

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA**

GUSTAVO AVOZANI

**CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO SOB
INOCULAÇÃO E USO DE COBALTO E MOLIBDÊNIO**

**CERRO LARGO
2022**

GUSTAVO AVOZANI

**CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO SOB
INOCULAÇÃO E USO DE COBALTO E MOLIBDÊNIO**

Projeto de Pesquisa apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de conclusão de curso II.

Orientador: Prof. Dr. Renan Costa Beber Vieira

CERRO LARGO

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Avozani, Gustavo

CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO
SOB INOCULAÇÃO E USO DE COBALTO E MOLIBDÊNIO /
Gustavo Avozani. -- 2022.

40 f.

Orientador: Doutor Renan Costa Beber Vieira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)
-Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso
de Bacharelado em Agronomia, Cerro Largo,RS,
2022.

1. Phaseolus vulgaris L. 2. Nitrogênio. 3.
Inoculante. 4. Cobalto. 5. Molibdênio. I. Vieira,
Renan Costa Beber, orient. II. Universidade Federal
da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela
UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

GUSTAVO AVOZANI

**CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO SOB
INOCULAÇÃO E USO DE COBALTO E MOLIBDÊNIO**

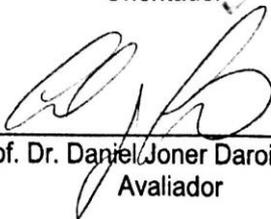
Trabalho de conclusão de curso apresentada ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) como requisito para obtenção do título de bacharel em Agronomia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 08/02/2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Renan Costa Beber Vieira – UFFS
Orientador.



Prof. Dr. Daniel Joner Daroit – UFFS
Avaliador



Prof. Dr. Nerison Luis Poersch – UFFS
Avaliador

AGRADECIMENTOS

A minha mãe e pai por ter me dado à vida, por todo amor e pela ajuda durante os 5 anos que dediquei ao sonho de ser um eng. Agrônomo.

A minha irmã, parceira de todas as horas.

Ao meu professor orientador Dr. Renan Costa Beber Vieira, pela confiança e dedicação ao meu trabalho e por toda a ajuda durante o experimento.

Aos colegas Joelson Hass, Ivan Seidel, Mateus Schoffen, Aline Henck, Marcos Lenz, Julia Follmann, Rafael Tschiedel e Pricila Diel por toda a ajuda na condução do experimento e no decorrer dos 5 anos graduação.

Aos membros da banca Dr. Nerison Poersch e Dr. Daniel Joner Daroit por terem aceitado o convite.

RESUMO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris L*) é uma das espécies mais cultivadas no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtor e consumidor desta leguminosa. A cultura é exigente em muitos nutrientes, sendo o nitrogênio o mais limitante de produtividade nas áreas agrícolas. Essa demanda pode ser suprida através do inoculante associado ao uso de cobalto e molibdênio nas sementes. Desta forma, o trabalho teve como objetivo avaliar a inoculação de *Rhizobium tropici* e o uso de cobalto e molibdênio no feijoeiro. O experimento foi conduzido na área experimental da UFFS – Campus Cerro Largo – RS, em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os tratamentos foram sem utilização de inoculação nas sementes e sem o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, com utilização de inoculação nas sementes e sem o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, sem utilização de inoculação nas sementes e com o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, com utilização de inoculação nas sementes e com o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, em rhizoboxes e conduzidos até o estágio fenológico V3. Os resultados foram submetidos à análise da variância (ANOVA), e as médias comparadas entre si pelo teste Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa estatístico SISVAR. Não ocorreu interações entre a altura de plantas, diâmetro do colmo e a massa seca da parte aérea e raízes com o uso de inoculante e cobalto e molibdênio. O número de nódulos, onde apresentou somente a inoculação mostrou os melhores resultados na nodulação da planta de feijoeiro. O uso e cobalto e molibdênio mais inoculante apresentou maior área superficial de raízes, diâmetro de raízes e o volume de raízes.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris L*. Nitrogênio. Inoculante. Simbiose. Tratamento de semente.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L) is one of the most cultivated species in the world, with Brazil being one of the largest producers and consumers of this legume. The crop is demanding in many nutrients, nitrogen being the most limiting factor of productivity in agricultural areas. This demand can be met through the inoculant associated with the use of cobalt and molybdenum in the seeds. Thus, the objective of this work was to evaluate the inoculation of *Rhizobium tropici* and the use of cobalt and molybdenum in common bean. The experiment was carried out in the experimental area of UFFS – Campus Cerro Largo – RS, in a completely randomized design with five replications. The treatments were without the use of seed inoculation and without the use of cobalt and molybdenum in the seeds, with the use of inoculation in the seeds and without the use of cobalt and molybdenum in the seeds, without the use of inoculation in the seeds and with the use of cobalt and molybdenum in the seeds, with the use of inoculation in the seeds and with the use of cobalt and molybdenum in the seeds, in rhizoboxes and conducted until the phenological stage V3. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA), and the averages were compared using the Tukey test at 5% significance, using the SISVAR statistical program. There were no interactions between plant height, stem diameter and shoot and root dry mass with the use of inoculant and cobalt and molybdenum. The number of nodules, which presented only the inoculation showed the best results in the nodulation of the common bean plant. The use of cobalt and molybdenum plus inoculant showed higher root surface area, root diameter and root volume.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Nitrogen. Inoculant. Symbiosis. Seed treatment.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
TS	Tratamento de sementes
N	Nitrogênio
Co	Cobalto
Mo	Molibdênio

LISTA DE FIGURA

Figura 1- Caixa rhizobox	23
--------------------------------	----

Lista de tabelas

Tabela 1 - Altura de plantas e diâmetro do colmo do feijoeiro cultivado em rhizobox.	29
Tabela 2 - Matéria seca da parte aérea e radicular no feijoeiro cultivado em rhizobox.	30
Tabela 3 - Número de nódulos por planta do feijoeiro cultivado em rhizobox.	31
Tabela 4 - Área superficial das raízes (ASR), diâmetro ponderado das raízes (DPR) e volume radicular (VR) por planta do feijoeiro cultivado em rhizobox.....	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS DA CULTURA DO FEIJOEIRO	13
2.2	INOCULAÇÃO	15
2.3	COBALTO.....	19
2.4	MOLIBDÊNIO	20
2.5	RHIZOBOX	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	LOCAL EXPERIMENTO.....	26
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	26
3.3	AVALIAÇÕES.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5	CONCLUSÕES	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Dentre os vegetais, as leguminosas apresentam-se como, sendo a principal fonte de suplementação proteica para a população junto no prato do consumidor. O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é muito utilizado para a alimentação da população brasileira, pois apresenta um elevado teor proteico, carboidratos, fibra alimentar e vitaminas (ESTEVE et al., 2000).

A produção na safra passada de 20/21 de feijão no Brasil foi de 2,86 milhões de toneladas (CONAB, 2021), maior parte da produção no Brasil vem dos agricultores familiares, com cerca de 42% (ANTONIAZZI et al., 2013). Os principais países produtores de feijão segundo a Fao (2021) são: Mianmar, Índia, Brasil, China, com eles participando com 51,86% de todo o feijão produzido no mundo.

A aplicação de nitrogênio em cobertura para a cultura do feijoeiro tem demonstrado excelentes resultados, porém esse custo de aplicação pode ser reduzido com o uso da inoculação. A inoculação de sementes com bactérias, é uma prática muito utilizada em grandes culturas, principalmente para a conversão de nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), onde a fixação biológica de nitrogênio (FBN) tem muita importância, pois está relacionada com os baixos níveis de disponibilidade de nitrogênio nos solos, sendo que é agravado pela lixiviação desse macronutriente (XAVIER, 2006).

A bactéria mais utilizada na cultura do feijoeiro é a *Rhizobium tropici* que se apresenta a mais eficiente para a FBN do feijoeiro que compreende uma maior tolerância a temperaturas mais elevadas dos solos brasileiros. A ausência de nodulação na mesma e sendo insuficiente acarreta em um menor desenvolvimento da cultura e redução da produtividade (MARTINEZ-ROMERO et al., 1991).

A eficiência da simbiose depende muito da presença de molibdênio e cobalto no solo. O molibdênio age diretamente na fixação biológica de nitrogênio, onde é um componente essencial de duas enzimas, a nitrogenase e redutase que são indispensáveis para utilização do nitrato que promove maior acúmulo de N nas plantas de feijão (BERGER; VIEIRA; ARAÚJO, 1996). A adição de Mo estimulando a exsudação ajuda a ter um aumento da flora microbiana da rizosfera na qual se encontra, também apresentam mais proteínas e ácidos nucleicos e um teor mais elevado de ácido ascórbico (MALAVOLTA, 2006).

O cobalto (Co) também atua na FBN, sendo considerado um elemento benéfico para a cultura do feijoeiro, onde pode auxiliar no aumento da produção e crescimento vegetativo da planta (MARSCHNER, 2012), onde é essencial para a fixação do N₂, pois participa na síntese de cobalamida (vitamina B12) e atua nas reações metabólicas para a formação da leg-hemoglobina nos nódulos.

Estudos mostram que elementos benéficos como o Co e micronutrientes como o Mo tem baixa disponibilidade em alguns solos, sendo que um dos mais estudados é o molibdênio, onde ele é mais exigido na cultura do feijoeiro em comparação com a soja. O cobalto vem sendo estudado por ter efeitos positivos na nodulação das leguminosas, porém necessita de mais estudos tanto do cobalto como do molibdênio para aumentar a produção em menos área. O uso desses elementos nas doses corretas é de suma importância, pois utilizar doses altas pode prejudicar a absorção de outros elementos pela planta e ao mesmo tempo tendo maiores gastos na produção sem um maior incremento nos lucros.

A avaliação da nodulação e crescimento radicular é importante para comprovar a eficácia do uso do inoculante, bem como do Co e Mo na cultura do feijoeiro. Recomenda-se de 15 a 20 dias após a germinação seja realizada uma avaliação de número de nódulos na planta, sendo que ocorre a planta apresenta uma boa eficiência de nodulação quando possui mais de 20 nódulos por planta.

O objetivo desse estudo foi avaliar a inoculação de *Rhizobium tropici* e o uso de cobalto e molibdênio no feijoeiro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS DA CULTURA DO FEIJOEIRO

De acordo com Mazoyer e Roudart (2010, p. 99) o centro de origem da cultura do feijoeiro é o centro-americano, que foi datado de 4000 a 9000 anos antes da nossa presente era. O Rio Grande do Sul é um dos principais responsáveis pela expansão do cultivo do feijão foram os imigrantes alemães, onde até o final do século XIX o feijão foi a principal fonte de renda desses colonos (PHILERENO; BARBOSA, S.I).

Entre os vegetais, as leguminosas são consideradas uma boa alternativa para ingestão de proteínas e carboidratos, sendo o principal meio de suplemento proteico em locais onde a proteína animal é escassa ou o valor de aquisição é alto. Além de um elevado teor proteico, o feijão possui carboidratos, minerais (cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre e potássio), fibra alimentar e vitaminas (principalmente do complexo B). O consumidor brasileiro tem a preferência pelo feijão colhido mais recentemente, já que a qualidade do produto é afetada com o decorrer do tempo de armazenamento, sendo essas perdas manifestadas pelo aumento no grau de dureza do feijão, conseqüentemente aumentando o tempo de cozimento além de alterar o sabor e escurecer o tegumento (ESTEVE *et al.*, 2000). O consumo de feijão preto comum vem variando ao longo dos anos, ficando próximo aos 17 kg/habitante/ano (GUIMARÃES; DE SOUZA, 2019)

A expectativa da produção nacional de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na safra 2022 é de 3,1 milhões de toneladas, 7,6% superior à safra anterior, sendo que desta produção a expectativa de exportação é de cerca de 200 mil toneladas na safra 21/22, sendo os maiores produtores nacionais, Minas Gerais, seguido por São Paulo, Goiás e o Paraná. Os principais produtores mundiais da cultura do feijão são: Mianmar, Índia, Brasil, China, sendo eles participando com 51,86% de todo o feijão produzido no mundo (FAO, 2021). A produção no Brasil se dá em todas as regiões, com exceção do nordeste, podendo observar a adaptabilidade da cultura, pois é possível cultivar durante todo o ano (CONAB, 2022). Ao analisar as safras, podemos observar que cerca de 48,1% do feijão produzido no país é proveniente da primeira safra que é considerada a safra das águas com uma produtividade média de 1.670 kg/ha, 37,3% da segunda safra ou da seca com uma produtividade de 1.160 kg/ha e da terceira

safra ou irrigada cerca de 14,6%, com uma produtividade média de 2.600 kg/ha (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2012; GUIMARÃES; DE SOUZA, 2019). A primeira safra é cultivada da segunda quinzena de outubro á segunda de janeiro na região norte, no centro-oeste varia de outubro a novembro, no nordeste de outubro a fevereiro, no sudoeste e sul de agosto a dezembro. Já a segunda safra no norte é cultivada de outubro a junho, no nordeste varia de janeiro a abril como na região centro-oeste e sudeste, e no sul de dezembro a março. A terceira safra na região norte vai de abril a julho como na região sudeste, no nordeste varia de abril a julho, no centro-oeste de abril a setembro e no sul de março a maio.

O feijão é uma cultura essencial para os agricultores familiares, onde cerca de 42% do feijão produzido no Brasil vem deles. É um alimento de extrema importância para a segurança alimentar dessas famílias, também por apresentar um ciclo de produção curto mesmo em condições adversas, e permitindo o cultivo de até três safras por ano, sendo que as variedades mais cultivadas e produtivas são a do feijão preto e o feijão carioca (ANTONIAZZI *et al.*, 2013).

No Rio Grande do Sul, as maiores regiões produtoras do feijão-comum preto são pertencentes ao Planalto Médio (Planalto Superior e no Alto Uruguai), as quais tem uma estimativa de produção para 2022 de 29 mil toneladas, tendo uma redução em comparação a safra anterior no estado que foi de 25,2 mil toneladas (CONAB, 2022).

Além da importância do feijão na alimentação da população nacional e mundial, essa cadeia de produção, comercialização e beneficiamento, gera ocupação e renda majoritariamente as classes com menos privilégios da nossa sociedade (GONÇALVES *et al.*, 2010). Geralmente é produzido por produtores que apresentam um nível tecnológico baixo, entretanto não há muitas variedades melhoradas disponíveis para esses produtores. As sementes geralmente são oriundas da própria propriedade, sendo muito comum a ocorrência de mistura variedades (BINI; CANEVER, 2015). Os produtores de maior porte optam por produzir a cultura do feijão como uma alternativa para melhorar suas receitas. Isso ocorre quando há uma garantia mínima do preço da saca, um custo de produção baixo, uma produtividade elevada e a disponibilidade de recursos financeiros para subsidiar a safra (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2012).

2.2 INOCULAÇÃO

Com o crescimento da população prevista para as próximas décadas, há uma crescente demanda por uso de fertilizante na produção de alimentos pela agricultura. O Brasil utiliza fertilizantes de origem sintética, que são majoritariamente fornecidos por outros países produtores, sendo que é de suma importância uma busca de alternativas que visem o incremento de produtividade, sem o aumento do uso de fertilizantes (HUNGRIA, 2011).

O hábito de inocular as sementes da cultura do feijoeiro é uma prática pouco utilizada, sendo necessária informações mais abrangentes para que se possa ter uma maior resposta da cultura, tornando-se uma prática rotineira tal qual a inoculação que ocorre na cultura da soja (PISSÁIA, S.I).

A FBN é uma transformação biológica do nitrogênio (N_2) da atmosfera em amônia (NH_3), sendo que é realizada principalmente por bactérias que são especializadas e livres no ambiente ou associada com a planta, onde essa associação é feita com as leguminosas (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; BORÉM; 2006). Existem três fatores que são de fundamental importância para definir-se o potencial da FBN na cultura do feijão, sendo eles: a época de floração do feijoeiro, as taxas de absorção de nitrogênio do solo e o suprimento que a planta fornece de carboidratos para o nódulo, sendo essas características importantes para o processo de selecionar novos genótipos de feijão e cepas de *Rhizobium* (BRITO, 2011)

Nos ambientes tropicais a FBN tem muita importância, pois está relacionada com os baixos níveis de disponibilidade de nitrogênio nos solos, sendo que é agravado pela lixiviação desse macronutriente (XAVIER, 2006). A ausência de nodulação, ou a mesma sendo insuficiente em uma espécie vegetal que se encontra sob determinadas condições edáficas e ambientais, é proveniente de fatores que limitam o estabelecimento desenvolvimento e funcionamento da simbiose. Podemos ter tanto fatores bióticos como abióticos, atuando sobre o hospedeiro e a bactéria, que afetam a simbiose tendo os efeitos variados dependendo das espécies simbiotes envolvidas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As cepas de bactérias livres atuam de forma negativa, na forma de uma barreira impedindo que cepas inoculadas mais eficientes infectem as raízes, assim tendo nódulos menos eficientes na fixação de nitrogênio (MARTINS *et al.*, 2003).

A simbiose que ocorre com o rizóbio-leguminosa é um grande exemplo de associação biológica benéfica, que permite a sustentabilidade da agricultura devido ao seu processo de FBN, sendo possível substituir parcialmente e muitas vezes totalmente o uso de uma adubação nitrogenada (GUALTER *et al.*, 2008). Assim se utilizada a inoculação das sementes da cultura do feijoeiro por bactérias simbióticas, isso pode acarretar em uma redução nos custos da produção agrícola (GITTI *et al.*, 2012).

Para a formação do nódulo, no estágio inicial, ocorre a liberação de vários compostos químicos das células das raízes para o solo, estimulando a multiplicação de bactérias no seu estado livre no solo (REIS *et al.*, 2018), sendo que esses compostos são chamados de flavonoides, onde alguns dos quais são necessários para ativar a expressão de genes que regulam a nodulação, principalmente as proteínas NodD (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000).

Uma vez formado o cordão de infecção ele evolui, de modo intermitente para o interior dos tecidos da raiz, os quais foram ativamente colonizados pelas células bacterianas que ainda estão isoladas do citoplasma celular (REIS *et al.*, 2018), sendo que durante o crescimento ao longo do pelo radicular existe uma associação entre o núcleo do pelo radicular e a ponta de alongamento do cordão de infecção, tal proporção que existe uma conexão entre o núcleo do pelo radicular e a ponta durante o crescimento (GAGE *et al.*, 2004).

As células bacterianas são liberadas dentro do citoplasma das células do nódulo pela extremidade do cordão de infecção, sendo que após uma semana um pequeno nódulo fica visível, que é envolto por uma membrana chamada peribacteroidal que proporciona um ambiente especializado para a atividade diazotrófica, onde as bactérias ficam protegidas das variações ambientais, sendo que os bacteroides que colonizam o feijoeiro não apresentam grandes modificações anatômicas em comparação às células em vida livre, preservando o tamanho, a forma e o genoma (HAAG *et al.*, 2013). Os sistemas que controlam a fixação de nitrogênio, em diferentes diazotróficos, variam a rede de interações entre os diversos elementos envolvidos, quanto em relação às proteínas regulatórias chave (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A bactéria *Rhizobium tropici* é uma que se destaca entre as espécies que se apresentam mais eficientes para a FBN do feijoeiro, pois apresenta uma maior tolerância à temperatura mais elevada, tendo uma maior estabilidade genética e

tolerando a acidez dos solos brasileiros (MARTINEZ-ROMERO *et al.*, 1991). Assim como as outras bactérias que fixam nitrogênio, ela também transforma o N₂ em amônia, que é incorporado pela planta na forma de compostos nitrogenados.

Esse rizóbio é uma bactéria do tipo Gram-negativa, em forma de bastonete e encontrada de forma natural nos diversos solos do Brasil, sendo conhecido como rizóbio “nativo”. Porém na sua vida livre ele não consegue fixar nitrogênio, mas quando isso ocorre está associado geralmente com a microaerófila específica e outros produtos dessa fixação não ficam disponíveis para a planta (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; BORÉM, 2006). Os rizóbios nativos que estão em um determinado tipo de solo, apresentam uma maior adaptação às condições edáficas geralmente quando o solo apresenta limitações como o teor de metais pesados ou um baixo teor de matéria orgânica, devido à maior pressão de seleção que é gerada pelo ambiente que seleciona organismos altamente adaptados (REIS *et al.*, 2008).

A FBN pode ser limitada em ambientes naturais, onde podem culminar em uma redução da taxa de carbono fixado que é muito comentado nos dias atuais pelo aquecimento global, redução da produtividade dos nossos ecossistemas (REIS *et al.*, 2008).

Atualmente os inoculantes são produzidos em pH próximo à neutralidade, levando a uma limitação na adaptação dessas estirpes às condições de acidez dos solos tropicais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A etapa mais sensível da nodulação é a acidez do solo na sua fase inicial, onde inclui a fase de exsudação de compostos flavonóides pela leguminosa e a síntese de fatores *nod* pela bactéria, sendo essa fase conhecida como “comunicação química entre os parceiros” (REIS *et al.*, 2008). O alumínio solúvel (Al³⁺) interfere negativamente na sobrevivência do rizóbio no solo, onde esse elemento se complexa com alguns determinados componentes das células, principalmente o DNA, causando a inibição do crescimento e morte celular (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; BORÉM, 2006)

De acordo com Goormachtig *et al.*, (2004) a deficiência hídrica desencadeia uma série de respostas anatômicas e fisiológicas na planta hospedeira, como a descontinuidade da leg-hemoglobina e morte e abortamento dos nódulos e a redução no crescimento e emissão de pelos radiculares. A deficiência hídrica tende a afetar o peso dos nódulos e atividade da enzima nitrogenase em leguminosas (VARGAS; SUHET, 1980). A salinidade em altas concentrações pode causar uma redução no

tamanho e peso da parte aérea da planta, ocasionar uma redução na atividade da enzima nitrogenase e reduzir a nodulação radicular (ESECHIE *et al.*, 1998).

Parte da ineficiência no estabelecimento da associação do rizóbio com a leguminosa em temperaturas elevadas, pode estar associada à ocorrência de modificações fisiológicas e bioquímicas nos pares simbiotes. Alguns estudos mostram que os rizóbios de amendoim apresentam perfis protéicos diferenciados quando submetidos a temperaturas de 40°C em meio de cultura, sendo que a eficiência no estabelecimento se dá quando os pares simbiotes estão acima de 40°C (KISHINEVSKY; MANDAR; WEAVER, 1992). O feijoeiro é drasticamente limitado com temperaturas médias maiores que 34°C; tanto a bactéria como a planta são afetadas, sendo no caso da bactéria, os plasmídeos que são responsáveis por armazenar os genes simbióticos podem ser perdidos ou sofrer um rearranjo genético reiterada, que modificam a expressão desses genes (SOBERÓN-CHÁVEZ, *et al.*, 1989). Alguns estudos mostram que estirpes de rizóbios que foram cultivadas em uma temperatura mais elevada, demonstraram morfologia celular diferente daquelas estirpes cultivadas em temperaturas mais baixas, sendo que estas modificações celulares foram associadas com o espessamento da parede celular da bactéria, na tentativa de formar uma barreira para reduzir as perdas de água (KULKARNI; NAUTIYAL, 2000).

O uso de fungicidas aplicados no tratamento de sementes, tem causado uma grande mortalidade de células de *Bradyrhizobium* reduzindo a nodulação e muitas vezes o rendimento da cultura da soja. Estudos mostram que em solos que tem baixa população de bactérias noduladoras e pobres em nitrogênio, ocorre uma drástica redução na nodulação podendo resultar na perda total da lavoura de soja (HUNGRIA; CAMPOS, MENDES, 2001). Outro problema para a baixa eficiência é a alta disponibilidade de N em solos orgânicos, onde as plantas são mais propensas a absorver o nitrogênio que está disponível no solo do que aquele que é fornecido pelas bactérias noduladoras, pois a planta gasta menos energia para absorver o N do solo em relação ao produzido pelos nódulos (MERCANTE *et al.*, 1992).

O uso de uma alta adubação nitrogenada em leguminosas, pode acabar limitando o potencial de nodulação e de fixação de N₂, onde afeta desde o controle da produção das moléculas sinalizadoras que irão atrair as bactérias para iniciar a colonização das raízes, até o processo de adesão das bactérias nas raízes, infecção e desenvolvimento dos nódulos, podendo em casos até mesmo reduzir ou inibir a atividade da enzima nitrogenase (MERCANTE *et al.*, 2011).

Segundo Hungria; Campos e Mendes (2007), nos primeiros dias da cultura após a germinação, as plântulas utilizam o nitrogênio para seu crescimento, sendo esse N que estava armazenado em seus cotilédones. Por vezes essas reservas dos cotilédones acabam antes de se dar o início da FBN, acarretando na ocorrência de uma clorose provisória e leve nas folhas.

2.3 COBALTO

O cobalto(Co) é considerado um elemento benéfico para a cultura do feijoeiro, que pode auxiliar no aumento da produção e crescimento vegetativo da planta (MARSCHNER, 2012).

O solo é a fonte primária do cobalto para as culturas, sendo que a sua disponibilidade pode ser influenciada pelo baixo pH do solo ou solos de várzea, ou seja, solos alagados e ácidos tem baixos teores de Co, sendo que os teores de Co apresentado nos solos brasileiros variam de 1 a 40 mg kg⁻¹ (DECHEN; NATCHIGALL, 2007).

Em razão da monocultura e reduções dos teores de matéria orgânica no solo, têm ocorrido casos de deficiência de alguns micronutrientes e redução dos processos de fixação simbiótica do nitrogênio, sendo que a necessidade de adubação com micronutrientes nos solos do Brasil estava restrita à região do Cerrado, que apresenta solos mais intemperizados (ADÁMOLI *et al.*, 1986). Plantas que não tem o poder de fixar o nitrogênio, da mesma forma que plantas fixadoras de nitrogênio como o feijão, o qual são supridas com nitrato ou amônia, não requerem cobalto, essas são cultivadas contêm apenas uma porção relativa de pequenas quantidades de elementos não essenciais (TAIZ; ZEIGER, 2002).

Um fator de importância para a produção de grãos é o uso do tratamento de sementes, uma tecnologia disponível que atende as diversas culturas, porém no feijoeiro, sua utilização é considerada de baixa eficiência. A cultura do feijão é exigente em nutrição, principalmente em micronutrientes, que auxiliam para um bom desenvolvimento da cultura, sendo que o cobalto desempenha papel de grande importância, pois atua na otimização da fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010), bem como sementes de plantas bem supridas de

cobalto e micronutrientes apresentam melhorias no estande final de plantas com um aumento do vigor e produtividade final (DA SILVA, DE OLIVEIRA, p. 131, 2021).

Os nódulos que são formados por leguminosas, como a soja e feijão, são conhecidos como nódulos de crescimento determinado, uma vez quando a simbiose estiver ativa é observada com facilidade a coloração formada pela atividade da leg-hemoglobina (REIS *et al.*, 2018), sendo que a função da leg-hemoglobina é auxiliar o transporte de oxigênio para a respiração das células bacterianas simbióticas (TAIZ; ZEIGER, 2009)

O Co participa da síntese de cobalamina (vitamina B12), que atua nas reações metabólicas para a formação da leg-hemoglobina. É um elemento essencial à fixação simbiótica do N atmosférico para as plantas superiores que apresentam nodulação radicular (EPSTEIN, 1975), sendo que caso de fixação por *Rhizobium*, ocupa o centro da estrutura porfirínica quelatizada a 3 átomos de N cobalamina mais nucleotídeo (MALAVOLTA, 2006).

Estudos mostram que a aplicação de cobalto na cultura da soja, apresenta maiores teores de proteína no grão e um aumento de produção (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010). Tem sido observado resultados positivos com o uso de Co no TS com uma dose de 0,25 g há⁻¹ (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994)

O excesso de cobalto no solo reduz a absorção de ferro, por esse motivo os sintomas encontrados pela toxicidade de Co são extremamente semelhantes à de ferro, apresentando folhas cloróticas na parte superior das plantas e atrofiamento das plantas (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010).

2.4 MOLIBDÊNIO

Os micronutrientes, que tem uma importância conhecida há várias décadas, recentemente passaram a ser utilizados nas adubações na cultura do feijoeiro, antes de modo indiscriminado e agora com um conhecimento técnico e científico mais avançado (SMIDERLE *et al.*, 2008, p 22).

O molibdênio é um micronutriente aniônico no solo, apresentando uma disponibilidade alta com o pH próximo a 6,0 (MALAVOLTA, 2006), sendo que solos com esse pH não apresentam sinais de deficiência desse nutriente (REIS *et al.*, 2018). Quando um valor de pH do meio da solução é igual ou maior que 5,0 o molibdênio é

absorvido majoritariamente na forma de MoO_4^{2-} (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010). As concentrações requeridas de molibdênio pela planta são pequenas e sua aplicação pode ser feita via sementes, constituindo de uma forma mais prática e eficaz de adubação (CAMPO; LANTMANN, 1998). Os teores no solo variam de 1 a 2 mg kg^{-1} , mas pode alcançar valor de 24 mg kg^{-1} (DECHEN; NATCHIGALL, 2007). Na litosfera esse nutriente aparece em estados de oxidação de Mo^{3+} em condições redutoras e Mo^{6+} em condições de anaerobiose (MALAVOLTA, 2006).

Como uma alternativa para maximizar as respostas da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro, a aplicação de micronutrientes como o molibdênio pode apresentar resultados favoráveis para a cultura. O molibdênio age diretamente na fixação biológica de nitrogênio, onde é um componente essencial de duas enzimas, a nitrogenase e a nitrito redutase, que são indispensáveis para utilização do nitrato que promove maior acúmulo de N nas plantas de feijão (BERGER; VIEIRA; ARAÚJO, 1996). Embora as plantas exigem pequenas quantidades de molibdênio, um tanto de solos fornece os níveis requeridos, onde a aplicação de molibdênio nesses solos pode ter um grande aumento na colheita ou da forragem a um custo muito baixo (TAIZ; ZEIGER, 2002). Alguns estudos comprovam que a adição de fertilizantes fosfatados em solo que apresentam acidez favorece a absorção de Mo pela planta, entretanto adições de sulfatos podem provocar a redução na absorção de Mo. O excesso de enxofre diminui a expressão dos transportadores de sulfatos de alta afinidade, o que gera menor acúmulo de molibdênio (REIS *et al.*, 2018).

O Mo é absorvido na forma de oxianion MoO_4^{2-} , sendo que essa forma desprotonada predomina em solos com pH acima de 4,0. A absorção de SO_4^{2-} é ativada pela proteína transportadora na membrana, a qual é muito regulada pela planta com os efeitos dos genes aditivos ou não, por esse motivo é possível que os genes possam controlar a absorção do molibdato (WELCH, 1995).

O envolvimento do micronutriente Mo como um cofator das enzimas redutase do nitrato, oxidase do sulfeto e nitrogenase, onde está intimamente ligada como transporte de elétrons durante as reações bioquímicas (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010).

A adição de Mo estimulando a exsudação ajuda a ter um aumento da flora microbiana da rizosfera na qual se encontra, também apresentam mais proteínas e ácidos nucleicos e um teor mais elevado de ácido ascórbico (MALAVOLTA, 2006). A aplicação de molibdênio nas plantas de feijoeiro resulta em um melhor desempenho

das mesmas, com um aumento no número de vagens, maior teor de nitrogênio nas folhas e uma produção de grãos maior (OLIVEIRA; ARAÚJO; DUTRA, 1996).

O uso de Mo na cultura da soja pode aumentar a produção em cerca de 36%, também aumentando o teor de proteína no grão em até 4,97%. Com isso fica claro o efeito positivo do uso do molibdênio no rendimento de grãos de soja e sobre os teores de proteína nos grãos (SFREDO; DE OLIVEIRA, 2010). No TS, o uso do Mo não altera a germinação da cultura do feijoeiro, porém aumentou o número de nódulos produzidos (VICENTE, 2021). Em doses crescentes do Mo, observou-se um maior número de vagens por planta de feijão, em doses de até 15 g ha⁻¹ (CORRÊA, 1990, p. 516).

Como o molibdênio está incluído tanto com a assimilação do nitrato e a fixação de nitrogênio, sendo que a deficiência desse nutriente pode causar uma deficiência de nitrogênio, se a planta depende da fixação do nitrogênio e a principal fonte de nitrogênio for o nitrato (TAIZ; ZEIGER, 2002). A deficiência de Mo reflete de forma negativa na formação de ácido ascórbico, no conteúdo de clorofila e na atividade respiratória (REIS et al., 2018).

2.5 RHIZOBOX

Muitos pesquisadores tentaram conciliar a visualização/detecção do sistema radicular de uma planta ou cultura e o crescimento em um substrato ou solo, sendo que um dos primeiros pesquisadores conhecidos por apresentar um sistema chamado “caixa de raiz” foi Julius Von Sachs no século 19 (KUTSCHERA, 2015), a partir do momento em que muitos sistemas de crescimento que se baseiam em solo, conhecidos como rhizoboxes (Figura 1) foram desenvolvidos nos quais permitem a visualização de apenas uma parte do sistema radicular da planta (SANDER; BROWN, 1978), outros sistemas de crescimento provém camadas relativamente finas de solo delimitadas por uma ou duas superfícies transparentes para a visualização das raízes que estão pressionadas contra as placas transparentes (NEUMANN; GEORGE; PLASSARD, 2009), em que ponto confina as raízes evitando o contato entre as raízes das plantas cultivadas em caixas adjacentes (GREEN; JENSEN, 2000, p. 1050).

Figura 1- Caixa rhizobox



Fonte: Elaborado pelo autor, (2022)

No sentido de uma máxima visualização das raízes, é explorado seu gravitropismo inclinando a caixa de crescimento em ângulos que variam de 15° a 45° em relação a vertical (JIN *et al.*, 2015). O gravitropismo é regulado detectando o estímulo gravitrópico e o alongamento celular, onde permite o crescimento radicular em direção ao vetor gravitrópico. Quando ocorre a remoção da coifa da raiz, sendo essa retirada mecanicamente ou geneticamente reduz consideravelmente a resposta gravitrópica (TSUGEKI; FEDOROFF, 1999, p. 12945). A citocinina, que é produzida nas células da coifa das raízes, tem a função de regular o crescimento e o gravitropismo, podendo também funcionar como inibidor do alongamento das raízes durante a respostas da gravidade (ALONI *et al.*, 2004). Até o período, apenas componentes individuais da raiz que regula o desencadeamento de sinalizações do gravitropismo foram desvendados (HUANG, 2018).

O sistema rhizobox permite realizar comparações inter espécies, que são ecologicamente relevantes ou sistema de cultivo multi cultivares pretendendo

minimizar a competição pela aquisição de recursos dentro de um determinado ambiente (WEINER *et al.*, 2017). Os rhizoboxes tem-se tornado abundantemente utilizado para estudos de rizosfera de culturas anuais e plantas jovens em desenvolvimento, mas ocasionalmente são aplicadas em espécies arbóreas e perenes (FANG *et al.*, 2013), podendo realizar estudos com o efeito das propriedades do solo, tratamentos, atividade microbiana e espécies de plantas por meio da rizosfera na distribuição de nutrientes na interface solo-raiz (YOUSSEF; CHINO, 1988, p. 464).

O uso do rhizobox permite a aquisição dos dados, permitindo a análise contínua dos parâmetros dos sistemas radiculares de forma dinâmica e não destrutiva, que é uma característica crucial para a utilização deste método. A aplicabilidade do rhizobox tem a capacidade de analisar o indicador arquitetônico do sistema radicular ao longo do tempo se torna crucial para especificar o germoplasma que direciona o crescimento radicular rápido, precoce e profundo a ponto de acessar a umidade residual do solo (GAUR; KRISHNAMURTHY; KASHIWAGI, 2008), onde esse sistema dispõe de informações qualitativas e quantitativas sobre o alcance da rizosfera dentro da qual ocorre a influência da atividade da raiz em que ocorre a distribuição de nutrientes (YOUSSEF; CHINO, 1988, p. 464).

O sistema rhizobox confina as raízes das plantas dentro da caixa, onde permite estudar além do crescimento e desenvolvimento das raízes da cultura, a propagação do micélio de fungos em crescimento inoculados nas raízes da cultura alvo (GREEN; JENSEN, 2000, p. 1049). Traços de raízes visíveis no rhizobox, espécies com baixo desenvolvimento radicular lateral tendem a desenvolver um grande sistema radicular (comprimento total) com alocação nas camadas mais profundas do solo, sendo que esse tamanho radicular maior é encontrado em plantas verificadas em campo com maior profundidade de enraizamento (BODNER *et al.*, 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na casa de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), campus Cerro Largo/RS e instalado no dia 28/08/2022.

O solo que foi utilizado no trabalho é classificado como Latossolo Vermelho distroférico típico, pertencente à unidade de mapeamento Santo Ângelo (DOS SANTOS *et al.*, 2011). A análise de solo foi realizada em abril de 2022, sendo que a coleta para a análise da caracterização química foi realizada na camada de 0 a 20 cm de profundidade.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições totalizando 20 unidades experimentais. Os quatro tratamentos foram os seguintes: sem utilização de inoculação nas sementes e sem o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, com utilização de inoculação nas sementes e sem o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, sem utilização de inoculação nas sementes e com o uso de cobalto e molibdênio nas sementes, com utilização de inoculação nas sementes e com o uso de cobalto e molibdênio nas sementes. A cultivar de feijão (IPR URUTAU) que foi utilizada é do grupo preto, hábito de crescimento indeterminado do tipo II e ciclo semiprecoce.

Na inoculação das sementes do feijoeiro com *Rhizobium tropici* – (SEMIA 4077), foi utilizada na dosagem de 4 ml por kg de semente, com concentração de 2×10^9 células por mililitro de inoculante. A inoculação foi realizada com o auxílio de sacos plásticos, agitando a mistura à sombra, sendo realizada a semeadura em seguida com 3 sementes por rhizobox, dispostas aleatoriamente. No momento que as plantas emergiram foi realizado o desbaste, deixando duas plantas por compartimento do rhizobox.

A aplicação de Co e Mo foi proveniente do produto CoMo da empresa Agrichem na dose de $2,5 \text{ ml kg}^{-1}$, sendo que a mistura ocorreu em um saco plástico agitando a mistura antes de ocorrer a inoculação das sementes.

A adubação da cultura do feijoeiro foi realizada de acordo com as recomendações técnicas do Manual de Adubação e Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (ROLAS, 2016)., utilizando como base a análise química do solo previamente realizada.

A cultura foi instalada em rhizobox, divididos em dois compartimentos com área livre de 30 cm altura, 10 cm de largura e 3 cm de espessura cada um, onde foram preenchidos com solo peneirado proveniente de uma peneira de 2 mm, misturado com a adubação necessária para cada compartimento do rhizobox.

Os rhizobox foram dispostos, conforme o sorteio realizado, distribuídos em uma bancada na casa de vegetação, em um ângulo de 40° para poder observar o crescimento radicular e identificar quando as raízes alcançarem o fundo do rhizobox, que levou aproximadamente 23 dias após a implantação do experimento.

3.3 AVALIAÇÕES

Na determinação da massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas de feijão, as raízes foram eliminadas e a parte aérea foi levada a estufa para realizar a sua secagem, que levou aproximadamente 5 dias e apresentou peso constante, assim efetuada a pesagem, sendo que a massa apresentada em gramas.

A determinação do diâmetro do caule (DC) foi realizada através de medições a 3 mm abaixo da região do hipocótilo, com o auxílio de um paquímetro, sendo que a avaliação foi feita na metade (12/09/2022) e no final do experimento (19/09/2022) em estágio fenológico V3.

A determinação da altura das plantas (AP), foi realizada utilizando uma régua graduada do solo até o último nó das folhas abertas, sendo que a avaliação realizada na metade e no final do experimento em estágio fenológico V3.

Para a determinação de massa seca da raiz (MSR), as amostras foram colocadas em sacos de papel, identificadas e acondicionadas na estufa de secagem com circulação de ar forçada a 65°C até atingirem peso constante. Após isso, foram pesadas novamente, e então determinada a massa seca de raiz (em g). O número de

nódulos foi contado nas raízes e foram separados para poder ser realizado as fotos pro software safira, sendo que ele avalia pela diferença de cor a área, o volume e o diâmetro ponderado das raízes, disponibilizando um gráfico de Exel desses valores.

A área, o volume e o diâmetro ponderado das raízes do feijão foram obtidos pelo software safira. Essas raízes foram lavadas para a retirada de todas as partículas de solo que ficaram aderidas após isso foram secadas e armazenadas em vidros com álcool (70%) para não secar. Onde essas raízes eram retiradas dos vidros, secas e dispostas sobre uma folha de papel branca e efetuada a separação das raízes secundarias, para deixar as raízes o mais separado possível para a realização da foto pro software.

As variáveis resposta foram submetidas à análise da variância (ANOVA), sendo que as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste Tukey a 5% de significância, utilizando se o programa estatístico SISVAR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O experimento foi instalado no dia 28/08/2022 e as avaliações de altura de plantas, tanto na primeira avaliação (12/09/2022) como na segunda (19/09/2022) não apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 1). O mesmo descrito por Zwirtes (2014) apontou que a aplicação de diferentes estirpes de *Rhizobium* não apresentou diferença significativa na altura das plantas. A altura das plantas de soja não fora influenciada pelo tratamento com Co e Mo em diferentes doses (GOLO et al., 2009, GALDINO et al., 2020).

Tabela 1 - Altura de plantas e diâmetro do colmo do feijoeiro cultivado em rhizobox.

Tratamento	Altura de plantas		Diâmetro do colmo	
	1° Avaliação	2° Avaliação	1° Avaliação	2° Avaliação
	cm	cm	mm	mm
Testemunha	7,88 a	8,63 a	3,450 a	3,786 a
Inoculante	7,69 a	8,23 a	3,432 a	3,636 a
Cobalto e Molibdênio	8,66 a	8,45 a	3,434 a	3,706 a
Cobalto e Molibdênio + Inoculante	8,71 a	9,32 a	3,324 a	3,732 a
CV%	13,34	12,4	6,63	6,79

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si por teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Outros autores encontraram resultados diferentes. Segundo Marcondes e Caires (2005), a altura das plantas que foram submetidas a utilização do cobalto e molibdênio via foliar bem como via semente, ocasionou uma redução no crescimento das plantas de soja em função da sua fitotoxicidade na cultura.

Dentre as alturas de plantas a média encontrada no tratamento, onde apresentava cobalto e molibdênio com inoculante, apresentou maior altura na 1° e 2° avaliação respectivamente e com o uso de inoculante inferior aos outros tratamentos nas duas avaliações respectivamente.

A avaliação de diâmetro do colmo, na primeira avaliação bem como na segunda, não apresentou diferença significativa entre as médias dos tratamentos. O mesmo resultado foi observado por SCHOSSLER *et al* (2016), onde verificou que o

diâmetro do colmo não foi influenciado pelas diferentes estirpes de bactérias noduladores.

De acordo com Ferreira *et al.*, (2000) a simbiose feijoeiro-rizóbio foi capaz de fixar N atmosférico e suprir as necessidades das plantas, bem como proporcionar o desenvolvimento semelhante aquelas que não receberam a inoculação.

Na avaliação de MSR e MSPA não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Souza *et al.*, (2011) que não encontraram respostas à inoculação com *R. tropici*, bem como para Milani *et al.* (2008), onde não houve diferença significativa para as variáveis MSR e MSPA utilizando Co e Mo juntamente com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* na cultura da soja. De acordo com Leite *et al.*, (2009) não foi encontrada resposta ao uso do molibdênio na cultura do feijoeiro, sendo que pode ser explicado pelo fato de alguns solos já possuírem concentrações adequadas de molibdênio.

Outros autores encontraram resultado diferente. Neto *et al.* (2012) verificaram que na cultura da soja aos 51 e 87 dias, a matéria seca foi influenciada pela forma de aplicação, onde a massa seca da parte aérea tende a ser maior quando se realizou a aplicação de Co e Mo em TS+V4.

Tabela 2 - Matéria seca da parte aérea e radicular no feijoeiro cultivado em rhizobox.

Tratamento	Massa Seca pl^{-1} (g)	
	Parte aérea	Parte radicular
	g	g
Testemunha	0,536 a	0,188 a
Inoculante	0,424 a	0,166 a
Cobalto e Molibdênio	0,486 a	0,182 a
Cobalto e Molibdênio + Inoculante	0,524 a	0,197 a
CV%	20,34	21,36

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si por teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na avaliação de nodulação das plantas do feijoeiro (Tabela 3) o maior índice de nodulação foi encontrado no tratamento onde foi utilizado apenas a inoculação (17,76 nódulos). Acredita-se que o fenômeno de maior nodulação com a inoculação se deu devido à maior capacidade das estirpes em se adaptar as condições ambientais e se sobressair às espécies nativas no quesito nodulação (FERREIRA, *et al.*, 2000).

Tabela 3 - Número de nódulos por planta do feijoeiro cultivado em rhizobox.

Tratamento	Avaliação
Testemunha	4,80 b
Inoculante	17,76 a
Cobalto e Molibdênio	5,80 b
Cobalto e Molibdênio + Inoculante	2,50 b
CV%	56,21

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si por teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

O tratamento que apresentou a menor média de nodulação foi aquele que continha cobalto, molibdênio mais a inoculação (2,50 nódulos). Esse fenômeno pode ser explicado por Balardin *et al.* (2011), onde pode haver incompatibilidade acarretando pelo efeito tóxico dos produtos de tratamento de sementes (fungicida, inseticida, Co e Mo), sendo que acabam formando uma calda mais concentrada e com maior aderência as sementes, reduzindo a sobrevivência das bactérias. Resultado semelhante foi encontrado por Da Silva *et al.*, (2011) e Da Silva *et al.*, (2018) onde a incompatibilidade entre os produtos que são utilizados no tratamento de semente como o Co e Mo e bactérias inoculadas é comumente relatada, por apresentarem concentrações salinas e pH não compatíveis a sobrevivência das bactérias.

Nas avaliações de área superficial das raízes (ASR), bem como o diâmetro ponderado das raízes (DPR) apresentaram comportamento similar, onde se obteve uma diferença significativa entre as médias dos tratamentos (Tabela 4). A maior ASR foi encontrado no tratamento que apresentava cobalto e molibdênio juntamente com o inoculante (20,574 mm²), não diferindo dos tratamentos que apresentaram somente cobalto e molibdênio (20,442 mm²) e aquele que apresentou o inoculante (17,608 mm²).

Deak *et al.* (2017), na cultura da soja, o uso de inoculantes a uma temperatura ambiente de 25 °C para a inoculação apresentou maiores médias de área superficial de raízes bem como volume. Estudos de Jabborova *et al.* (2018) apresentam que plantas de soja inoculadas com *Pseudomonas putida* TSA1 e *B. japonicum* em condições não salinas apresentaram uma área radicular e diâmetro radicular 45% maior que plantas com uma dose de inoculante e plantas em condições salinas. Kang *et al.* (2020), a inoculação com *Rhodobacter sphaeroides* aumentou o diâmetro da raiz na cultura da soja em aproximadamente 17,5% em condições ambientais normais e

11,4% sob estresse hídrico. A cultura da soja apresenta muito mais pesquisa com o uso de inoculantes e desenvolvimento de tecnologias do que no feijão, o que indica que há muito a ser pesquisado na cultura do feijão podendo alcançar alta produção em menor área.

Tabela 4 - Área superficial das raízes (ASR), diâmetro ponderado das raízes (DPR) e volume radicular (VR) por planta do feijoeiro cultivado em rhizobox

Tratamento	ASR mm ²	DPR mm	VR mm ³
Testemunha	16,200 b	0,554 b	4,646 b
Inoculante	17,608 ab	0,602 ab	5,972 ab
Cobalto e Molibdênio	20,442 ab	0,638 ab	7,952 a
Cobalto e Molibdênio + Inoculante	20,574 a	0,656 a	8,978 a
Cv%	12,76	8,74	24,13

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si por teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, (2023).

A avaliação de volume de raízes apresentou que o uso de cobalto e molibdênio mais inoculação não diferiu do tratamento onde foi utilizado somente cobalto e molibdênio e aquele que foi utilizado somente inoculante. De acordo com Moretti *et al.* (2020), que afirma que o uso de inoculante na cultura da soja proporciona um maior volume e diâmetro radicular. Já Inácio *et al.* (2019), obtiveram resultados semelhantes onde utilizaram Co+Mo, com inoculação na cultura da soja, apresentando um volume de raízes de aproximadamente 350 mm³ de raízes colhidas em 10 cm³ de solo mostrando-se superior ao tratamento testemunha que apresentou 60 mm³ de raízes. Oliveira (2018) encontrou resultado diferente, onde que o uso de diferentes doses de molibdênio e inoculação não acrescentou no volume de raízes no feijão-caupi.

5 CONCLUSÕES

O uso de cobalto e molibdênio associado ao inoculante aumentou a área superficial de raízes, o diâmetro de raízes e o volume de raízes, porém, não alterou a altura de plantas, o diâmetro de colmo e a massa seca de parte aérea e de raízes até o estágio V3 .

A inoculação aumentou o número de nódulos no feijoeiro. Entretanto, o uso do inoculante associado ao Co e Mo não aumentou a nodulação em relação à não inoculação.

REFERÊNCIAS

- ADÂMOLI, J. *et al.* Caracterização da região dos Cerrados. **Solos dos Cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 33-74, 1986.
- ALONI, R. *et al.* Role of cytokinin in the regulation of root gravitropism. **Planta**, v. 220, n. 1, p. 177-182, 2004.
- ANTONIAZZI, L. *et al.* Tecnologias na agricultura brasileira e potenciais para cooperação com a África. **Contribuição para Diálogo**. ICONE, p. 61, 2013.
- BALARDIN, Ricardo Silveiro *et al.* Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1120-1126, 2011.
- BERGER, P.G.; VIEIRA, C.; ARAUJO, G.A.DE.A.. EFEITOS DE DOSES E ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DO MOLIBDÊNIO SOBRE A CULTURA DO FEIJÃO. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 31, n. 7, p. 473-480, 1996.
- BINI, D. A.; CANEVER, M. D. A dinâmica da área, do rendimento e dos preços sobre o valor da produção do feijão e da soja no Rio Grande do Sul e a dependência temporal entre esses componentes. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1139-1146, 2015.
- BODNER, G. *et al.* Characterization of cover crop rooting types from integration of rhizobox imaging and root atlas information. **Plants**, v. 8, n. 11, p. 514, 2019.
- BRITO, O.R. *et al.* Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em linhagens de feijoeiro do grupo preto. In: **Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 33., 2011, Uberlândia. Solos nos biomas brasileiros: sustentabilidade e mudanças climáticas: anais.[Uberlândia]: SBCS: UFU, ICIAG, 2011. 1 CD-ROM., 2011.
- CAMPO, R.J.; LANTMANN, A.F. Efeitos de micronutrientes na fixação biológica do nitrogênio e produtividade da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.8, p.1245- 1253, 1998
- COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. 2.ed. Florianópolis: Epagri, 2012. 157p
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos**: Sétimo levantamento, abril 2022 – safra 2021/2022. : Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4579-producao-nacional-de-graos-e-estimada-em-269-3-milhoes-de-toneladas-na-safra-2021-22#:~:text=A%20s%C3%A9tima%20estimativa%20da%20safra,obtida%20na%20safra%202020%2F21>. Acesso em: 11 mai. 2022.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos**: oitavo levantamento, abril 2021 – safra 2020/2021. : Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2022.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Calendário de Plantio e Colheita de Grãos no Brasil 2019**, 2019.
- CORRÊA, J.R.V. *et al.* Efeitos de *Rhizobium molibdênio* e cobalto sobre o feijoeiro comum cv. Carioca. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 25, n. 4, p. 513-519, 1990.

DA SILVA, Amilton Ferreira *et al.* Inoculação com bradyrhizobium e formas de aplicação de cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Agrarian**, v. 4, n. 12, p. 98-104, 2011.

DA SILVA, E.E. *et al.* Agronomic efficiency of Bradyrhizobium pre-inoculation in association with chemical treatment of soybean seeds. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 14, p. 726-732, 2018.

DA SILVA, L. A.; DE OLIVEIRA, G. P. Tratamento de sementes com micronutrientes na cultura do milho (*Zea Mays L.*). **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 24, n. 2, p. 130-135, 2021.

DEAK, Evandro Ademir *et al.* Temperatura e umidade do solo na co-inoculação na cultura da soja. 2017.

DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. 2007.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas; princípios e perspectivas**. Rio de Janeiro, USP, p. 341, 1975.

ESECHIE, H. A.; RODRIGUEZ, V.; EISHAFIE, A. Biomass production, modulation, and acetylene reduction activity of alfalfa grown under salinity stress. **Journal of plant nutrition**, v. 21, n. 3, p. 489-503, 1998.

ESTEVEES, A. M. *et al.* **Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*)**. 2000. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras.

FANG, S. *et al.* Tree species composition influences enzyme activities and microbial biomass in the rhizosphere: a rhizobox approach. **PloS one**, v. 8, n. 4, 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Top 10 Commodities Production in Brazil. 2021.

FERREIRA, Alessandro Nunes *et al.* Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, v. 57, p. 507-512, 2000.

GAGE, D. J. Infection and invasion of roots by symbiotic nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 68, n. 2, p. 280-300, jun. 2004.

GALDINO, P. L. F. *et al.* Cobalto e molibdênio aplicados via foliar no crescimento vegetativo e na produtividade da soja Cobalt and molybdenum applicated via leaf in the growth vegetative and yield of soybean. 2020.

Gaur, P.M.; Krishnamurthy, L.; Kashiwagi, J. Improving drought-avoidance root traits in chickpea (*Cicer arietinum L.*)-current status of research at ICRISAT. **Plant Production Science**, 11(1), p.3-11, 2008.

GITTI, D.C. *et al.* Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Agrarian**, v. 5, n. 15, p. 36-46, 2012.

GOLO, André Luis *et al.* Qualidade das sementes de soja com a aplicação de diferentes doses de molibdênio e cobalto. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 40-49, 2009.

- GONÇALVES, J.G.R. *et al.* Estudo da estabilidade fenotípica de feijoeiro com grãos especiais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 922-931, 2010.
- GOORMACHTIG, S. *et al.* Mudar de invasão intracelular para intercelular durante a nodulação de leguminosas tolerantes ao estresse hídrico. **Anais da Academia Nacional de Ciências**, v. 101, n. 16, pág. 6303-6308, 2004.
- GREEN, H.; JENSEN, D.F.. Disease progression by active mycelial growth and biocontrol of *Pythium ultimum* var. *ultimum* studied using a rhizobox system. **Phytopathology**, v. 90, n. 9, p. 1049-1055, 2000.
- GUALTER, R.M.R. *et al.* Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia agraria**, v. 9, n. 4, p. 469-474, 2008.
- GUIMARÃES, E. P.; DE SOUZA, T. L.P.O. Feijão comum: o uso de sementes certificadas na cadeia produtiva. **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2019.
- HAAG, A.F.; ARNOLD M.F.F.; MYKA, K.K.; KERSCHER, B.; DALL'ANGELO, S.; ZANDA, M.; MERGAERT, P.; FERGUSON, G.P. Molecular insights into bacteroid development during *Rhizobium-legume* symbiosis. **FEMS Microbiol**, v. 37, n. 3, p. 364-447, 2013.
- HEWITT, J.E, MCCREADY C.C. Molybdenum as a plant nutrient. The effects of different molybdenum and nitrogen supplies on yields and composition of tomato plants grown in sand culture. **J Hort Sci**, v. 31, n. 4, p. 284-374, 1956
- HUANG, G. *et al.* Rice actin binding protein RMD controls crown root angle in response to external phosphate. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2018.
- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2007.
- HUNGRIA, M; CAMPO, R.J.; MENDES, I. de C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. 2001.
- INACIO, Karini Aparecida de Matos *et al.* Volume de raízes da soja com o uso de bioestimulantes e cobalto e molibdênio em solo arenoso. 2019.
- JABBOROVA, Dilfuza P. *et al.* Efeito da co-inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Pseudomonas putida* em características de morfo-arquitetura radicular, nodulação e crescimento da soja em resposta ao suprimento de fósforo em condições hidropônicas. **Jornal Búlgaro de Ciências Agrícolas**, v. 24, n. 6, pág. 1004-1011, 2018.
- Jin, K., Shen, J., Ashton, R.W., White, R.P., Dodd, I.C., Parry, M.A. and Whalley, W.R. Wheat root growth responses to horizontal stratification of fertiliser in a water-limited environment. **Plant and Soil**, 386(1), p.77-88, 2015.

- KANG, Sang-Mo et al. Inoculation with Indole-3-acetic acid-producing rhizospheric *Rhodobacter sphaeroides* KE149 augments growth of adzuki bean plants under water stress. 2020.
- KISHINEVSKY, BD; MANDAR.; WEAVER, RW Efeito da alta temperatura radicular na simbiose *Bradyrhizobium-amendoim*. **Planta e solo** , v. 143, n. 2, pág. 275-282, 1992.
- KULKARNI, S.; NAUTIYAL, C.S. Effects of salt and pH stress on temperature-tolerant *Rhizobium* sp. NBRI330 Nodulating *Prosopis juliflora*. **Current Microbiology** , v. 40, n. 4, pág. 221-226, 2000.
- Kutschera, U. **150 years of an integrative plant physiology**. *Nature Plants*, 1(9), p.1-3, 2015.
- LEITE, Luiz Fernando Carvalho et al. Nodulação e produtividade de grãos do feijão-caupi em resposta ao molibdênio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 492-497, 2009.
- LUDWIG, R.A.; DE VRIES, G.E. **Biochemical physiology of rhizobium dinitrogen fixation**. In Nitrogen Fixation, v. 4, pp. 50-69, 1986.
- MALAVOLTA, E. **Manual de Nutrição Mineral de Plantas**. Piracicaba: Agronomica Ceres, 2006. 638 p.
- MARCONDES, José Alfredo Prestes; CAIRES, Eduardo Fávero. Aplicação de molibdênio e cobalto na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, v. 64, p. 687-694, 2005.
- MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3ed. Academic Press, 2012. 649 p.
- Martins, L.M.; Xavier, G.R.; Rangel, F.W.; Ribeiro; J.R.A.; Neves, M.C.P.; Morgado, L.B.; Rumjanek, N.G. **Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil**. *Biology and Fertility of Soils*, 38(6): 333–339, 2003.
- MAZOYER, M.; ROUDART, L. **Histórias das agriculturas no mundo. Do neolítico à crise contemporânea**. IICA, 2010.
- MERCANTE, F.M. et al. Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja. 2011.
- MERCANTE, F.M. *et al.* **A inoculação do feijoeiro comum com rizóbio**. EMBRAPA-CNPBS, 1992.
- MILANI, Gustavo Lima et al. Nodulação e desenvolvimento de plantas oriundas de sementes de soja teores de molibdênio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 19-27, 2008.
- MOREIRA, F.M. de S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ufla, 2006. 729 p.
- MORETTI, Luiz Gustavo et al. Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 1, p. 418-428, 2020.

NETO, Durval Dourado et al. Adubação mineral com cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 2741-2751, 2012.

Neumann, G.; George, T.S.; and Plassard, C. Strategies and methods for studying the rhizosphere—the plant science toolbox. **Plant and Soil**, 321(1), p.431-456, 2009.

OLIVEIRA, Clara Alves et al. Resposta do feijão caupi à inoculação com rizóbio e doses de molibdênio. 2018.

OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**, v. 1, p. 301-352, 1996.

PERRET, X.; STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W. J. Molecular basis of symbiotic promiscuity. **Microbiology and molecular biology reviews, Washington**, v. 64, n. 1, p. 180-201, mar. 2000

PHILERENO, D.C.; BARBOSA, M.J. **EVOLUÇÃO HISTÓRICA DOS SISTEMAS AGRÁRIOS NA LOCALIDADE DE TAQUARA-RS, ENCOSTA INFERIOR DO NORDESTE.**

PISSÁIA, M.C. *et al.* **EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO NA NODULAÇÃO EM SOJA E FEIJÃO.**

REIS, V. M. *et al.* Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

REIS, V. M. *et al.* **Nutrição Mineral de Plantas**. 2. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. 671 p.

ROLAS - Rede Oficial de Análise de Solo e de Tecido Vegetal. Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 11.ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 376 p., 2016

ROSOLEM, Ciro A.; MARUBAYASHI, Osvaldo M. Seja o doutor do seu feijoeiro. **Informações agronômicas**, v. 68, n. 1, p. 1-16, 1994.

Sanders, J.L. and Brown, D.A. A New Fiber Optic Technique for Measuring Root Growth of Soybeans Under Field Conditions 1. **Agronomy Journal**, n. 70, v .6, p.1073-1076, 1978.

SCHOSSLER, João Henrique et al. Componentes de rendimento e produtividade do feijoeiro comum submetido à inoculação e co-inoculação com estirpes de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria**, v. 17, n. 1, p. 10-15, 2016.

SFREDO, G.J.; DE OLIVEIRA, M.C.N. Soja: molibdênio e cobalto. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

SILVA, Silvano Carlos da; HEINEMANN, Alexandre Bryan. **Cultivo do feijão**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pre-producao/clima>. Acesso em: 20 jul. 2022

SMIDERLE, O.J. *et al.* Tratamento de sementes de feijão com micronutrientes embebição e qualidade fisiológica. **REVISTA AGRO@ MBIENTE ON-LINE**, v. 2, n. 1, p. 22-27, 2008.

SOBERÓN-CHÁVEZ, G. *et al.* Rearranjos genéticos de um plasmídeo simbiótico *Rhizobium phaseoli*. **Journal of bacteriology** , v. 167, n. 2, pág. 487-491, 1986.

SOUZA, Emerson de Freitas Cordova de; SORATTO, Rogério Peres; PAGANI, Felipe Augusto. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 370-377, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Plant Physiology**. 3. ed. S.I: Sinauer Associates, 2002. 690 p. Disponível em:

<https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/PlantPhysiologyTaiz2002.pdf>.

Acesso em: 20 jun. 2022.

TSUGEKI, R.; FEDOROFF, N.V. Genetic ablation of root cap cells in Arabidopsis.

Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 96, n. 22, p. 12941-12946, 1999.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. **Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja em um solo de cerrado.**; Effects of inoculation and water deficit on soybean development on a cerrado soil. 1980.

VICENTE, G.J. **Micronutrientes na cultura do feijão**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J. da; BORÉM, Aluizio. **Feijão**. Viçosa: Ufv, 2006. 600 p.

Weiner, J., Du, Y.L., Zhang, C., Qin, X.L. and Li, F.M. **Evolutionary agroecology: individual fitness and population yield in wheat (*Triticum aestivum*)**, 2017.

XAVIER, G.R. *et al.* Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 1, 2006.

YOUSSEF, R.A.; CHINO, M. Development of a new rhizobox system to study the nutrient status in the rhizosphere. **Soil science and plant nutrition**, v. 34, n. 3, p. 461-465, 1988.

ZWIRTES, Alvicio. Nodulação, crescimento e desenvolvimento de feijão inoculado com diferentes estirpes de Rhizobium. 2014.