

CARÊNCIA DE NITROGÊNIO E DE MICRONUTRIENTES NA NODULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE FEIJÃO

Giovanna Beatriz Reis e Moura, Karulina Ribeiro Oggioni, Jordania Bolzan dos Santos, Anna Júlia de Oliveira Lucas Mendes, Willian Bucker Moraes, Liana Hilda Golin Mengarda

Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitários/n, 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, giovanna.beatris57@gmail.com, karulinaoggioni13@gmail.com, jordaniabolzan@gmail.com, deoliveiralucasmendesannajulia@gmail.com, willian.fito@gmail.com, liana.mengarda@ufes.br

Resumo

Neste trabalho destaca-se a importância do nitrogênio (N) e dos micronutrientes no desenvolvimento inicial do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e na simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*. Em um experimento de 35 dias foi avaliado o crescimento inicial de mudas sob tratamentos com restrição de nutrientes. Os resultados mostraram que a ausência de N e de micronutrientes afeta negativamente a nodulação e o desenvolvimento das plantas, levando à senescência e morte precoce, ou a deformidade das mudas. No tratamento com solução nutritiva completa, com todos os nutrientes essenciais, as plantas apresentaram melhor desenvolvimento. A carência de N com ausência de nodulação ocasionaram a morte das mudas de feijão. A ausência de micronutrientes impede a fixação biológica do N, crucial para a planta, evidenciando a importância de um suprimento adequado de nutrientes para otimizar o processo simbiótico e, consequentemente, a produtividade do feijoeiro.

Palavras-chave: Feijoeiro. Nutrição mineral de plantas. *Rhizobium*.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônoma, Agronomia.

Introdução

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é de extrema importância para a sociedade brasileira. O feijão está presente culturalmente no prato do brasileiro, sendo um dos alimentos de maior média de consumo diário *per capita*. No Brasil são consumidos, em média, 142,2g/dia de feijão (IBGE, 2020). A cultura tem como uma das principais características a capacidade de associação com bactérias do gênero *Rhizobium*. Essa simbiose propicia a mobilização de N₂ presente no ar nas partes constituintes da planta. Porém, a fixação biológica de N ainda não é suficiente para uma boa produção, sendo necessária a adubação com nitrogênio mineral (Piha & Munns, 1987).

A disponibilidade de nitrogênio (N) assim como a fonte de N inorgânico aplicada são fatores que estão diretamente relacionados à simbiose. A exemplo disso, pode haver a inibição da nodulação pelo NO₃ (Nutman, 1954 e Raggio, *et al.*, 1965), ou a inibição da síntese e da atividade da nitrogenase, enzima responsável pela redução de N₂ para NH₃, pela amônia. Outro fator de extrema importância é a disponibilidade de micronutrientes; para que a planta tenha um funcionamento adequado da simbiose é indispensável a presença de cálcio, ferro e molibdênio (Franco & Day, 1980; Taiz *et al.*, 2017).

Variedades de genótipos de feijoeiro e de estirpes de *Rhizobium*, em conjunto com os fatores do ambiente, incluindo temperatura, aeração e a disponibilidade de nutrientes essenciais e benéficos, estão associados aos fatores da nodulação. A interação solo, microrganismos, planta e ambiente, portanto, influenciam na nodulação que, por sua vez, influencia diretamente no desenvolvimento da planta (Prado & Cassali, 2006; Epstein, 2006) uma vez que está diretamente relacionada ao acúmulo de N nas partes reprodutivas e vegetativas da planta, a atividade desempenhada pela enzima nitrogenase (De Brito, *et al.*, 2010), entre outros fatores.

No desenvolvimento inicial do feijoeiro, os minerais essenciais necessitam ser absorvidos pela planta logo após a perda da reserva, os cotilédones; cada nutriente está atrelado a uma função bioquímica particular, esses nutrientes são separados por grupos (Taiz *et al.*, 2017), como N e o enxofre (S), são responsáveis pela constituição da matéria seca. Neste sentido, a indisponibilidade de

macronutrientes e micronutrientes deve prejudicar a associação simbiótica de *P. vulgaris* com bactérias noduladoras, influenciando negativamente o desenvolvimento inicial (Prado & Cassali, 2006). Sob carência de N inorgânico, espera-se que as plantas apresentem associação simbiótica para suprir a demanda deste macronutriente, enquanto a ausência de micronutrientes deve impedir a simbiose. Assim, objetivou-se avaliar o desenvolvimento inicial de mudas de feijoeiro do grupo comercial vermelho, sob carência de N e de micronutrientes.

Metodologia

O estudo foi realizado em casa de vegetação na Universidade Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE) com o uso de sementes de feijão do grupo comercial vermelho - *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae).

As sementes foram acondicionadas em copos plásticos com 350 ml de areia grossa. Previamente foi realizada a análise química da areia (Figura 1).

Figura 1- Composição química da areia grossa utilizada.

 LABORATÓRIO DE ANÁLISE ROTINA DE SOLO UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA Tel: (28) 98805-6596 									
Proprietário: Liana Mengarda Propriedade: Experimento UFES Solicitante: Liana Mengarda				Data: sexta-feira, 27 de outubro de 2023 Local: Alegre/ES					
REF. LAB	Referência do cliente	pH	P	Na	K	Ca	Mg	Al	H + Al
		H ₂ O	mg/dm ³			cmolc/dm ³			
1150	CA	6,73	119,7	164,2	178,8	0,69	0,96	0,00	0,20
1151	P	6,25	19,3	0,1	163,9	1,64	0,79	0,00	0,03
1152	H ₂ O	6,93	74,7	15,8	24,3	1,66	0,39	0,00	0,69
1153	MICRONUTRIENTE	-	-	-	-	-	-	-	-

REF. LAB	SB	t	CTC _{7,0}	V	m	Fe	Cu	Zn	Mn	B	S	M.O.	P rem
	cmol _c /dm ³			%		mg/dm ³						g/Kg	mg/L
1150	2,82	2,82	3,02	93,44	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-
1151	2,85	2,85	2,89	98,86	0,00	-	-	-	-	-	-	-	-
1152	2,18	2,18	2,87	75,86	0,00	40,6	3,5	4,9	34,5	0,17	-	-	-
1153	-	-	-	-	-	72,3	8,0	5,1	90,0	0,13	-	-	-

Fonte: Laboratório de análise rotina de solo.

Foram preparadas soluções nutritivas (Prado; Casali, 2006 com base em MEYER, ANDERSON, SWANSON, 1955), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Composição de cada solução nutritiva utilizada nas regas. Volume de solução estoque utilizado em mL (Prado; Casali, 2006 com base em MEYER, ANDERSON, SWANSON, 1955)

Tratamento	KH ₂ PO ₄	KNO ₃	Ca(NO ₃) ₂	MgSO ₄	KCl	CaCl ₂	Micro (-Fe)	Tarta. de Fe**
Completa	2	2	3	2	0	0	1	1
- Nitrogênio	2	0	0	2	2	3	1	1
- Micro	2	2	3	2	0	0	0	0
H ₂ O	0	0	0	0	0	0	0	0

Fonte: Prado; Casali, 2006, com base em MEYER, ANDERSON, SWANSON, 1955, modificado pelo autor.

Os tratamentos consistiram em: solução Completa (com todos os nutrientes essenciais); - Nitrogênio (com todos nutrientes, exceto N); - Micronutrientes, (todos macronutrientes, exceto os

micronutrientes); e H₂O (apenas água destilada). Cada tratamento foi composto por 3 repetições; em cada copo foram colocadas 3 sementes que, após germinadas, foram desbastadas, mantendo apenas uma planta por repetição. No início da experimentação foram usados 200 mL de solução em cada copo. Em seguida, as regas foram realizadas regas a cada 2 dias com 60 ml das soluções de cada tratamento durante 35 dias de experimento, quando foram avaliados, em apenas uma das repetições: comprimento (CR) e volume das raízes (VR); massa seca das raízes (MSR), da parte aérea (MSPA), e massa seca total (MST), razão entre as massas secas de raiz e de parte aérea (R:PA), presença de nodulação, além da análise de outros aspectos do crescimento e desenvolvimento por observação visual e registro fotográfico.

Para a medição do comprimento da raiz (CR) foi utilizada uma régua simples, e expresso em cm; o volume da raiz (VR) foi determinado pelo método de deslocamento da coluna de água em proveta, e expresso em mL; para a obtenção da massa seca, após as partes terem sido separadas, foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufas por 72 horas a 65 °C até atingirem massa constante; a massa seca da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA) e total (MST) foram determinadas em uma balança de precisão, e expressas em g.

Resultados

O maior desenvolvimento em massa seca foi observado nas plantas que receberam solução completa e no tratamento -Micronutrientes (Tabela 2). Crescimento foi comprometido na ausência de nitrogênio e de nodulação, sendo que entre as três repetições/plantas do tratamento -Nitrogênio, duas morreram, restando apenas uma repetição para a análise aos 35 dias. Esta planta apresentava um volume de raiz muito pequeno, e se encontrava entrando em senescência (Tabela 2 e Figura 2A).

Neste experimento as plantas sob o tratamento -Nitrogênio não conseguiram desenvolver nódulos e conseqüentemente não sobreviveram; nos tratamentos com água e solução nutritiva completa as plantas apresentaram nodulação e se desenvolveram (Tabela 2). No tratamento - Micronutriente não houve nodulação. Neste tratamento, o suprimento com todos os macronutrientes permitiu o maior desenvolvimento em massa nas plantas (Tabela 2 Figura 2D).

Tabela 2- Massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST), razão entre raiz e parte aérea (R:PA), medidas do comprimento da raiz (CR), volume da raiz (VR) e ocorrência de

Tratamento s	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)	R/PA	CR (cm)	VR (mL)	Nodulaçã o
Completa	2,244	0,698	2,942	0,311	17,2	8	Sim
- Nitrogênio	0,144	0,362	0,506	0,362	5,50	1	Não
- Micro	2,404	0,718	3,121	0,299	16,4	6	Não
H ₂ O	0,848	0,953	1,801	1,124	15,7	6	Sim

nodulação.

Fonte: Autor

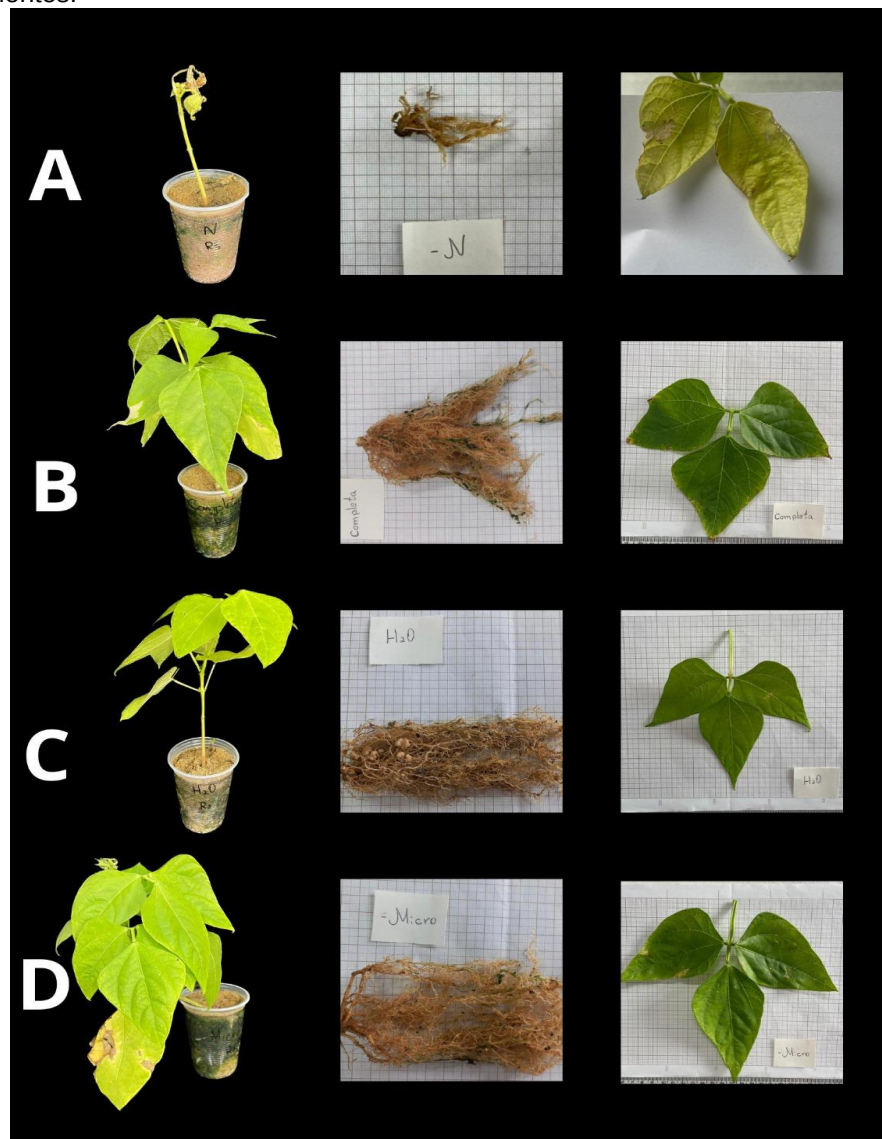
Maior volume de raiz, grande expansão foliar, melhor desenvolvimento da arquitetura da planta, boa razão R:PA e coloração padrão foram observados no tratamento solução completa (Tabela 2 e Figura 2 B), atendendo o padrão esperado para os estágios fenológicos de germinação e crescimento inicial do feijoeiro (Prado & Cassali, 2006).

No tratamento -Micronutrientes, embora tenha ocorrido alto valor de massa seca total, observou-se folhas retorcidas, caules e raízes espessados e múltiplas ramificações na parte aérea, que configuram deformações e anormalidade da planta (Figura 2C).

Em água, mesmo havendo grande nodulação, com nódulos em grande número e de tamanho

maior, o crescimento foi muito comprometido, sendo a massa seca total de aproximadamente 40% menor que em solução completa. Ainda, proporcionalmente, o crescimento da raiz em relação à parte aérea foi muito maior, o que é esperado uma vez que, na ausência de oferta, a planta precisa buscar por nutrientes investindo no crescimento radicular.

Figura 2 – Imagem das plantas aos 35 dias de avaliação, sendo a planta inteira, raízes (com destaque para a nodulação), e uma das folhas do primeiro par de folhas trifoliadas. A= tratamento -Nitrogênio; B= tratamento solução Completa; C= tratamento H₂O, D= tratamento - Micronutrientes.



Fonte: Autor

Discussão

Em relação a nodulação, esperava-se que o tratamento -Micro (devido a ausência de micronutrientes) não apresentasse nodulação, o que foi confirmado neste experimento; no restante dos tratamentos, esperava-se que houvesse nodulação, sendo esperada maior nodulação no tratamento -N e em água, e nodulação intermediária no tratamento de solução completa. Neste experimento, contudo, obtivemos resultados contraditórios com relação ao tratamento -Nitrogênio, no qual as plantas não desenvolveram nódulos. Consequentemente, as plantas deste tratamento não conseguiram

sobreviver. Nos tratamentos água e solução completa, as plantas apresentaram nodulação e as mudas se desenvolveram.

Os micronutrientes, especialmente Fe e Mo, e também o Co (Taiz *et al.*, 2017) são importantes no processo de fixação biológica de N, pois são básicos para as bactérias realizarem a cinética enzimática da simbiose com as plantas; deste modo, a ausência de nodulação no tratamento - Micro era um resultado esperado. Em contrapartida ao analisarmos a análise do substrato (areia) (figura 1), é visto que a areia apresentava altos teores dos macronutrientes Ca, P e dos micronutrientes Fe, Zn e Mn. Logo, alguns micronutrientes se encontravam disponíveis para que ocorresse a nodulação, a exemplo do Fe. Por sua vez, não foi quantificado o teor de Mo, sendo este um micronutriente indispensável para a simbiose. Deste modo, acredita-se que a carência de Mo deve ter sido o fator limitante da nodulação no presente experimento.

Ao analisarmos o tratamento solução Completa, no qual havia disponibilidade de todos os macro e micronutrientes essenciais, era esperado que houvesse nodulação intermediária, conforme observado. Quando as Leguminosas têm acesso a fontes adequadas de nitrogênio, especialmente em formas prontamente disponíveis, a necessidade de formar nódulos simbióticos pode ser reduzida. A nodulação em plantas leguminosas não é exclusiva da ausência de nitrogênio no solo, mas é favorecida quando as plantas percebem a necessidade de aumentar a disponibilidade de nitrogênio. Esse mecanismo permite que as leguminosas otimizem o uso de recursos, aproveitando a capacidade única das bactérias fixadoras de nitrogênio para melhorar a nutrição nitrogenada da planta (Prado & Casali, 2006). As plantas deste tratamento tiveram o melhor desenvolvimento, indicando que o suprimento de nutrientes associado a interação simbiótica é determinante para o desenvolvimento de mudas de feijoeiro.

Quando analisamos o tratamento - Nitrogênio, ao contrário do que seria esperado, não houve a formação dos nódulos; denota-se um ponto bastante curioso, sendo que esse deveria ser o tratamento com a maior formação de nódulos, uma vez que foram fornecidas quantidades ideais de todos nutrientes. Ainda, provavelmente em decorrência da ausência da simbiose, duas das três repetições sofreram senescência e morreram antes dos 35 dias. Acredita-se que algum desequilíbrio, favorecido pela composição físico-química da areia associada a solução de nutrientes aplicada e às condições do ambiente, como a temperatura, possa ter impedido a interação simbiótica neste tratamento. A areia apresentava altos teores de Fe, mas o ferro não foi suficiente para permitir a nodulação no tratamento -N. Ainda, hiposteniza-se que o excesso de Fe, Ca e até de P que, além de estarem na areia foram aplicados neste tratamento pelas fontes de tartarato de Fe, CaCl_2 , KH_2PO_4 , ocasionou um desbalanço iônico na rizosfera, prejudicial a simbiose e, consequentemente, impediu o desenvolvimento da planta. O tratamento -N apresentou o pior desenvolvimento.

Uma possível toxidez por ferro, com anormalidade no crescimento das mudas de feijoeiro, pode ser atribuída, possivelmente, a formação de "placa de ferro" na superfície da raiz, que atuam como uma barreira para a absorção de nutrientes (Chen *et al.*, 2006). Porém, alguns autores sugerem que a "placa de ferro" pode atuar como um reservatório de nutrientes, fornecendo estes em períodos de deficiência no meio (Zhang *et al.*, 2004), o que precisaria ser melhor estudado.

Ao analisar o tratamento -Micronutrientes, observou-se prejuízo no desenvolvimento inicial uma vez que as plantas apresentaram anormalidades (Figura 2D). A indisponibilidade de micronutrientes afetou negativamente a associação simbiótica e *P. vulgaris* com bactérias noduladoras. A simbiose é impedida pois a enzima que catalisa a redução de N_2 , nitrogenase, apresenta os micronutrientes Fe e Mo em sua estrutura; logo, plantas emergidas em substratos deficientes desses micronutrientes não nodulam e, assim, não conseguem obter N pela fixação biológica (Prado & Casali, 2006). Porém, vale observar que as plantas tiveram grande incremento de massa seca, especialmente suprida pela disponibilidade de macronutrientes.

No tratamento água as plantas apresentaram grande nodulação (Figura 2 C) responsável pela sua sobrevivência em ambiente oligotrófico. Embora apresentando crescimento bem menor quando comparada às plantas que se desenvolveram em solução Completa e no tratamento -Micro, a nodulação, associada às reservas disponíveis nas sementes, conduzem ao desenvolvimento do feijoeiro até 35 dias, com restrição de seu crescimento.

Conclusão

Plantas de feijoeiro do grupo comercial vermelho que crescem com deficiência de nutrientes essenciais (N e micronutrientes) são visivelmente deficientes, seja pela altura, matéria seca, quantidade de folhas, coloração, nodulação, padrão e arquitetura das plantas, deformidades e até a morte.

A indisponibilidade de micronutrientes impediu a associação simbiótica e *P. vulgaris* com bactérias noduladoras.

Sob carência do N inorgânico, as plantas não apresentaram associação simbiótica para suprir a demanda deste nutriente a planta apresentou senescência antes de 35 dias de desenvolvimento.

A disponibilidade de N e de micronutrientes é essencial no início do ciclo de vida do feijoeiro do grupo comercial vermelho, e a carência deles pode levar à morte ou à deformidade das mudas.

A fixação biológica do nitrogênio constitui um processo altamente benéfico para o sistema produtivo, por reduzir custos com fertilizantes nitrogenados, aumentar a produtividade e reduzir o impacto ambiental. Para que a fixação biológica do nitrogênio ocorra com seu potencial máximo, é necessário que a planta esteja bem suprida de nutrientes, os quais têm um papel fundamental nos diversos processos metabólicos entre as plantas e os microrganismos.

Referências

CHEN, R. F. et al. Response of rice (*Oryza sativa*) with root surface iron plaque under aluminium stress. *Annals of Botany*, v. 98, n. 2, p. 389-395, 2006.

DE BRITO, Luciana Fernandes et al. **Produção de grãos e de biomassa de duas cultivares de feijoeiro inoculadas com diferentes estirpes de rizóbio**. 2010.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2 ed. Londrina: Planta, 2006. [tradução, Maria Edna Tenório Nunes]

FRANCO, A. A.; DAY, J. M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soils of Brazil. *Turrialba*, v. 30, n. 1, p. 99-105, 1980.

HUNGRIA, Mariangela; NEVES, Maria Cristina P. Ontogenia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 7, p. 715-730, 1986.

NUTMAN, P. A. Nuclear and cytoplasmic inheritance of resistance to infection of nodule bacteria in red clover. *Heredity*, v. 3, p. 263-291, 1949.

PIHA, M. I.; MUNNS, D. J. Nitrogen fixation potential of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) compared with other grain legumes under controlled conditions. *Plant and Soil*, v. 98, p. 169-187, 1987.

PRADO, C. H. B de A.; CASSALI, C. A. **Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral**. São Paulo: Manole, 2006.

RAGGIO, M.; RAGGIO, N.; TORREY, J. G. The interaction of nitrate and carbohydrates in rhizobial root nodule formation. *Plant Physiology*, v. 40, p. 601-606, 1965.

TAIZ, L. et al. **Plant Physiology and Development**. 6. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2017.

ZHANG, F.; SHEN, J.; LI, L.; et al. An overview of rhizosphere processes related with plant nutrition in major cropping systems in China. *Plant and Soil*, v. 260, p. 89-99, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000030192.15621.20>. Acesso em: 19 ago. 2024.

Agradecimentos

Um agradecimento à Universidade Federal do Espírito Santo pelo fornecimento do ensino de qualidade, à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão de bolsa de extensão.