

# Sementes Enriquecidas com Fósforo Aumentam a Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio no Feijoeiro

EDUARDO CHAGAS<sup>(1)</sup>, ADELSON PAULO ARAÚJO<sup>(2)</sup>, DANIEL VIDAL PÉREZ<sup>(3)</sup>,  
BRUNO JOSÉ RODRIGUES ALVES<sup>(4)</sup> & MARCELO GRANDI TEIXEIRA<sup>(4)</sup>

**RESUMO** – Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de sementes enriquecidas com P e Mo na contribuição da fixação biológica de N (FBN) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), através da técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N. Foram utilizados vasos com Latossolo enriquecido com <sup>15</sup>N, misturado com areia. Foi adotado esquema fatorial 2x3x2x2 com quatro repetições, entre duas doses de P no solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>), três fontes de N (controle sem N, inoculado com rizóbio e N mineral), dois teores de P na semente (baixo e alto) e dois teores de Mo na semente (baixo e alto). O alto teor de P na semente aumentou a acumulação de biomassa e N da parte aérea, principalmente nas plantas inoculadas sob baixo P no solo, e a massa de nódulos nas plantas inoculadas nas duas doses de P no solo. A maior dose de P no solo aumentou a contribuição da FBN. A inoculação com as estirpes recomendadas aumentou a contribuição da FBN. O alto P na semente aumentou a contribuição da FBN, nas plantas inoculadas sob baixo P do solo. O alto Mo na semente aumentou a contribuição da FBN nas plantas controle sem N. Sementes enriquecidas com P aumentam o crescimento, a acumulação de N e a contribuição da FBN em plantas de feijoeiro, particularmente em plantas inoculadas crescidas sob menor disponibilidade de P no solo.

**Palavras-Chave:** diluição isotópica, semente, *Phaseolus vulgaris*.

## Introdução

Altos teores de P em sementes estimulam o crescimento, a nodulação e a acumulação de N do feijoeiro, particularmente sob baixa disponibilidade de P no solo [1] [2]. Como o suprimento limitado de P causa atrasos no desenvolvimento da nodulação no feijoeiro [3], o maior teor de P em sementes pode aumentar a disponibilidade do nutriente em estádios iniciais de infecção e formação dos nódulos. Plantas de feijão originadas de sementes com alto teor de Mo absorveram muito pouco Mo do solo durante seu crescimento, indicando que as sementes podem fornecer quantidades de Mo suficientes para o adequado crescimento vegetal [4].

A adubação foliar constituiria uma alternativa tecnológica para elevar os teores de P e Mo nas

sementes, uma vez que pequenas quantidades de nutrientes são necessárias, e as aplicações podem ser combinadas com o controle sanitário. A adubação foliar em estádios reprodutivos propiciou a produção de sementes de feijoeiro com maiores teores de P e de Mo [5]. Essa estratégia pode resultar na otimização do processo de fixação de N<sub>2</sub> associado ao feijoeiro.

Entre as várias técnicas disponíveis para avaliar a contribuição da fixação biológica de N às plantas, destaca-se a diluição isotópica de <sup>15</sup>N, onde é necessário cultivar a planta em simbiose diazotrófica num solo onde o N esteja marcado com <sup>15</sup>N. Se o enriquecimento de <sup>15</sup>N do N que a planta absorve do solo é conhecido, a quantidade de N não marcado oriundo do ar via fixação biológica de N<sub>2</sub> será proporcional à diluição do <sup>15</sup>N extraído do solo [6].

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de sementes de feijoeiro enriquecidas com P e Mo, obtidas em plantas que receberam adubação foliar com estes nutrientes, na contribuição da fixação biológica de N através da técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N.

## Material e Métodos

As sementes enriquecidas da cultivar Carioca foram obtidas em experimento de campo, destinado à produção de sementes com diferentes teores de P e de Mo via adubação foliar [5]. As sementes apresentavam teores de P e Mo, respectivamente, de (em mg P g<sup>-1</sup> e µg Mo g<sup>-1</sup>): baixo P baixo Mo 2,50 e < 0,5, baixo P alto Mo 2,71 e 12,2, alto P baixo Mo 3,59 e < 0,5, alto P alto Mo 3,87 e 5,81.

Foram utilizados 122 vasos com 5,0 kg de Latossolo Vermelho Escuro, misturado com 5,0 kg de areia lavada. O solo havia sido enriquecido com <sup>15</sup>N anos antes, e apresentava 0,1% átomos em excesso de <sup>15</sup>N na ocasião do estudo. A análise do solo apresentou: pH em água 5,1, Al 0,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Ca 4,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Mg 1,1 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, P 28 mg dm<sup>-3</sup>, K 121 mg dm<sup>-3</sup>. Foi adotado um esquema fatorial 2x3x2x2 em blocos ao acaso com quatro repetições, entre duas doses de P aplicado ao solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>), três fontes de N (sem N, inoculado com rizóbio e N mineral), dois teores de P na semente (baixo e alto teor de P) e dois teores de Mo na semente (baixo e alto teor de Mo). O feijoeiro não nodulante e o sorgo foram utilizados como plantas controle, sob duas doses de P no solo e quatro repetições.

<sup>(1)</sup> Mestre em Ciência do Solo pelo Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ.

<sup>(2)</sup> Professor do Departamento de Solos da UFRRJ, Seropédica - RJ. E-mail: aparaujo@ufrj.br

<sup>(3)</sup> Pesquisador da Embrapa Solos, Rio de Janeiro - RJ.

<sup>(4)</sup> Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Seropédica - RJ.

Apoio: CPGA-CS, CNPq e Embrapa Agrobiologia.

Os vasos receberam adubação com nutrientes exceto N e Mo, e nos tratamentos com N mineral foi aplicado 60 mg N kg<sup>-1</sup> na forma de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A semeadura foi efetuada em novembro de 2007. Nos tratamentos inoculados, cada semente recebeu 1 mL de inoculante líquido com as estirpes BR322 e BR520 de *Rhizobium spp.* da coleção da Embrapa Agrobiologia. Aos 10 dias após emergência os vasos foram colocados fora da casa de vegetação em área gramada, quando efetuou-se o desbaste, deixando-se quatro plantas por vaso. Os tratamentos com N mineral receberam 30 mg kg<sup>-1</sup> de N como uréia, 18 dias após a emergência.

A coleta foi efetuada no estágio de formação das vagens, aos 41 dias após emergência. A parte aérea foi separada em caules e folhas. Os sistemas radiculares foram recuperados com uma peneira, as raízes foram lavadas, e os nódulos separados das raízes. Os caules, folhas, raízes e nódulos foram secos em estufa, pesados e moídos. Em cada porção vegetal foi determinado o teor de N pelo método Kjeldahl.

Em amostras de folhas, exceto nos tratamentos que receberam N mineral, foi determinada a composição isotópica de N, em espectrômetro de massa na Embrapa Agrobiologia (Finnigan Mat Deltaplus). Considerando que as folhas acumularam 53% do N contido nas plantas quando da coleta, a contribuição da FBN foi calculada considerando apenas as folhas, assumindo que este compartimento representa o N derivado da FBN na planta inteira neste estágio. A contribuição da FBN foi estimada pela técnica da diluição isotópica de <sup>15</sup>N [6], utilizando as médias do enriquecimento de <sup>15</sup>N do feijão não nodulante e do sorgo.

Os dados foram submetidos à análise de variância como um fatorial quádruplo, avaliando-se os efeitos das doses de P no solo, das fontes de N, dos teores de P e de Mo nas sementes, e de suas interações. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5%.

## Resultados e Discussão

### Crescimento

A maior dose de P aplicado ao solo aumentou a massa de parte aérea e de nódulos do feijoeiro (Figura 1). Teixeira et al. (1999) [2] observaram que enquanto a massa de parte aérea aumentou em 30% em alta dose de P no solo, a massa de nódulos teve incremento de 90%, confirmando que a nodulação é mais responsiva ao suprimento de P que o crescimento do hospedeiro. A massa de nódulos nas plantas sob N mineral foi inferior à testemunha e ao tratamento inoculado, nas duas doses de P no solo (Figura 1), confirmando que a aplicação de N mineral inibe a nodulação do feijoeiro [7]. A expressiva nodulação nas plantas controle não inoculadas confirma que o feijoeiro é um hospedeiro promíscuo com relação ao rizóbio, nodulando mesmo com as estirpes nativas do solo [7].

O alto teor de P na semente aumentou a massa de parte aérea, mas este aumento foi mais expressivo nas plantas inoculadas sob baixo P no solo (Figura 1). Sob alto P no solo, observou-se maior massa de parte aérea

nas plantas controle originadas de sementes com alto P e baixo Mo (Figura 1). Teixeira et al. (1999) [2] e Araújo et al. (2002) [1] observaram que plantas originadas de sementes com alto teor de P apresentaram incremento na massa de parte aérea, porém este efeito reduziu-se com o aumento da dose de P aplicada ao solo.

Os efeitos do Mo da semente no crescimento da parte aérea foram pouco expressivos, destacando-se apenas a maior massa de parte aérea nas plantas inoculadas originadas de sementes com alto P e alto M sob baixo P no solo (Figura 1). Estes resultados contrastam com as observações de Kubota et al. (2008) [8], que verificaram estímulo ao crescimento da parte aérea de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de Mo. Pode-se supor que o solo utilizado no experimento continha quantidades suficientes de Mo para atender à demanda vegetal, reduzindo o efeito do Mo da semente.

Plantas inoculadas oriundas de sementes com alto teor de P apresentaram maior massa de nódulos nas duas doses de P no solo (Figura 1). Teixeira et al. (1999) [2] também verificaram que sob baixos níveis de P no solo, plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de P apresentaram estímulo à nodulação. Plantas originadas de sementes com alto teor de P produziram maior massa de nódulos sob alta dose de P no solo quando houve adição de N mineral (Figura 2). Isto indica que sistemas simbióticos que recebam N mineral também podem se beneficiar de sementes enriquecidas com P.

Na maior dose de P no solo, o maior teor de Mo nas sementes diminuiu a massa de nódulos em plantas que receberam inoculação ou uréia, particularmente quando foram semeadas sementes com baixo P e alto Mo (Figura 2). Resultados semelhantes foram observados por Kubota et al. (2008) [8], que verificaram que o maior teor de Mo nas sementes reduziu o número de nódulos nas cultivares Carioca e Manteigão. A redução da nodulação em plantas oriundas de sementes com alto teor de Mo indicaria um efeito preferencial do Mo sobre a atividade da redutase do nitrato, que aumentaria a assimilação do N do solo, reduzindo a FBN [8].

### Acumulação de N

A acumulação de N na parte aérea foi similar nas duas doses de P no solo nas plantas que receberam N mineral, em contraste com as plantas controle ou inoculadas, onde a acumulação de N foi maior na maior dose de P no solo (Figura 2). Isto demonstra a elevada demanda por P de plantas dependentes da FBN.

Sob baixo P no solo, o alto teor de P na semente aumentou a acumulação de N na parte aérea nas plantas inoculadas (Figura 2). Na maior dose de P no solo, o alto teor de P nas sementes aumentou a acumulação de N na parte aérea das plantas inoculadas e na testemunha (Figura 2). Araújo et al. (2002) [1] também verificaram que o alto teor de P na semente aumentou a acumulação de N na parte na aérea de feijoeiro.

A combinação de altos teores de P e de Mo nas sementes aumentou a acumulação de N no sistema radicular das plantas inoculadas nas duas doses de P no solo (Figura

2). Cabe destacar a elevada acumulação de N no sistema radicular das plantas que receberam N mineral oriundas de sementes com altos teores de P e Mo sob alto P no solo (Figura 2), indicando um efeito sinérgico do P e Mo na semente com o P do solo sobre a acumulação de N.

O alto teor de Mo na semente, associado ao baixo P na semente, reduziu a acumulação de N na parte aérea, nas plantas sob N mineral em baixo P no solo, e a acumulação de N na parte aérea e raízes, nas plantas inoculadas em alto P no solo (Figura 2). Apesar da redução da acumulação de N na parte aérea em plantas oriundas de sementes com alto Mo e baixo P, não houve redução na biomassa de parte aérea (Figura 1), ou seja, houve um efeito de diluição do N acumulado pela planta. Esta seria uma indicação de um efeito preferencial do Mo sobre a atividade da nitrato redutase, aumentando a assimilação do N e reduzindo a demanda por N absorvido do solo ou fixado pela simbiose.

#### Contribuição da FBN

A maior dose de P no solo aumentou a contribuição da FBN (Tabela 1), confirmando que o suprimento de P é fundamental para a simbiose *Phaseolus-Rhizobium*. A inoculação com as estirpes de rizóbio recomendadas para o feijoeiro aumentou a contribuição da FBN, em comparação às plantas não inoculadas (Tabela 1). Desta forma, apesar da expressiva nodulação das plantas controle (Figura 1), as estirpes selecionadas contribuíram para uma maior FBN no feijoeiro. Os valores estimados da contribuição da FBN (Tabela 1) estão muito próximos dos obtidos por Rennie & Kemp (1983) [9] em condições de campo, que variaram entre 41% e 52% do N derivado da atmosfera. Já Hardarson et al. (1993) [10], em uma série de experimentos de campo com feijoeiro, observaram valores entre 35% e 70% de N derivado da atmosfera.

O alto teor P na semente aumentou a contribuição da FBN, mas este efeito só foi significativo em plantas inoculadas sob baixo P do solo (Tabela 2). Isto indica que sementes de feijoeiro com maiores teores de P, associadas à inoculação com estirpes selecionadas, podem aumentar o suprimento de N em plantas de feijoeiro via FBN, principalmente em solos com baixos teores de P disponíveis.

O alto teor de Mo na semente aumentou a contribuição da FBN, mas apenas nas plantas controle (Tabela 2). Isto pode ser atribuído à maior contribuição da FBN nos tratamentos inoculados em relação ao controle (Tabela 1), e neste caso a inoculação de estirpes eficientes teria reduzido o efeito do Mo da semente. Já nas plantas controle, com menor atividade diazotrófica das estirpes nativas do solo, o Mo da semente pode ter causado estímulo à FBN.

#### Conclusões

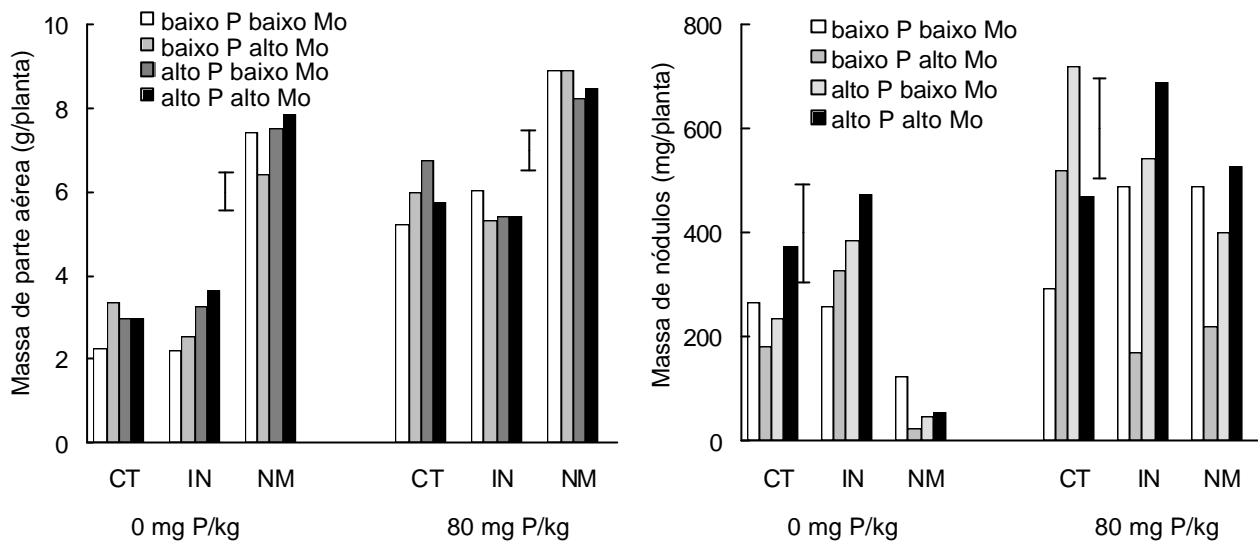
Plantas de feijoeiro originadas de sementes com altos teores de P acumularam mais N, produziram maior massa de nódulos e apresentaram maior massa de parte aérea.

A inoculação com estirpes de rizóbio recomendadas para o feijoeiro aumentou a contribuição da fixação biológica de N, em comparação às plantas não inoculadas.

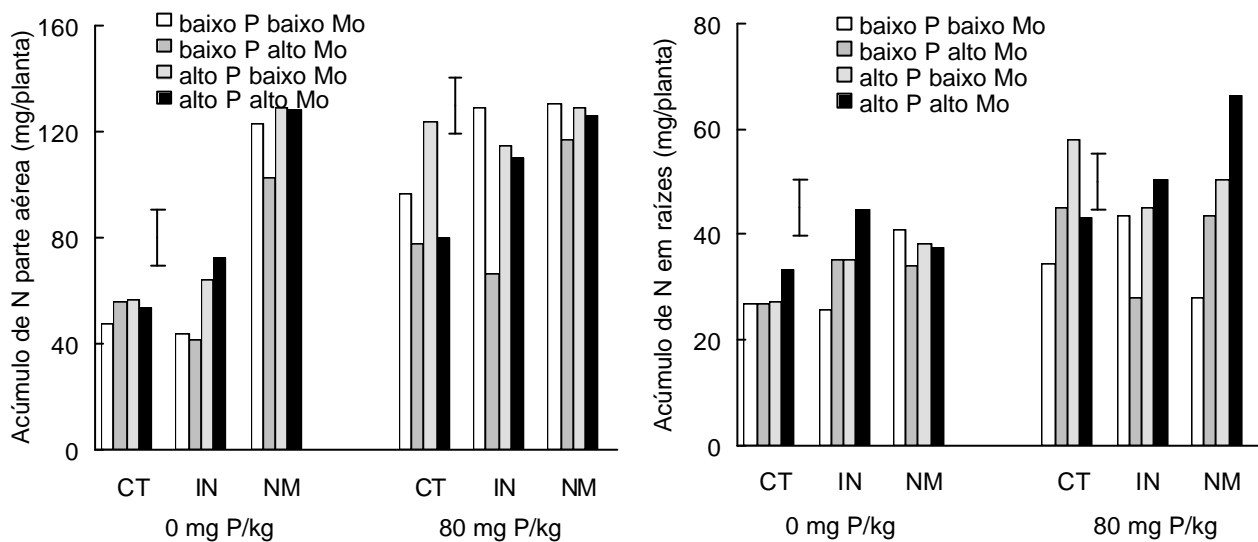
Sementes enriquecidas com P aumentaram a contribuição da fixação biológica de N, mas este efeito foi observado em condições de baixa disponibilidade de P no solo e com inoculação com rizóbio.

#### Referências

- [1] ARAÚJO, A.P.; TEIXEIRA, M.G.; LIMA, E.R. Efeitos do aumento do teor de fósforo na semente, obtido via adubação foliar, no crescimento e na nodulação do feijoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26: 183-189, 2002.
- [2] TEIXEIRA, M.G.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; ARAÚJO, A.P.; FRANCO, A.A. Effect of seed phosphorus concentration on nodulation and growth of three common bean cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 22: 1599-1611, 1999.
- [3] ARAÚJO, A.P.; TEIXEIRA, M.G. Ontogenetic variations on absorption and utilization of phosphorus in common bean cultivars under biological nitrogen fixation. *Plant and Soil*, 225: 1-10, 2000.
- [4] BRODRICK, S.J.; SAKALA, M.K.; GILLER, K.E. Molybdenum reserves of seed, and growth and N fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Biology and Fertility of Soils*, 13: 39-44, 1992.
- [5] KUBOTA, F.Y. Aumento dos teores de fósforo e de molibdênio em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) via adubação foliar. Seropédica: UFRRJ, 2006. 61p. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo).
- [6] UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.B.; CADISCH, G.; BODDEY, R.M.; GILLER, K.; ALVES, B.J.R. & CHALK, P.M. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. Canberra: ACIAR, 2008. v.1. 258p.
- [7] HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. *Biology and Fertility of Soils*, 39: 88-93, 2003.
- [8] KUBOTA, F.Y.; ANDRADE NETO, A.C.; 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*, 32: 1635-1641, 2008.
- [9] RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. N<sub>2</sub>-fixation in field beans quantified by <sup>15</sup>N isotope dilution. II. Effect of cultivars of beans. *Agronomy Journal*, 75: 645-649, 1983.
- [10] HARDARSON, G.; BLISS, F.A.; CIGALES-RIVERO, M.R.; HENSON, R.A.; KIPE-NOLT, J.A.; LONGERI, L.; MANRIQUE, A.; PEÑA-CABRIALES, J.J.; PEREIRA, P.A.A.; SANABRIA, C.A.; TSAI, S.M. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. *Plant and Soil*, 152: 59-70, 1993.



**Figura 1.** Massa seca de parte aérea e de nódulos de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de P e de Mo, sob diferentes fontes de N (CT controle, IN inoculado com rizóbio, NM N mineral) sob duas doses de P aplicado ao solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>); as barras verticais representam a diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%, e comparam tratamentos de sementes dentro de cada fonte de N.



**Figura 2.** Acumulação de N na parte aérea e no sistema radicular (raízes + nódulos) de plantas de feijoeiro originadas de sementes com baixos e altos teores de P e de Mo, sob diferentes fontes de N (CT controle, IN inoculado com rizóbio, NM N mineral) sob duas doses de P aplicado ao solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>); as barras verticais representam a diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%, e comparam tratamentos de sementes dentro de cada fonte de N.

**Tabela 1.** Contribuição da fixação biológica de N (% de N derivado da atmosfera em folhas) em feijoeiro aos 41 dias após emergência, sob duas doses de P no solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>) e duas fontes de N (controle sem N e inoculado com rizóbio); médias de duas concentrações de P e de duas concentrações de Mo nas sementes.

	N derivado da atmosfera nas folhas (%)		
	0 mg P kg <sup>-1</sup>	80 mg P kg <sup>-1</sup>	Média
Controle sem N	52,3 B	75,5 A	63,9 b
Inoculado com rizóbio	58,9 B	78,6 A	68,7 a
Média	55,6 B	77,1 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste Tukey a 5%.

**Tabela 2.** Contribuição da fixação biológica de N (% de N derivado da atmosfera em folhas) em feijoeiro aos 41 dias após emergência, sob duas doses de P no solo (0 e 80 mg P kg<sup>-1</sup>) e duas fontes de N (controle sem N e inoculado com rizóbio), originadas de sementes com baixos e altos teores de P e de Mo.

	N derivado da atmosfera nas folhas (%)					
	Controle sem N			Inoculado com rizóbio		
	Baixo Mo	Alto Mo	Média	Baixo Mo	Alto Mo	Média
	0 mg P kg <sup>-1</sup>					
Baixo P	41,5 B	59,3 A	50,4	46,0 b	50,9 b	48,4 b
Alto P	51,2	57,1	54,1	67,8 a	70,9 a	69,4 a
Média	46,4 B	58,2 A		56,9	60,9	
	80 mg P kg <sup>-1</sup>					
Baixo P	77,3	77,8	77,6	79,9	75,4	77,6
Alto P	76,1	70,9	73,5	81,2	78,0	79,6
Média	76,7	74,4		80,5	76,7	

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste Tukey a 5%.