experimentos o solo apresentou os seguintes atributos químicos: pH ( $CaCl_2$ ) = 6,1; matéria orgânica = 48,4 g  $dm^{-3}$ ; P = 41,5 mg  $dm^{-3}$ ; K = 183 mg  $dm^{-3}$ ; Ca = 6,7  $cmol_c dm^{-3}$ ; Mg = 2,2  $cmol_c dm^{-3}$ ; Al = 0,0  $cmol_c dm^{-3}$ ; H = 1,3  $cmol_c dm^{-3}$ ; soma de bases = 9,4  $cmol_c dm^{-3}$ ; capacidade de troca de cátions = 10,7  $cmol_c dm^{-3}$ ; saturação por bases = 87,7%; saturação por Ca = 62,7%; saturação por Mg = 20,2%; saturação por K = 4,5%; saturação por H = 12,3%; relação Ca/Mg = 3,1; relação Ca/K = 14,1 e relação Mg/K = 4,5.

Também foram determinados atributos físicos e biológicos do solo. Obtiveram-se, pela caracterização granulométrica, as seguintes frações: 736 g  $kg^{-1}$  de areia, 67 g  $kg^{-1}$  de silte e 197 g  $kg^{-1}$  de argila. Com a análise biológica foram dimensionadas as populações de rizóbios nativos estimadas pelo método de infecção em plantas, cultivadas em vaso com solução nutritiva por período de crescimento de 20 dias, com três repetições por amostra e seis diluições ( $10^{-3}$  a  $10^{-8}$ ) obtendo-se  $5,38 \times 10^4$  células viáveis de rizóbio  $g^{-1}$  de solo (Andrade & Hamakawa, 1994).

Realizou-se, ainda, a análise química das sementes constatando-se os seguintes atributos: N = 3,21%; P = 0,33%; K = 1,38%; Ca = 0,12%; Mg = 0,18%; S = 0,20%; Fe = 86,8 ppm; Mn = 16,1 ppm; Cu = 9,5 ppm; Zn = 25,4 ppm; Na = 10,0 ppm; B = 13,2 ppm; Al = 31,4 ppm; Co = 0,40 ppm e; Mo < 0,10 ppm. E para IPR 139: N = 3,18%; P = 0,39%; K = 1,42%; Ca = 0,15%; Mg = 0,19%; S = 0,18%; Fe = 123,0 ppm; Mn = 17,0 ppm; Cu = 12,2 ppm; Zn = 29,4 ppm; Na = 10,0 ppm; B = 11,4 ppm; Al = 89,6 ppm; Co = 0,30 ppm e Mo < 0,10 ppm.

O inoculante rizobiano utilizado foi produto comercial veiculado em turfa esterilizada constituído da espécie *Rhizobium tropici* SEMIA 4088 (CPAC H-12). O número mais provável (NMP) de células viáveis do produto foi estimado pelo método de diluição seriada e contagem de colônias em placas com meio ágar manitol extrato de levedura (Andrade & Hamakawa, 1994), obtendo-se  $1,10 \times 10^9$  células viáveis de rizóbio  $g^{-1}$  de inoculante.

As fontes de Mo foram o molibdato de amônio [ $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ], com 54% de Mo e molibdato de sódio ( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ), com 39% de Mo; as doses consistiram em 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 g de Mo por quilograma de semente.

O tratamento das sementes foi realizado no período da tarde; aplicaram-se, inicialmente, 6 ml  $kg^{-1}$  de solução açucarada a 10%, a fim de garantir maior adesão dos produtos; em seguida, procedeu-se à aplicação das fontes e doses de Mo e, nos tratamentos inoculados, 10 g de inoculante turfoso para 1 kg de semente; após a secagem das sementes efetuou-se sua semeadura em profundidade padrão de 2,5 cm, no dia 30 de agosto de 2011; aos dez dias após a semeadura efetuou-se, entre os estádios fenológicos V2 e V3, o desbaste mantendo-se apenas uma planta por vaso, ou seja, a mais vigorosa.

As irrigações foram realizadas mantendo-se a umidade do solo a 75% da capacidade de campo; ressalta-se que as condições

ambientais de umidade relativa do ar e temperatura, inclusive do solo (8,5 cm de profundidade) foram monitoradas durante o período experimental.

As variáveis determinadas foram: massas da parte aérea seca (MPAS), da raiz seca (MRS), total da planta seca (MTPS), dos nódulos secos (MNS), média unitária de nódulos secos (MMUNS), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA). Para a avaliação das variáveis foi coletada a parte aérea das plantas, cortando-as rentes ao solo, 52 dias após a semeadura, quando as mesmas atingiram o estágio fenológico R6 (floração); posteriormente as raízes com os nódulos foram retiradas e após sua limpeza foram armazenadas em recipientes com álcool 70% até a contagem dos nódulos; isto feito realizou-se a secagem em estufa na temperatura de 65 °C até massa constante da parte aérea, raízes e nódulos, obtendo-se as MPAS, MRS e MNS e a partir do seu somatório, a MTPS. A partir do material seco determinou-se o nitrogênio da parte aérea em valores relativos por digestão úmida e destilação pelo método Kjeldahl (Tedesco et al., 1995) e de acordo com a MPAS foi calculado o NTPA enquanto o NTN foi obtido a partir da retirada e contagem dos nódulos visualmente perceptíveis.

A análise estatística iniciou-se com a verificação de dados discrepantes (outliers) pelo teste de Grubbs, de normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e de homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Para as variáveis que não apresentaram homogeneidade das variâncias e/ou normalidade dos erros, efetuou-se a transformação dos dados e para aquelas cujos dados, mesmo depois de transformados, não atenderam aos pressupostos da análise de variância, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; em seguida, realizou-se a análise de variância para verificar os efeitos isolados (independentes) e/ou combinados (interação) do inoculante rizobiano (*Rhizobium tropici* SEMIA 4088) e do Mo (fontes e doses) nas variáveis consideradas. Para a avaliação das fontes de Mo utilizou-se o teste F e para as doses foi realizada a análise de regressão considerando-se a equação de maior grau significativo até segundo grau. Procedeu-se ainda à avaliação por contrastes ortogonais do efeito da ausência (0 g kg<sup>-1</sup>) e presença (1, 2, 3 e 4 g kg<sup>-1</sup>) de Mo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isoladamente, as fontes de Mo (molibdato de sódio e de amônio) não influenciaram ( $p > 0,05$ ) as variáveis MPAS, MTPS e MMUNS; a presença do Mo foi estatisticamente superior à ausência apenas para as variáveis MPAS e NTPA (Tabela 1); avaliando o efeito isolado do inoculante rizobiano constata-se que sua ausência não influenciou ( $p > 0,05$ ) o NTN mas sim ( $p < 0,05$ ) a MMUNS (Tabela 2).

As MPAS e MTPS foram influenciadas ( $p < 0,05$ ) pela interação entre doses de Mo e presença e ausência de inoculante rizobiano sendo melhor explicadas ( $R^2 > 0,6$ ) por modelos quadráticos apenas na ausência do inoculante rizobiano (Figura 1); com as equações de regressão obtidas estima-se obter-se valores máximos de 3,91 g de massa de parte aérea seca (MPAS)

**Tabela 1.** Comparação por contrastes ortogonais do efeito do molibdênio independente das fontes utilizadas, sobre as massas da parte aérea seca (MPAS), da raiz seca (MRS), total da planta seca (MTPS) e média unitária dos nódulos secos (MMUNS), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro IPR 139, obtidos no experimento

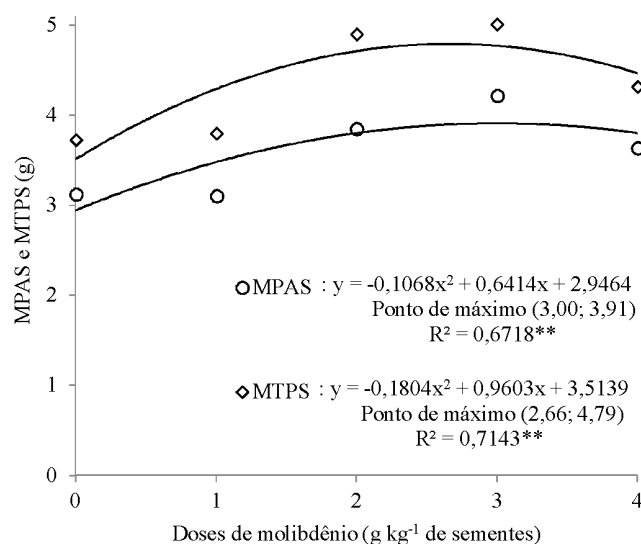
Variáveis	Molibdênio	
	Ausência <sup>1</sup>	Presença <sup>2</sup>
MPAS (g)	3,28 b	3,72 a
MRS (g)	0,63 a	0,69 a
MTPS (g)	3,90 a	4,46 a
NTN (unidade)	48,00 a	63,96 a
MMUNS (mg)	0,19 a	0,28 a
NTPA (mg)	115,46 b	149,43 a

<sup>1</sup> Dose de 0 g kg<sup>-1</sup> de sementes (isolada); <sup>2</sup> Doses de 1, 2, 3 e 4 g kg<sup>-1</sup> de sementes (combinadas). Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F, a nível de 0,05 de probabilidade

**Tabela 2.** Número total de nódulos (NTN) e massa seca média unitária de nódulos secos (MMUNS) do feijoeiro IPR 139, obtidos no experimento

Inoculante rizobiano	Ausência <sup>1</sup>	Presença <sup>2</sup>
NTN (unidade)	59,61a	58,57a
MMUNS (mg)	0,34a	0,19b

<sup>1</sup> Somente rizóbios nativos; <sup>2</sup> Rizóbios nativos + introduzido (*Rhizobium tropici* SEMIA 4088). Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F, a nível de 0,05 de probabilidade



**Figura 1.** Massas da parte aérea seca (MPAS) e total da planta seca (MTPS) do feijoeiro IPR 139 em função de doses de molibdênio observadas na ausência de inoculante rizobiano

com a dose de 3,00 g de Mo kg<sup>-1</sup> de sementes e de 4,79 g de massa total da planta seca (MTPS) com a dose de 2,66 g de Mo kg<sup>-1</sup> de sementes.

O NTN variou em função da interação entre fontes e doses de Mo, porém não se verificou ajuste linear ou quadrático que o explicasse observando-se diferença ( $p < 0,05$ ) entre as fontes na dose de 3 g de Mo kg<sup>-1</sup> de sementes com superioridade para o molibdato de amônio.

A MRS foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pela interação tripla entre os fatores avaliados (Tabela 3); considerando que as melhores doses de Mo variaram entre 2,12 e 3,00 g kg<sup>-1</sup> de sementes para MPAS e MTPS (Figura 1) torna-se mais adequado discutir apenas as doses de 2 e 3 g kg<sup>-1</sup> de sementes; com isto se constata, ao avaliar a MRS, que com a aplicação de 2 g kg<sup>-1</sup> de sementes de molibdato de amônio as populações nativas de rizóbio são favorecidas. Na dose de 3 g kg<sup>-1</sup> de sementes não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre a ausência e a presença de inoculante rizobiano em nenhuma das fontes; contudo, quando não se utiliza o inoculante o molibdato de sódio proporciona maior incremento que o de amônio (Tabela 3).

**Tabela 3.** Massa da raiz seca (MRS) do feijoeiro IPR 139 em gramas (g) em função da interação entre molibdênio (fontes e doses) e inoculante rizobiano observada no experimento

Molibdênio		Inoculante rizobiano	
Doses <sup>1</sup>	Fontes <sup>2</sup>	Ausência <sup>3</sup>	Presença <sup>4</sup>
0	MS	0,59 Aa	0,68 Aa
	MA	0,59 Aa	0,64 Aa
1	MS	0,64 Aa	0,62 Aa
	MA	0,60 Aa	0,62 Aa
2	MS	0,68 Aa	0,71 Aa
	MA	0,86 Aa	0,72 Ba
3	MS	0,82 Aa	0,65 Aa
	MA	0,69 Ab	0,72 Aa
4	MS	0,61 Aa	0,73 Aa
	MA	0,71 Aa	0,65 Aa

<sup>1</sup> Em g kg<sup>-1</sup> de sementes; <sup>2</sup> MS - Molibdato de sódio; MA - Molibdato de amônio. <sup>3</sup> Somente rizóbios nativos; <sup>4</sup> Rizóbios nativos + *Rhizobium tropici* SEMIA 4088. Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas para uma mesma dose de molibdênio, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F, a nível de 0,05 de probabilidade

Para MNS, os tratamentos combinados de molibdato de sódio, dose de 2 g kg<sup>-1</sup> de sementes e presença do inoculante rizobiano e de molibdato de amônio, dose de 2 g kg<sup>-1</sup> de sementes e ausência do inoculante rizobiano foram superiores ( $p < 0,01$ ) aos demais (Tabela 4). Esses resultados demonstram novamente o efeito da dose de 2 g kg<sup>-1</sup> uma vez que as fontes de Mo e a presença e ausência do inoculante rizobiano variaram nas melhores combinações. Outro aspecto evidenciado é o efeito da combinação do molibdato de amônio com a ausência do inoculante rizobiano indicando que esta fonte pode favorecer os rizóbios nativos fato também observado nas variáveis MRS (Tabela 3) e NTN.

O NTPA foi influenciado ( $p < 0,05$ ) pela tríplice interação entre os fatores analisados (Tabela 5); avaliando novamente as doses de 2 e 3 g kg<sup>-1</sup> de sementes observa-se que só houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as fontes na dose de 3 g kg<sup>-1</sup> de sementes estimando-se maior teor de NTPA (187,66 mg) com molibdato de sódio na ausência do inoculante rizobiano.

Avaliando os resultados das variáveis apresentadas de forma geral e considerando principalmente os efeitos isolados e as duplas interações, percebe-se que: as melhores doses de Mo se mantiveram entre 2,12 e 3,00 g kg<sup>-1</sup> de sementes; as fontes não diferiram significativamente entre si e a presença do inoculante rizobiano não proporcionou incrementos significativos nas principais variáveis indicadoras de crescimento (MPAS, MTPS

**Tabela 4.** Massa dos nódulos secos (MNS) do feijoeiro IPR 139, em miligramas (mg), em função da interação entre molibdênio (fontes e doses) e inoculante rizobiano observada no experimento

Molibdênio		Inoculante rizobiano <sup>3</sup>	Soma de ranks	Médias
Fontes <sup>1</sup>	Doses <sup>2</sup>			
MS	0	A	63,00	8,80 ij
MS	1	A	109,00	2,45 efg
MS	2	A	159,50	30,10 bc
MS	3	A	175,50	27,10 b
MS	4	A	104,00	11,47 efg
MS	0	P	30,00	5,70 j
MS	1	P	70,50	8,43 hij
MS	2	P	213,50	30,60 a
MS	3	P	79,50	7,70 ghij
MS	4	P	47,50	8,30 j
MA	0	A	62,50	7,40 ij
MA	1	A	150,00	30,17 bcd
MA	2	A	231,00	35,88 a
MA	3	A	144,50	23,90 cd
MA	4	A	125,00	2,40 def
MA	0	P	74,00	15,65 ghij
MA	1	P	90,00	7,70 ghi
MA	2	P	54,50	5,90 j
MA	3	P	97,00	9,87 fgh
MA	4	P	130,50	12,80 cde

<sup>1</sup> MS - Molibdato de sódio; MA - Molibdato de amônio. <sup>2</sup> Em g kg<sup>-1</sup> de semente. <sup>3</sup> A - Ausência (Somente rizóbios nativos); P - Presença (Rizóbios nativos + *Rhizobium tropici* SEMIA 4088). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a nível de 0,01 de probabilidade

**Tabela 5.** Nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro IPR 139, em miligramas (mg), em função da interação entre molibdênio (fontes e doses) e inoculante rizobiano observada no experimento

Molibdênio		Inoculante rizobiano	
Doses <sup>1</sup>	Fontes <sup>2</sup>	Ausência <sup>3</sup>	Presença <sup>4</sup>
0	MS	110,19 Aa	123,98 Aa
	MA	114,68 Aa	110,11 Aa
1	MS	115,13 Ba	153,21 Aa
	MA	123,66 Aa	143,52 Aa
2	MS	164,63 Aa	177,56 Aa
	MA	157,42 Aa	172,89 Aa
3	MS	187,66 Aa	143,48 Ba
	MA	137,07 Ab	158,70 Aa
4	MS	129,04 Aa	142,01 Aa
	MA	138,58 Aa	134,01 Aa

<sup>1</sup> Em g kg<sup>-1</sup> de semente; <sup>2</sup> MS - Molibdato de sódio; MA - Molibdato de amônio. <sup>3</sup> Somente rizóbios nativos; <sup>4</sup> Rizóbios nativos + *Rhizobium tropici* SEMIA 4088. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas, para uma mesma dose de molibdênio, não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a nível de 0,05 de probabilidade

e MRS) (Figura 1; Tabela 3). Além disso, o efeito combinado do *Rhizobium tropici* do inoculante com as populações de rizóbios nativos mostrou desempenho inferior apenas ao da sua presença para a MMUNS (Tabela 2).

O efeito das doses de Mo é explicado pelo fato deste elemento ser constituinte de duas enzimas relacionadas ao metabolismo do N: da nitrogenase, responsável pela conversão do nitrogênio atmosférico em amônia e do nitrato redutase que atua na assimilação do N, essencialmente na redução do nitrato a nitrito (Kubota et al., 2008). Pessoa et al. (2001) observaram, para o feijoeiro, ponto máximo de atividade da nitrogenase com a aplicação de 108 g de Mo ha<sup>-1</sup> e da nitrato redutase com 90 g de



Mo ha<sup>-1</sup> para a cultura da soja. Toledo et al. (2010) constataram que com doses de Mo iguais ou superiores a 30 g ha<sup>-1</sup> (até 60 g ha<sup>-1</sup>), via foliar se obtém maior atividade da enzima nitrato redutase e, por outro lado, maior número e massa de nódulos são obtidos com a aplicação de Mo via semente.

Outro fator que também contribuiu para os resultados positivos do uso do Mo foi o seu baixo teor na semente, inferior a 0,10 mg kg<sup>-1</sup> de sementes, abaixo do nível crítico de 1,75 mg kg<sup>-1</sup> de sementes, apontado por Jacob Neto & Franco (1986). A suplementação deste micronutriente traz, com frequência, resultados benéficos para variáveis relacionadas à FBN e ao crescimento e produtividade das plantas (Silva et al., 2003; 2012).

As poucas diferenças verificadas entre as fontes de molibdênio sugerem que a cultivar IPR 139 não responde às doses de “arranque” de N citadas na literatura (Pelegrin et al., 2009; Brito et al., 2011). Silva et al. (2003) não obtiveram diferença entre molibdato de sódio e de amônio aplicados via foliar, avaliando variáveis indicadoras de produtividade de duas cultivares de feijoeiro.

Os efeitos de inoculantes rizobianos no feijoeiro são variáveis e divergentes. Considerando a espécie *Rhizobium tropici*, encontram-se resultados promissores (Guareschi et al., 2009; Pelegrin et al., 2009) e também a não interferência das estirpes inoculadas (Andrade et al., 2001). Oliveira & Sbadlerloto (2011) observaram, avaliando o efeito de *Rhizobium tropici* em seis cultivares de feijão, desempenho satisfatório da espécie inoculada mas apenas em uma cultivar (Eldorado).

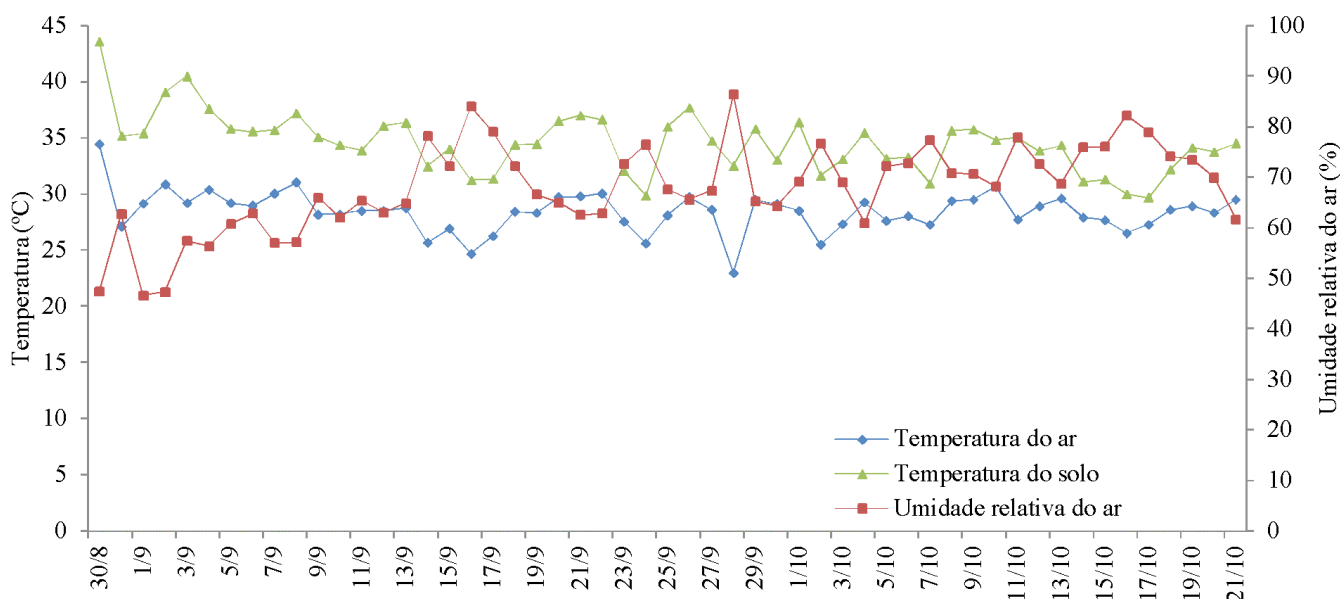
É importante destacar que quando se introduzem rizóbios selecionados via inoculante não se exclui a possibilidade dos naturalmente presentes no solo (nativos) promoverem nodulação, exceto se a inoculação for efetuada em condições artificiais (solo esterilizado). Portanto, as estirpes de rizóbio do inoculante devem ser também, além de eficientes na FBN, suficientemente competitivas para que sejam capazes de superar as nativas garantindo maior nodulação que estas.

A maior capacidade competitiva das estirpes nativas em relação às introduzidas é explicada por fatores outros, como abundância numérica (Triplett & Sadowsky, 1992), maior mobilidade no solo, capacidade quimiotática em direção aos exsudatos da planta, presença de determinados polissacarídeos da superfície celular, produção de toxinas e velocidade de infecção das raízes (Hungria et al., 1997). Como o feijoeiro inibe a nodulação posterior apenas com a presença da bactéria no interior do nódulo sem que, necessariamente, esta seja eficiente (George et al., 1992) torna-se imprescindível, avaliar, além de variáveis relacionadas ao crescimento da planta e nodulação, as relacionadas ao N da planta.

As estirpes nativas obtiveram maior ( $p < 0,5$ ) acúmulo de NTPA com a condição de aplicação de 3 g de Mo kg<sup>-1</sup> de sementes (Tabela 5); esses resultados demonstram que com a aplicação de Mo é possível melhorar o desempenho simbiótico das populações de rizóbios nativos do solo e, desta forma, aumentar a eficiência da FBN. Streit et al. (1992) constataram que a espécie *Rhizobium tropici* é menos competitiva que *R. etili* e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, e mais influenciada por fatores abióticos.

Hungria & Franco (1993) consideram temperaturas abaixo de 28 e acima de 33 °C limites críticos para o feijoeiro nodulado. Hungria et al. (1985) constataram reduções significativas na FBN com temperaturas superiores a 31 °C e ainda correlação negativa e altamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre a temperatura da rizosfera do feijoeiro nodulado e o N acumulado na parte aérea.

Neste experimento as temperaturas do solo foram mais altas do que as consideradas críticas chegando a até 43,6 °C logo nos primeiros dias após a semeadura (Figura 2). Este fato reforça a importância de favorecer as estirpes nativas de rizóbio pois mesmo em condições de altas temperaturas promoveram incremento no NTPA com a aplicação de 3 g de molibdato de sódio kg<sup>-1</sup> de sementes.



**Figura 2.** Variações de temperatura (ar e solo) e umidade relativa do ar observada em casa de vegetação durante a realização do experimento com feijoeiro IPR 139 no experimento

A condição de pH de 6,1 também desfavoreceu a estirpe inoculada visto que o *Rhizobium tropici* se sobressai em solos ácidos com pH em torno de 5,0; uma vez que o pH ideal para a cultura do feijoeiro está ao redor de 5,5 a 6,7 (Hungria et al., 1997) e a deficiência de Ca, Mg, P e Mo interfere negativamente na FBN (Miguel & Moreira, 2001), a prática da calagem se faz necessária uma vez que, além de elevar o pH, fornece Ca e Mg e auxilia na disponibilização de P e Mo (Lopes et al., 2004). Deste modo, o *R. tropici* pode ser frequentemente desfavorecido quando se melhoram as condições para a planta.

A partir desta discussão remete-se novamente às fontes de Mo pois, apesar de não terem diferido estatisticamente considerando seus efeitos isolados para MPAS, MTPS e MMUNS (Tabela 1), o molibdato de amônio favoreceu as estirpes nativas de rizóbio, com base nas MRS, MNS e NTN (Tabelas 3 e 4) e como se obteve, com a estirpe inoculada, rendimento inferior ( $p < 0,05$ ) de MPAS e MTPS (Figura 1), MRS (Tabela 3) e NTPA (Tabela 5); é recomendável favorecer o desempenho simbiótico das estirpes nativas com a aplicação de doses de 2 a 3 g Mo kg<sup>-1</sup> de sementes na forma de molibdato de amônio.

## CONCLUSÕES

1. As fontes molibdato de sódio e molibdato de amônio interferem da mesma forma no crescimento de plantas e no nitrogênio acumulado na parte aérea porém o molibdato de amônio favorece o incremento de massa dos nódulos formados por rizóbios nativos no feijoeiro IPR 139.

2. A aplicação de molibdênio entre 2,0 e 3,0 g kg<sup>-1</sup> de sementes favorece o crescimento e o acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas do feijoeiro IPR 139.

3. A inoculação das sementes de feijão IPR 139 com *Rhizobium tropici* SEMIA 4088 em solos com pH em torno de 6,0 e altas populações de rizóbios nativos não é capaz de melhorar os indicadores de nodulação e fixação biológica de nitrogênio desta cultivar.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo e ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) pela doação de sementes e realização de análises.

## LITERATURA CITADA

- Albuquerque, H. C. de; Pegoraro, R. F.; Vieira, N. M. B.; Amorim, I. de J. F.; Kondo, M. K. Capacidade nodulatória e características agronômicas de feijoeiros comuns submetidos à adubação molibídica parcelada e nitrogenada. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, p.214-221, 2012.
- Andrade, D. de S.; Hamakawa, P. J. Estimativa do número de células rizóbio no solo e inoculantes por infecção em plantas. In: Hungria, M.; Araújo, R. S. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: EMBRAPA, 1994. Cap.3, p.63-94.
- Andrade, M. J. B. de; Alvarenga, P. E.; Silva, R. da; Carvalho, J. G. de; Junqueira, A. D. de A. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenada e molibídica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. *Ciência e Agrotecnologia*, v.25, p.934-940, 2001.
- Araújo, F. F. de; Munhoz, R. E. V.; Hungria, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.31, p.435-443, 1996.
- Brito, M. de M. P.; Muraoka, T.; Silva, E. C. da. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. *Bragantia*, v.70, p.206-215, 2011.
- Cantarella, H. Nitrogênio. In: Novais, R. F.; Alvarez, V. H. V.; Barros, N. F. de; Fontes, R. L. F.; Cantarutti, R. B.; Neves, J. C. L. (ed.). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. Cap. 7, p.375-470.
- Crusciol, C. A. C.; Soratto, R. P.; Silva, L. M. da; Lemos, L. B. Fontes e doses de nitrogênio para o feijoeiro em sucessão a gramíneas no sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.31, p.545-552, 2007.
- Deka, A. K.; Azad, P.; Patra, S. C. Survival of *Rhizobium* in soil at different pH, temperature and moisture levels. *Ecology, Environment and Conservation Paper*, v.12, p.751-754, 2006.
- Franco, M. C.; Cassini, S. T. A.; Oliveira, V. R.; Vieira, C.; Tsai, S. M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.1145-1150, 2002.
- George, M. L. C.; Robert, F. M.; Bohlool, B. B. Genetic analysis of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* mutants defective in nodulation and nodulation suppression. *Applied and Environmental Microbiology*, v.58, p.188-210, 1992.
- Guareschi, R. F.; Perin, A.; Rocha, A. C. Inoculação com *Rhizobium tropici* na cultura do feijoeiro comum em solo de Cerrado. *Revista de Ciência da Vida*, v.29, p.42-48, 2009.
- Hungria, M.; Franco, A. A. Effects of right temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, v.149, p.95-102, 1993.
- Hungria, M.; Thomas, R. J.; Döbereiner, J. Efeito do sombreamento na fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.20, p.1143-1156, 1985.
- Hungria, M.; Vargas, M. A. T.; Araújo, R. S. Fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. In: Vargas, M. A. T.; Hungria, M. *Biologia dos solos dos Cerrados*. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. p.187-258.
- IAPAR - Instituto Agrônomo do Paraná. Cultivar de feijão IPR Colibri. <[http://www.iapar.br/arquivos/File/zip\\_pdf/iprcolibri.pdf](http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/iprcolibri.pdf)>. 23 Mar. 2012.
- Jacob Neto, J.; Franco, A. A. Adubação do molibdênio em feijoeiro. *Seropédica: UAPNBS*, 1986. 4p. Comunicado Técnico, 1.
- Kubota, F. Y.; Andrade Neto, A. C. de; Araújo, A. P.; Teixeira, M. G. Crescimento e acumulação de nitrogênio de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de molibdênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.32, p.1635-1641, 2008.
- Lopes, A. S.; Guilherme, L. R. G.; Marques, R. Guia de fertilidade do solo. Lavras: UFLA, 2004. 501p.

- Miguel, D. L.; Moreira, F. M. S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.25, p.873-883, 2001.
- Oliveira, R. S. de; Sbardelotto, J. M. Nodulação em diferentes variedades de feijão inoculadas com *Rhizobium tropici*. Cultivando o Saber, v.4, p.46-52, 2011.
- 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, v.33, p.219-226, 2009.
- Pessoa, A. C. S.; Ribeiro, A. C.; Chagas, J. M.; Cassini, S. T. A. Atividades de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “Ouro Negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.24, p.217-224, 2001.
- Rufini, M.; Ferreira, P. A. A.; Soares, B. L.; Oliveira, D. P.; Andrade, M. J. B de; Moreira, F. M. de S. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro-comum em diferentes valores de pH. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, p.81-88, 2011.
- Silva, E. de B.; Santos, S. R.; Fonseca, F. G.; Tanure, L. P. P.; Freitas, J. P. X. de. Aplicação foliar de molibdênio em feijoeiro irrigado cultivado no norte de Minas Gerais. Bioscience Journal, v.28, p.64-71, 2012.
- Silva, M. V. da; Andrade, M. J. B. de; Moraes, A. R. de; Alves, V. G. Fontes e doses de molibdênio via foliar em duas cultivares de feijoeiro. Ciência e Agrotecnologia, v.27, p.26-133, 2003.
- Streit, W.; Kosch, K.; Werner, D. Nodulation competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* and *Rhizobium tropici* strains measured by glucuronidase (*gus*) gene fusions. Biology and Fertility of Soils, v.14, p.140-144, 1992.
- Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C. A.; Bohnen, H.; Volkweiss. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.
- Toledo, M. Z.; Garcia, R. A.; Pereira, M. R. R.; Boaro, C. S. F.; Lima, G. P. P. Nodulação e atividade da nitrato redutase em função da aplicação de molibdênio em soja. Bioscience Journal, v.26, p.858-864, 2010.
- Triplett, E. W.; Sadowsky, M. J. Genetics of competition for nodulation of legumes. Annual Review of Microbiology, v.46, p.399-428, 1992.