

EFEITO DA OMISSÃO DE N, NI, Mo, Co E S SOBRE OS TEORES DE N E S EM FEIJOEIRO⁽¹⁾

J. M. JASMIM⁽²⁾, P. H. MONNERAT⁽³⁾ & R. C. C. ROSA⁽⁴⁾

RESUMO

Foi avaliado o efeito da omissão de N, Ni, Mo, Co e S sobre os teores de N e S em feijoeiros (*Phaseolus vulgaris*) inoculados e não inoculados com *Rhizobium*, em casa de vegetação. O experimento foi realizado em um esquema fatorial com dois tipos de solo (Neossolo Flúvico), dois níveis de inoculação (com e sem), combinados com seis adubações: (a) Completo (N, P, K, Ni, Mo, Co e S); (b) sem N; (c) sem Ni; (d) sem Co; (e) sem Mo; (f) sem S. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Foram fornecidos 126 mg kg⁻¹ de N (parcelados no plantio, aos 10 e 25 dias da emergência - DAE), 248 mg kg⁻¹ de P, 117 de K e 48 de S, aplicados no solo, e 10, 250 e 10 mg L⁻¹ de Ni, Mo e Co, respectivamente, aplicados via foliar aos nove DAE. A colheita foi efetuada aos 35 DAE, separando-se a folha indicadora das demais. A adubação nitrogenada aumentou o crescimento das plantas, indicando serem os solos deficientes em N, bem como reduziu os teores foliares de N e S. A omissão dos demais nutrientes não alterou o crescimento das plantas nem o teor de N foliar, mas a omissão de S reduziu, como esperado, o teor de S foliar.

Termos de indexação: *Phaseolus vulgaris*, inoculação, *Rhizobium*, adubação.

⁽¹⁾ Extraído da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF/Campos dos Goytacazes (RJ). Recebido para publicação em outubro de 2000 e aprovado em junho de 2002.

⁽²⁾ Professor Associado LFIT/CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Av. Alberto Lamego 2000, Parque Califórnia CEP 28015-600 Campos dos Goytacazes (RJ). E-mail: janie@uenf.br

⁽³⁾ Professor Titular, LFIT/CCTA/UENF. E-mail: monnerat@uenf.br

⁽⁴⁾ Doutorando, LFIT/CCTA/UENF. E-mail: carrielo@uenf.br

SUMMARY: *EFFECT OF N, NI, MO, CO AND S OMISSION ON N AND S CONTENTS OF COMMON BEAN PLANTS*

The effect of N, Ni, Mo, Co and S omission on the N and S leaf contents of common bean plants (Phaseolus vulgaris), grown in a greenhouse, was evaluated. The experimental design was factorial, using two soil types (Entisol and Cambisol), two inoculation levels (with and without Rhizobium), combined with six fertilization treatments: (a) Complete (N, P, K, Ni, Mo, Co and S); (b) without N; (c) without Ni; (d) without Co; (e) without Mo; (f) without S. The experimental design was completely randomized with three replicates. Fertilization supplied 126 mg kg⁻¹ of N (split at sowing, 10, and 25 days after germination - DAG), 248 mg kg⁻¹ of P, 117 of K, and of S in the soil. Ni, Mo, and Co (10, 250 and 10 mg L⁻¹, respectively) were applied on the leaves nine DAG. Thirty five DAG, the plants were harvested, separating the indicator leaf from the others. Nitrogen fertilization increased plant growth, indicating N deficiency of the soils, but reduced N and S leaf contents concomitantly. The omission of the other mineral nutrients affected neither plant growth nor the N leaf content, but S omission did reduce the S leaf content, as expected.

Index terms: Phaseolus vulgaris, inoculation, Rhizobium, fertilization.

INTRODUÇÃO

Na cultura do feijoeiro, o nitrogênio é o elemento absorvido em maior quantidade, seguido pelo potássio, cálcio, magnésio, enxofre e fósforo (Gallo & Miyasaka, 1961). Deficiências de nitrogênio são observadas em solos degradados e, ou, com baixa disponibilidade de matéria orgânica sob condições favoráveis a altas taxas de mineralização, como ocorre na região Norte Fluminense.

Em experimentos realizados anteriormente na UENF, observaram-se aumento de crescimento e queda do teor de N no feijoeiro com o aumento da adubação nitrogenada, bem como queda dos teores de K e S (Monnerat & Rosa⁽⁵⁾). Levantou-se a hipótese de que esses resultados poderiam ser decorrentes de problemas na assimilação do N, considerando a restrição na disponibilidade de K e S. Igualmente, nutrientes, tais como: níquel (Ni), molibdênio (Mo) e cobalto (Co), podem influir na assimilação do nitrogênio.

Plantas deficientes em K podem apresentar acúmulo de carboidratos solúveis, decréscimo de amido e acúmulo de compostos nitrogenados, graças, provavelmente, aos altos teores de K requeridos pela cinase do piruvato e fosfofrutocinase (Marschner, 1995).

O S é constituinte de importantes proteínas que regulam reações de oxirredução, principalmente no ciclo de Calvin (Marschner, 1995). Assim, deficiência de S poderia levar à menor disponibilidade de esqueletos de carbono provenientes do ciclo de Calvin, causando problemas, inicialmente, na assimilação do N, e, num caso mais drástico, em sua absorção. A escassez de esqueletos de carbono decorrente da deficiência de S, acarretaria, inicialmente, acúmulo de N-amoniaco no tecido, levando, num estágio mais avançado, à inibição dos sistemas de absorção e assimilação do N.

O Ni está envolvido na atividade da urease, importante para a assimilação do N via ciclo da uréia, principalmente em plantas em que a assimilação do N ocorre via ureídeos, como aquelas que apresentam associação com bactérias fixadoras de N (Taiz & Zeiger, 1991; Marschner, 1995). Assim, a deficiência de Ni poderia afetar a assimilação desse elemento e, conseqüentemente, as plantas poderiam apresentar baixos teores de N. Em adição, bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* contêm hidrogenases, para as quais é essencial o adequado suprimento de Ni (Maier et al., 1990), podendo sua deficiência afetar a fixação de N₂ atmosférico.

O Mo é um nutriente bastante importante no metabolismo do N, tanto em plantas que apresentam associação com bactérias fixadoras de N como nas demais, por ser essencial à síntese e, ou, funcionamento das enzimas da fixação e assimilação do N (Taiz & Zeiger, 1991; Marschner, 1995). Desta forma, plantas cultivadas em condições de deficiência de Mo poderiam vir a ter problemas no aproveitamento do N disponível.

⁽⁵⁾ Pedro Henrique Monnerat e Raul Castro Carriello Rosa. Laboratório de Fitotecnia. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes (RJ).

O Mo, sendo componente do complexo enzimático da nitrogenase (N₂ase) (Thorneley, 1992), bem como da redutase do nitrato (RN), enzima-chave da redução do nitrato (Redinbaugh & Campbell, 1985), pode afetar a assimilação do N. Além disso, o Mo também é componente da oxidase/desidrogenase da xantina, enzima atuante no catabolismo de purinas e, portanto, da síntese de ureídeos que, em leguminosas, como soja e caupi, são os principais componentes nitrogenados nos nódulos (Marschner, 1995), também encontrados em feijão nodulado e não nodulado (Thomas et al., 1980).

Assim, uma baixa disponibilidade ou deficiência de Mo poderia levar à presença de baixos teores de N em plantas cultivadas sob condições de boa disponibilidade de N no meio, ou que o obtenham por meio da FBN, por problemas nas enzimas participantes na sua assimilação.

Da mesma forma que o Mo, o Co é um elemento de papel fundamental na fixação de N em plantas leguminosas, por ser imprescindível ao funcionamento da enzima leghemoglobina presente nos nódulos (Marschner, 1995). Baixos níveis de Co poderiam prejudicar a eficiência da fixação e, como consequência, o teor de N nas plantas seria reduzido.

O presente trabalho visou avaliar o efeito da omissão de N, Ni, Mo, Co e S no crescimento e nos teores de N e S de plantas de feijoeiro, cultivadas com e sem inoculação com *Rhizobium*, em dois solos, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação no Campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes (RJ), utilizando o cultivar Ouro Negro de feijão preto.

Tratamentos

Os tratamentos consistiram de dois tipos de solo (Aluvial e Cambissolo) e dois níveis de inoculação (com e sem) com bactérias fixadoras de N combinados com as seguintes adubações: (a) completo (N, P, K, Ni, Co, Mo e S); (b) sem N; (c) sem Ni; (d) sem Co; (e) sem Mo; (f) sem S. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Aos dois solos (Quadro 1), adicionou-se areia grossa, nas proporções de 10 e 25 %, no Aluvial e Cambissolo, respectivamente, com vistas em aumentar a porosidade.

Foi feita calagem no Aluvial de maneira a atingir V = 75 %, utilizando carbonato de cálcio p.a.

A semeadura foi realizada 30 dias após a calagem, utilizando oito sementes por vaso, previamente

Quadro 1. Características das amostras dos solos empregados no experimento^{(1) (2)}

Característica	Aluvial	Cambissolo
pH em água (1:2,5)	4,09	5,50
P (mg kg ⁻¹)	3,5	5,3
K (mmol _c dm ⁻³)	1,3	2,1
Ca ²⁺ (mmol _c dm ⁻³)	17,8	55,3
Mg ²⁺ (mmol _c dm ⁻³)	16,0	33,8
Al ³⁺ (mmol _c dm ⁻³)	24	0
(H + Al) (mmol _c dm ⁻³)	97	36
SB (mmol _c dm ⁻³)	35,1	91,2
t (mmol _c dm ⁻³)	59,1	91,2
T (mmol _c dm ⁻³)	132,1	127,2
V (%)	26,6	71,7
m (%)	40,6	0
Matéria orgânica (g kg ⁻¹)	28	17
Argila (g kg ⁻¹)	680	380
Silte (g kg ⁻¹)	195	238
Areia grossa (g kg ⁻¹)	80	20
Areia fina (g kg ⁻¹)	45	362

⁽¹⁾ Granulometria realizada no Laboratório de Solos da FUNDENOR / Campos dos Goytacazes (RJ). ⁽²⁾ Extratores: P e K, Carolina do Norte (HCl 0,5 mol L⁻¹, H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹); Ca, Mg e Al, KCl 1 mol L⁻¹.

embebidas numa suspensão de células de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, estirpe KIM5, com 10⁷ células mL⁻¹, por um período de duas horas, no escuro. No plantio, as sementes foram irrigadas com 2 mL da mesma suspensão de células. Após a emergência, foi realizado desbaste, deixando-se duas plantas por vaso que continha 5 kg de solo. O ensaio foi efetuado entre 27/05/96 e 05/07/96.

A adubação nitrogenada foi feita de maneira a fornecer 126 mg kg⁻¹ de N no solo, parcelados (plantio, 10 e 25 DAE), utilizando-se os sais NH₄H₂PO₄ e NH₄NO₃ (plantio e cobertura, respectivamente). A adubação fosfatada teve por objetivo fornecer 248 mg kg⁻¹ de P no solo, na forma de NH₄H₂PO₄, NaH₂PO₄ e, ou, KH₂PO₄. A adubação potássica foi de 117 mg kg⁻¹ de K no solo, tendo como fonte KH₂PO₄ ou K₂SO₄, o S foi fornecido na dose de 48 mg kg⁻¹ de S na forma de K₂SO₄. Tanto a adubação fosfatada quanto a potássica, e com S, foram realizadas por ocasião da semeadura.

Aos nove DAE, foi realizada a aplicação foliar de Ni, Mo e Co, nas concentrações de 10, 250 e 10 mg L⁻¹, respectivamente, determinadas em ensaio preliminar.

Aos 35 DAE, as plantas foram colhidas, por se apresentarem em estágio R6, quando 50 % das plantas têm pelo menos uma flor aberta (Mariot, 1989), época recomendada para coleta de material para análise foliar (Malavolta et al., 1989), separando-se a folha indicadora (última folha recém-expandida do ápice para a base da planta) (Malavolta et al., 1989) para análise.

A avaliação da nodulação foi, apenas, visual após destorroamento do solo de cada vaso, verificando se as plantas estavam ou não noduladas.

Determinação do teor de nutrientes minerais

As diferentes partes das plantas colhidas foram secas em estufa com ventilação forçada a 70 °C até peso constante, pesadas e moídas em moinho Wiley e passadas em peneira de 30 mesh, submetidas à digestão por via úmida. Para determinar o N orgânico (Norg), utilizou-se digestão sulfúrica (H₂SO₄ conc. e H₂O₂ 30 %) (Malavolta et al., 1989; Jones et al., 1991). Extratos de digestão nitro-perclórica (ácido nítrico concentrado, ácido perclórico concentrado) (Malavolta et al., 1989; Jones et al., 1991) foram utilizados para a determinação de S.

Para determinar o nitrato (NO₃), foi realizada extração em água a 45 °C, por uma hora, seguida pela filtragem e quantificação pelo método de Cataldo et al. (1975).

As determinações dos teores dos diferentes nutrientes nos extratos seguiram métodos distintos. O N foi determinado pelo Método de Nessler (Jackson, 1965), enquanto o S foi determinado por turbidimetria do sulfato de bário (Malavolta et al., 1989).

Análise estatística dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, considerando significância a 5 %.

Para comparar as médias, usou-se o teste de Tukey a 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Cambissolo, apenas a omissão do N na adubação reduziu significativamente a produção de matéria seca da parte aérea, tanto das plantas inoculadas como daquelas sem inoculação. No Aluvial, a omissão de N causou redução na matéria seca, apenas quando não foi feita inoculação (Quadro 2).

As omissões de Ni, Mo, Co e S não alteraram a produção de matéria seca em nenhum dos solos, indicando que os seus teores eram adequados ao crescimento das plantas, não havendo, portanto, deficiência desses elementos nos dois solos. A falta de resposta ao Mo no Aluvial pode ser atribuída à calagem realizada, que aumentou a disponibilidade desse micronutriente para o feijoeiro (Franco & Day, 1980).

O menor crescimento das plantas que não receberam N indica que os solos eram deficientes desse nutriente. As plantas que não receberam N, no solo Aluvial, e que foram inoculadas com bactérias fixadoras de N₂, produziram tanta matéria seca quanto as plantas que receberam N (Quadro 2). As plantas cultivadas no Aluvial apresentaram maior produção de MS do que as cultivadas no Cambissolo, indicando que este apresenta alguma restrição ao crescimento das plantas, mesmo quando receberam adubação completa. Isso pode ter acontecido em consequência das características de sua argila, bastante plástica e com porosidade que, mesmo com a adição de 25 % de areia, ainda pode ter dificultado o desenvolvimento das raízes e, portanto, levado a uma restrição geral do crescimento da planta, aliado ao seu mais baixo teor de matéria orgânica em relação ao Aluvial.

Quadro 2. Matéria seca da parte aérea do feijoeiro (35 DAE) cultivado em dois solos, sob diferentes adubações, com e sem inoculação⁽¹⁾

Adubação	Solo					
	Aluvial			Cambissolo		
	Sem inoc.	Com inoc.	Média	Sem inoc.	Com inoc.	Média
	g vaso ⁻¹					
Completo	31,7 a	27,4 a	29,5	26,5 a	25,8 a	26,2
Sem N	24,1 b	27,2 a	25,7	16,1 b	11,4 b	13,3
Sem Ni	32,6 a	29,6 a	31,1	25,3 a	26,6 a	25,9
Sem Mo	34,2 a	31,7 a	32,9	28,1 a	27,2 a	27,6
Sem Co	30,3 ab	28,9 a	29,5	27,3 a	26,8 a	27,1
Sem S	33,5 a	27,7 a	30,6	26,2 a	26,7 a	26,2
Média	31,0	28,8	29,9 A	24,9	24,1	24,4 B
Sem inoculação	27,9 x					
Com inoculação	26,4 z					

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5 %, pelo teste de Tukey: a e b comparam adubações; A e B comparam solos; x e z comparam inoculações.

As plantas cultivadas sem N, em ambos os solos, apresentaram teor de Norg mais alto que aquelas adubadas com N, tendo as plantas cultivadas no Cambissolo apresentado teores mais altos que os observados nas plantas do Aluvial (Quadro 3). Tal comportamento foi o oposto ao ocorrido com a matéria seca (Quadro 2). Todos os teores de Norg, entretanto, ficaram dentro da faixa de teor alto, segundo Malavolta (1992).

O teor de N-nítrico nas plantas que não receberam N foi menor que o das que receberam adubação com N (Completo) (Quadro 3), possivelmente por causa da presença do N-nítrico no tratamento completo. A diferença foi, entretanto, pouco expressiva e correspondeu, aproximadamente, a menos de 1 % do Norg, não afetando o teor de N-total encontrado. Os teores encontrados nas plantas submetidas às demais adubações não diferiram do tratamento completo. As plantas cultivadas no Aluvial apresentaram maior teor de N-nítrico que as cultivadas no Cambissolo; a diferença, apesar de significativa, foi muito pequena. Esse maior teor de N-nítrico nas plantas pode ser atribuído à absorção do nitrato proveniente da mineralização da matéria orgânica do Aluvial; o mesmo não ocorrendo no Cambissolo.

No Aluvial, os teores de Norg nas folhas indicadoras (última folha expandida do ápice para a base da planta) foram, também, mais altos nas plantas que não receberam adubação nitrogenada que naquelas adubadas com N (Quadro 4), embora aquelas apresentassem clorose das folhas mais velhas, sintoma este descrito como típico de deficiência de nitrogênio.

Quadro 3. Teores de nitrogênio orgânico (Norg), N-nítrico e enxofre nas folhas de plantas de feijoeiro (35 DAE) submetidas a diferentes adubações⁽¹⁾

Tratamento	Norg	N-nítrico	Enxofre
	— g kg ⁻¹ na MS —		
Completo	31,1 b	3,44 a	2,30 b
Sem N	35,4 a	3,17 b	2,81a
Sem Ni	30,5 b	3,47 a	2,41 b
Sem Mo	29,3 b	3,34 ab	2,34 b
Sem Co	29,9 b	3,39 a	2,34 b
Sem S	30,4 b	3,43 a	1,99 c
Aluvial	29,6 B	3,43 A	2,28 B
Cambissolo	32,6 A	3,31 B	2,45 A
Sem inoculação	31,3 x	3,36 x	2,38 x
Com inoculação	30,9 x	3,39 x	2,36 x

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem a 5 %, pelo teste de Tukey; a, b e c comparam adubações; A e B comparam solos e x e z comparam inoculações.

Quadro 4. Teores de nitrogênio orgânico nas folhas indicadoras de plantas de feijoeiro cultivadas nos solos (Aluvial e Cambissolo), com e sem adubação nitrogenada e com e sem inoculação⁽¹⁾

Tratamento	Aluvial	Cambissolo
	— g kg ⁻¹ de Norg —	
Com N	36,7 b	44,4 a
Sem N	48,2 a	46,7 a
Média	45,5 A	42,4 A
Com inoculação	45,1 x	
Sem inoculação	42,9 x	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5 %, pelo teste de Tukey; a e b comparam adubações; A e B comparam solos; x e z comparam inoculações.

Os resultados de crescimento e teores de Norg são, aparentemente, conflitantes, pois as plantas não adubadas com N, em ambos os solos, embora apresentando menor crescimento e amarelecimento das folhas, inclusive com queda de folhas da parte inferior da planta, sintomas típicos de deficiência de N (Malavolta et al., 1989), não estariam deficientes do nutriente, de acordo com a análise foliar. Assim, a análise das folhas indicadoras, bem como de todas as outras, nas condições experimentais, isto é, em plantas cultivadas em vasos em casa de vegetação sob as condições climáticas de Campos dos Goytacazes, levaria à conclusão de que plantas visivelmente deficientes em N estariam bem nutridas, utilizando o nível crítico proposto por Malavolta (1992) para a folha indicadora. Neste caso, portanto, a análise foliar seria uma técnica inadequada para diagnosticar deficiência de N em plantas de feijoeiro.

Uma vez que o S é constituinte de proteínas que regulam reações de oxirredução, sobretudo no ciclo de Calvin (Marschner, 1995), o maior teor deste nutriente observado nas plantas que não receberam adubação nitrogenada seria indicativo de não estar ele sendo incorporado àquelas proteínas, possivelmente em decorrência da menor disponibilidade de N para síntese de proteínas. Quando se adicionou N, o teor de S caiu, uma vez que, provavelmente, passou a ser utilizado para a síntese de proteínas, restringida em função da deficiência de N, ao mesmo tempo que o crescimento aumentou, causando a diluição do S.

O teor de S das plantas que não receberam adubação com S foi inferior ao das plantas de todos os demais tratamentos (Quadro 3), conforme esperado. Segundo Malavolta et al. (1989) e Malavolta (1992), todos os teores de S encontrados estariam na faixa de teores baixos; entretanto, com base em Lopes & Guimarães (1989) e nos resultados

de matéria seca, os quais mostram que a omissão de S não afetou o crescimento e, portanto, o solo não é deficiente no mesmo, os teores encontrados podem ser considerados adequados para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

A inoculação com bactérias fixadoras de N₂ não alterou os teores dos nutrientes nas plantas submetidas às diferentes adubações em nenhum dos solos.

A maior produção de matéria seca das plantas que receberam N era esperada, visto que o aumento do fornecimento de N aumenta normalmente a produção de matéria seca nas culturas anuais e perenes. Da mesma forma, esperava-se que o fornecimento de N levasse ao aumento do teor do elemento na planta (Marschner, 1995), em comparação ao das plantas não adubadas com o nutriente, o que poderia refletir-se no teor de proteína, pigmentos fotossintéticos e N solúvel. No entanto, o teor de N-orgânico nas plantas que receberam N foi menor que o encontrado nas plantas não adubadas com esse nutriente (Quadros 3 e 4).

Os teores mais baixos de N orgânico encontrados nas plantas submetidas às adubações que propiciaram maior produção de matéria seca poderiam ser explicados pelo efeito de diluição; entretanto, observando a curva de relação geral entre o crescimento, ou produção de matéria seca, e o teor de nutrientes, verifica-se que a faixa de concentração de nutriente em que ocorreria o efeito de diluição é muito baixa, evidenciando que as plantas estariam sob deficiência severa do nutriente, limitando o seu crescimento. A adubação nitrogenada realizada forneceu uma concentração razoável do nutriente (126 mg kg⁻¹ de N) no solo, propiciando aumento no crescimento em relação às plantas que não o receberam e não apresentavam sintomas visuais de deficiência do elemento, portanto, não justificando efeito de diluição.

Estes resultados corroboram os de Monnerat e Rosa⁽⁶⁾ (resultados não publicados) que obtiveram aumento crescente da matéria seca e queda concomitante nos teores de N orgânico, considerando os níveis crescentes de adubação nitrogenada (0 a 800 mg de N por vaso).

O conteúdo de Norg na parte aérea das plantas não foi influenciado pela inoculação e foi maior no Aluvial que no Cambissolo (Quadro 5), provavelmente pelo maior teor de matéria orgânica do primeiro (Quadro 1). O maior conteúdo de Norg verificado no Aluvial é decorrente do maior crescimento nesse solo (Quadro 2), embora o teor de Norg tenha sido um pouco mais baixo (Quadro 3).

Quadro 5. Conteúdo de Norg na parte aérea do feijoeiro (35 DAE), cultivado em dois solos, com e sem nitrogênio, com e sem inoculação⁽¹⁾

Tratamento	Aluvial	Cambissolo
	— mg (2 plantas) ⁻¹ —	
Completo	761,6 a	701,1 a
Sem N	731,1 a	416,8 b
Média	746,3 A	558,9 B
Sem inoculação	669,8 x	
Com inoculação	635,4 x	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5 %, pelo teste de Tukey: a e b comparam adubações dentro do mesmo solo; A e B comparam solos e x e z comparam inoculações.

No Cambissolo, as plantas cultivadas sem adubação nitrogenada apresentaram menor conteúdo de Norg em relação àquelas adubadas com N; no Aluvial, o conteúdo de Norg das plantas que não receberam N não diferiu daquele encontrado nas plantas que o receberam (Quadro 5). Neste solo, embora a adubação nitrogenada tenha aumentado o crescimento das plantas, esse aumento no crescimento não pode ser atribuído à absorção de N, uma vez que tanto as plantas adubadas quanto as não adubadas com N não diferiram estatisticamente quanto ao conteúdo de N-orgânico. A inoculação não alterou o conteúdo de N-orgânico, possivelmente pelo emprego de estirpe inadequada e pela intensa nodulação verificada nas plantas não inoculadas promovida pelas bactérias nativas do solo.

Experimentos com fixação biológica de N₂ em leguminosas demonstram a inibição da fixação biológica na presença de N mineral, pois, além de inibir a atividade do complexo enzimático da nitrogenase (N₂ase), o N mineral, sobretudo amoniacal, inibiria a sua síntese e a nodulação (Dixon & Wheeler, 1986; Sprent & Sprent, 1990; Franco & Neves, 1992). Em termos de consumo de carbono, a nodulação e a manutenção dos nódulos são bastante dispendiosas: as estimativas de gasto de carbono por grama de N fixado variam de 6-12 g, de acordo com as peculiaridades de cada relação planta-bactéria, podendo-se assumir valores médios de 36-39 % deste total gastos com a nodulação (incluindo crescimento e manutenção de nódulos); 42-45 % com a atividade da N₂ase e 16-22 % são gastos com a assimilação e transporte do N fixado (Taiz & Zeiger, 1991; Hopkins, 1995).

⁽⁶⁾ Pedro Henrique Monnerat e Raul Castro Carriello Rosa. Laboratório de Fitotecnia. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes (RJ).

As plantas cultivadas sem N apresentaram nodulação muito mais intensa que as adubadas com N, em ambos os solos, mesmo não sendo inoculadas, mostrando que parte dos carboidratos das plantas foi utilizada para tal função, podendo ter atuado como um dreno paralelo ao seu crescimento. Assim, as plantas teriam fixado N_2 atmosférico, responsável pelo maior teor de Norg foliar encontrado nas plantas sob omissão de N, uma vez que as temperaturas observadas no período não restringiram a fixação (Hungria & Franco, 1993), mas não o utilizaram plenamente para crescimento, visto que não foi incorporado a proteínas graças à restrição de carboidratos imposta pelos dois processos altamente dispendiosos e competitivos, resultando em menor acúmulo de MS.

É possível que outros fatores, como temperaturas e, ou, luminosidade altas, aliados à falta do fornecimento de N, tenham levado à restrição de carboidratos, causando os resultados observados. Sabe-se que o estado nutricional da planta pode afetar a taxa de fotossíntese líquida, por serem os nutrientes minerais necessários à formação de cloroplastos, seja para a síntese de proteínas, seja para a formação dos tilacóides ou dos pigmentos (Marschner, 1995). À medida que aumenta a deficiência de N, por exemplo, a curva de resposta da fotossíntese líquida, da folha madura, à energia luminosa cai e aumenta a proporção de energia luminosa absorvida que será dissipada como calor (Marschner, 1995).

Marschner & Cakmak (1989) observaram que plantas de feijoeiro deficientes em Zn e sob altas intensidades luminosas apresentaram redução no acúmulo de matéria seca em relação àquelas não deficientes e, embora o teor de clorofila tenha caído drasticamente sob altas intensidades luminosas, o teor de carboidrato aumentou consideravelmente, sobretudo nas plantas deficientes em Zn, demonstrando que a queda no crescimento a altas intensidades luminosas estaria ligada a uma limitação dos drenos e não da fonte. O acúmulo de produtos da fotossíntese nas folhas (fonte), sob alta intensidade luminosa, é um estresse indicado pelo aumento de mecanismos de proteção contra o dano oxidativo nas folhas deficientes, da fotooxidação de pigmentos do cloroplasto e da aceleração da senescência de folhas (Marschner & Cakmak, 1989; Cakmak & Marschner, 1992).

Da mesma forma, ocorrem alterações na composição em pigmentos fotossintéticos, quando as plantas encontram-se sob condições de estresse. As clorofilas são particularmente sensíveis à oxidação e dano fotoquímico, enquanto os carotenóides (sem N em sua estrutura) funcionam como agentes fotoprotetores naturais e antioxidantes, consequentemente, mudanças na proporção clorofilas:

carotenóides são indicadoras de condições de dano oxidativo (Hendry & Price, 1993). As clorofilas podem ser naturalmente degradadas durante o ciclo da planta, e vários eventos podem levar à sua degradação - como danos físicos causados por extremos de temperatura e irradiações decorrentes de poluentes gasosos, líquidos e sólidos, excesso ou deficiência de luminosidade e deficiência ou toxidez nutricional - levando à senescência e morte precoce da planta (Hendry et al., 1987).

Tais autores citam a deficiência de minerais e a hídrica, bem como as condições extremas de vento, radiações γ e U.V. e a escuridão (falta de luz) como fatores que podem levar à degradação de clorofilas. Além disso, resultados observados por Adell (1998) com plantas de feijoeiro indicam que, nas condições experimentais de Campos dos Goytacazes, fatores estressantes, como temperatura, por exemplo, poderiam estar afetando os pigmentos foliares do feijoeiro.

Patenes & Horton (1996), avaliando a fotossíntese em variedades de feijoeiro com diferentes tolerâncias a altas temperaturas, atribuíram restrições metabólicas na assimilação de CO_2 nas faixas de temperatura de 20 a 30 °C e de 30 a 35 °C, sob alta intensidade luminosa, a diferentes fatores, a saber: mudança na capacidade de regeneração do Ciclo de Calvin e na síntese de amido limitando a fotossíntese na faixa de 20 a 30 °C; porém, na faixa de 30 a 35 °C, o fator limitante seria a disponibilidade de poder redutor.

Durante este trabalho, foram detectadas intensidades luminosas superiores a 600-700 μ moles ftons $m^{-2} s^{-1}$, descritos como irradiâncias saturantes para feijoeiro (Portes & Magalhães, 1993), bem como temperaturas superiores àquelas consideradas adequadas para o cultivo do feijoeiro (Quadro 6), podendo ter contribuído para restrição de fotossíntese que se refletiria num menor crescimento, ou, então, os produtos da fotossíntese poderiam estar sendo alocados para outra finalidade, que não crescimento, em virtude de períodos de alta luminosidade e, ou, temperatura, refletindo em redução de crescimento, amarelecimento de folhas, com maior teor de N.

Desta maneira, a observação de que as plantas com sintomas característicos de deficiência de N apresentavam teores foliares dentro da faixa de normalidade, considerados até mesmo altos, poderia estar relacionada com a presença de componentes nitrogenados não-utilizáveis para as funções metabólicas da planta, mas com papel de proteção e adaptação ao estresse, como, por exemplo, proteínas do tipo *heat shock*, encontradas em plantas sob estresse, sobretudo de temperatura (Taiz & Zeiger, 1998).

Quadro 6. Temperaturas (máxima e mínima) registradas na casa de vegetação durante o período experimental, à altura das plantas

Data	T. máx.	T. mín.	Média
28/05	31	21	26,0
29/05	31	21	26,0
30/05	31	17	24,0
31/05	30	17	23,5
01/06	29	17	23,0
02/06	30	17	23,5
03/06	27	18	22,5
04/06	27	18	22,5
05/06	27	18	22,5
06/06	32	18	25,0
07/06	32	22	27,0
08/06	27	17	22,0
09/06	31	18	24,5
10/06	27	17	22,0
11/06	27	17	22,0
12/06	27	17	22,0
13/06	27	17	22,0
14/06	32	17	24,5
15/06	32	17	24,5
16/06	32	17	24,5
17/06	32	17	24,5
18/06	32	17	24,5
19/06	30	18	24,0
20/06	32	17	24,5
21/06	31	20	25,5
22/06	32	17	24,5
23/06	32	18	25,0
24/06	32	18	25,0
25/06	33	20	26,5
26/06	33	19	26,0
27/06	35	21	28,0
28/06	29	21	25,0
29/06	24	20	22,0
30/06	24	16	20,0
01/07	26	17	21,5
02/07	29	17	23,0
03/07	29	18	23,5
04/07	29	20	24,5
05/07	25	19	22,0
Média	29,7	18,2	
SD	2,71	1,55	

CONCLUSÕES

1. A omissão de N na adubação de plantas de feijoeiro do cultivar Ouro Negro, cultivado em dois solos em casa de vegetação, aumentou os teores foliares de N e S.

2. A omissão de Ni, Mo e Co não teve efeito sobre os mesmos teores; entretanto, a omissão de S reduziu o teor foliar de S, conforme esperado.

3. Os teores de N nas folhas indicadoras das plantas de feijoeiro, no estádio R6, não foram

adequados para diagnose do estado nutricional das plantas em termos de N, uma vez que plantas com sintomas característicos de deficiência de N podem apresentar teores foliares dentro dos valores considerados adequados.

4. Possivelmente, o crescimento do feijoeiro foi afetado não só pela omissão de N na adubação, mas também por temperaturas e irradiâncias acima daquelas consideradas ótimas, restringindo a disponibilidade de carboidratos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Estadual do Norte Fluminense, pelos recursos para a pesquisa e pelas bolsas de Doutorado e Iniciação Científica, que permitiram a realização do trabalho; à FUNDENOR- Campos dos Goytacazes (RJ), pela análise granulométrica das amostras de solo.

LITERATURA CITADA

- ADELL, J.J.C. Alterações nos teores de nitrogênio e em pigmentos foliares do feijoeiro submetido à deficiência de nitrogênio, em casa de vegetação. Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 1998. 81p. (Tese de Doutorado)
- CAKMAK, I. & MARSCHNER, H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.*, 98:1222-1227, 1992.
- CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHADER, L.E. & YOUNG, U.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 6:71-80, 1975.
- DIXON, R.O.D. & WHEELER, C.T. Nitrogen fixation in plants. London, Blackie & Son, 1986. 157p.
- 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*, 30:99-105, 1980.
- FRANCO, A.A. & NEVES, M.C.P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S., M. & NEVES, M.C.P., coords. *Microbiologia do solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.141-155.
- GALLO, J.R. & MIYASAKA, S. Composição química do feijoeiro e absorção de elementos nutritivos, do florescimento à floração. *Bragantia*, 20:867-884, 1961.
- HENDRY, G.A.F. & PRICE, A.H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G.A.F. & GRIME, J.P., eds. *Methods in comparative plant ecology - a laboratory manual*. London, Chapman & Hall, 1993. p.148-152.

- HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, J.D. & BROWN, S.B. The degradation of chlorophyll – a biological enigma. *New Phytol.*, 107:255-302, 1987.
- HOPKINS, W.G. *Introduction to plant physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995. 464p.
- HUNGRIA, M. & FRANCO, A.A. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris*. *Plant Soil*, 149:95-102, 1993.
- JACKSON, M.L. *Soil chemical analysis*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1965.498p.
- JONES, J.B.; WOLF, B. & MILLS, H.A. *Plant Analysis Handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Athens, Georgia, USA. Micro-Macro Publishing, 1991. 213p.
- LOPES, A.S. & GUIMARÃES, P.T.G. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 4ª Aproximação*. Lavras, Comissão de Fertilizantes do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG), 1989. 159p.
- MAIER, R.J.; PHIL, T.D.; STULTS, L. & SPRAY, W. Nickel accumulation and storage in *Bradyrhizobium japonicum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56:1905-1911, 1990.
- MALAVOLTA, E. *ABC da análise de solos e folhas*. São Paulo. Agronômica Ceres, 1992. 126p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado Nutricional das Plantas. Princípios e aplicações*. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 210p.
- MARIOT, E.J. *Ecofisiologia do feijoeiro*. In: IAPAR. *O feijão no Paraná*. Londrina, Fundação Instituto Agronômico do Paraná, 1989. p.25-41.
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 2.ed. .New York, Academic Press, 1995. 889p.
- MARSCHNER, H. & CAKMAK, I. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc, potassium, and magnesium deficient bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *J. Plant Physiol.*, 134:308-315, 1989.
- PATENES, C. & HORTON, P. Effect of high temperature on photosynthesis in beans. II- CO₂ assimilation and metabolite contents. *Plant Physiol.*, 112:1253-1260, 1996.
- PORTES, T.A. & MAGALHÃES, A.C.N. Análise comparativa de diferentes genótipos de feijão através da medição da fluorescência da clorofila *a* e do balanço de O₂. *R. Bras. Fisiol. Veg.*, 5:17-23, 1993.
- REDINBAUGH, M.G. & CAMPBELL, W.H. Quaternary structure and composition of squash NADH:nitrate reductase. *J. Biol. Chem.*, 260:3380-3385, 1985.
- SPRENT, J.I. & SPRENT, P. *Nitrogen fixing organisms pure and applied aspects*. London, Chapman & Hall, 1990. 255p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Plant Physiology*. Redwood City, The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991. 559p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Plant physiology*. 2.ed. Sunderland, Sinauer Associates, 1998. 792p.
- THOMAS, R.J.; FELLER, U. & ERISMANN, K.H. Ureide metabolism in non-nodulated *Phaseolus vulgaris* L. *J. Exp. Bot.*, 31:409-419, 1980.
- THORNELEY, R.N.F. Nitrogen fixation – a new light on nitrogenase. *Nature*, 360:532-533, 1992.

