



## Uso do clorofilômetro como critério para quantificar a necessidade de nitrogênio no feijão-comum inoculado com *Rhizobium tropici*

Pedro Marques da Silveira <sup>1,\*</sup>, Maria da Conceição Santana Carvalho <sup>1</sup>, Augusto Cesar de Oliveira Gonzaga <sup>1</sup> e Pedro Henrique Lopes Sarmiento <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Arroz e Feijão, Rod. GO 462, km 12, zona rural, Santo Antônio de Goiás, GOIÁS, Brasil

\* Autor Correspondente: pedro.silveira@embrapa.br

Recebido: 24/06/2022; Aceito: 07/12/2023

**Resumo:** A inoculação de sementes de feijão com *Rhizobium tropici* tem apresentado resultados inconsistentes quanto a sua eficiência em suprir nitrogênio (N) para as plantas. No campo, o produtor de feijão necessita dispor de um mecanismo ou ferramenta que lhe permita corrigir a deficiência de N caso seja observado necessidade do nutriente ou em caso em que a fixação biológica de nitrogênio (FBN) não foi capaz de suprir toda a demanda de N para o bom desenvolvimento da cultura, e assim evitar que a produtividade de grãos seja afetada. O objetivo do estudo foi a utilização prática do clorofilômetro portátil, por meio do Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN), na indicação da necessidade de nitrogênio em plantas inoculadas com rizóbio. Foram conduzidos cinco experimentos de campo para comparar, utilizando o ISN, plantas inoculadas com rizóbio com plantas inoculadas e que receberam nitrogênio em quantidade suficiente para não apresentar deficiência do nutriente (plantas Referência). Observou-se que, em quatro experimentos os valores do ISN, determinados na época de adubação de cobertura, das plantas inoculadas estavam inferiores a 95% das plantas Referência e assim houve necessidade de aplicação de N, nas quantidades variando de 33 a 99 kg ha<sup>-1</sup> de N. A técnica de utilização do clorofilômetro, por meio da determinação do ISN, foi eficiente em detectar a necessidade ou não da aplicação de N em plantas inoculadas com *Rhizobium tropici*, para atingir as produtividades alcançadas por plantas que receberam altas doses de nitrogênio em cobertura.

**Palavras-chave:** Adubação nitrogenada; fixação biológica de nitrogênio; *Phaseolus vulgaris*; SPAD.

## Use of the chlorophyll meter as a criterion to quantify the nitrogen requirement in common bean inoculated with *Rhizobium tropici*

**Abstract:** The inoculation of bean seeds with *Rhizobium tropici* has shown inconsistent results regarding its efficiency in supplying nitrogen (N) to the plants. In the field, the bean producer needs to have a mechanism or tool that allows him to correct the N deficiency if a need for this nutrient is observed or in case that biological nitrogen fixation (BNF) is not able to meet all the demand of N for the good development of the crop, and thus to avoid that the grain yield is affected. The objective of the study was the practical use of the portable chlorophyll meter, through the Nitrogen Sufficiency Index (NSI), in the indication of nitrogen requirement in plants inoculated with rhizobium. Five field experiments were carried out to compare, using the NSI, plants inoculated with rhizobium with inoculated plants that received enough nitrogen to not show nutritional deficiency (Reference plants). It was observed that, in four experiments, the ISN values, determined at the time of topdressing fertilization of the inoculated plants, were lower than 95% of the Reference plants and thus there was a need to apply N, in amounts varying from 33 to 99 kg ha<sup>-1</sup> of N. The technique of using the chlorophyll meter, through the determination of the NSI, was efficient in detecting the need or not of N application in plants inoculated with *Rhizobium tropici*, to reach the same productivity of the plants that received high doses of N topdressing.

**Key-words:** Nitrogen fertilization; biological nitrogen fixation; *Phaseolus vulgaris*; SPAD.

---

### 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos constantes esforços para ampliar a utilização da inoculação com *Rhizobium tropici* no feijoeiro para viabilizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), os resultados obtidos até o momento indicam que a substituição total da adubação nitrogenada pela FBN ainda é uma meta a ser alcançada, comparada ao patamar atingido pela cultura da soja. Além disso, os resultados observados no campo são inconsistentes, onde se tem observado produtividades variando de 2.500 a 3.500 kg ha<sup>-1</sup> (PELEGRIN et al., 2009) à produtividades muito baixas, entre 600 a 1.500 kg ha<sup>-1</sup> (SOUZA et al., 2011). A maior parte desses resultados conflitantes é devida aos ensaios serem efetuados normalmente em condições ambientais diferentes, cultivares distintas e aos possíveis estresses bióticos e abióticos.

No campo, o produtor de feijão necessita dispor de um mecanismo ou ferramenta que lhe permita corrigir, em tempo hábil, a deficiência de nitrogênio (N) caso seja observada necessidade do nutriente ou onde a FBN não seja capaz de suprir toda a demanda de N para o bom desenvolvimento da cultura, e assim evitar que a produtividade de grãos seja afetada. O uso do medidor portátil de clorofila, que proporciona leituras instantâneas, de maneira não destrutiva de folhas, é uma prática alternativa de indicação do nível de N na planta (YADAVA, 1986). As leituras efetuadas pelo clorofilômetro correspondem ao teor de clorofila presente na folha da planta (TAKEBE & YONEYAMA, 1989). O conteúdo de clorofila correlaciona-se com a concentração de N na planta e também com a produtividade das culturas (BLACKMER & SCHEPERS, 1995; SCHEPERS et al., 1992). Segundo Chapman & Barreto (1997) e Peng et al. (1993), a utilização do clorofilômetro é um método rápido e barato da estimativa da concentração de N nas folhas de plantas.

Silveira & Ferreira (2016) e Silveira & Gonzaga (2017) apresentaram técnicas para a utilização do clorofilômetro em condição de campo, na avaliação da necessidade e da quantidade de N a ser aplicada em cobertura na cultura do feijão-comum, em condições de não inoculação das sementes com rizóbio. Essas técnicas incluíram a definição do primeiro trifólio do feijoeiro para ser usado na tomada das leituras do instrumento, o Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN) de 95% como o índice que mostra que as plantas estão bem nutridas de N e a quantidade do nutriente a ser aplicada em cobertura quando esse índice, em condições reais, é menor que 95%, a qual é equivalente a 15 kg ha<sup>-1</sup> de N para cada 1 ponto percentual menor que 95%. De acordo com Maia (2011), o ISN de 95% mostrou que as plantas de feijão estavam supridas de N, não sendo necessária a aplicação do nutriente. Até então, essas informações não existiam ou não estavam postas de forma conjunta na literatura para serem utilizadas pelo meio científico e principalmente pelos produtores de feijão na adubação nitrogenada em cobertura do feijoeiro.

O objetivo do estudo foi a utilização do clorofilômetro portátil, por meio do Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN), na indicação da necessidade de nitrogênio em plantas inoculadas para fixação biológica de nitrogênio no feijão-comum.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Basicamente foi a aplicação direta da metodologia apresentada por Silveira et al. (2017), “Passo a passo para uso de clorofilômetro portátil na quantificação do nitrogênio a ser aplicado em cobertura no feijoeiro” desenvolvida para condições de cultivo de feijão sem inoculação das sementes. A metodologia consistiu em implantar áreas Referência dentro da área de estudo, no caso a área inoculada com rizóbio para FBN. Essas áreas Referência, são parcelas com a mesma cultivar e condições de plantio, adubadas na fase inicial de desenvolvimento da planta, 10 a 12 dias após a emergência das plantas, com uma quantidade elevada de N, de 150 kg ha<sup>-1</sup>, de forma que, teoricamente, não tenha deficiência do nutriente. Como não tem deficiência de nitrogênio a leitura do clorofilômetro nas áreas Referência tende a ser igual ou maior do que a leitura na área do estudo.

Nesse sentido, foram conduzidos cinco experimentos, na Embrapa Arroz e Feijão, em diferentes áreas experimentais, épocas e ano de plantio e cultivares de feijão-comum, cujas sementes foram inoculadas com *Rhizobium tropici*. Em todos os experimentos foram empregados 2 tratamentos com quatro repetições:

T1: Aplicação de N no estágio V4 (terceira folha trifoliada formada) de acordo com o Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN %) da planta obtido nesse estágio (tratamento teste) e,

T2: Aplicação de 150 Kg ha<sup>-1</sup> de N de 10 a 12 dias após emergência (tratamento Referência)

O Índice de Suficiência de Nitrogênio foi obtido pela média das leituras do clorofilômetro em amostras de plantas no T1 dividida pela média das leituras em amostra do T2, ou seja,  $ISN (\%) = (T1/T2)100$ .

**Experimento 1:** o primeiro experimento foi instalado, no outono-inverno de 2018, em área com cultivo anterior de milho, sob irrigação, com a cultivar BRSMG Uai, semeada no espaçamento de 0,45 m entre linhas e com 10-11 sementes por metro. Cada parcela experimental foi composta de 5 linhas de 6 x 0,45m. No plantio as sementes foram inoculadas com uma mistura de rizóbios, SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088, na dose de

10 gramas do inoculante por quilo de semente. A adubação de plantio foi de 200 kg ha<sup>-1</sup> da MAP. Não se aplicou potássio pois o solo apresentava alto teor, de 98 mg dm<sup>-3</sup>.

As leituras do clorofilômetro foram feitas nos dois tratamentos (T1 e T2), no estádio V4 da planta de feijão (3ª folha trifoliolada formada), média de 10 leituras por repetição.

**Experimento 2:** o segundo experimento difere do primeiro somente em relação a época da leitura do clorofilômetro que foi feita no estádio R5 do feijoeiro (pré-floração).

**Experimento 3:** foi implantado no outono-inverno de 2019, com a cultivar Pérola, em parcelas de 4,0 metros de comprimento por 3,6 m de largura (8 linhas de feijão espaçadas de 0,45 m). A adubação de plantio com fósforo e potássio foi de 118 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 52,5 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. No plantio as sementes de feijão foram tratadas com inoculante Biomax Turfosso (200 g 50 kg<sup>-1</sup> sementes).

**Experimento 4:** difere do Experimento 3 somente quanto a inoculação que foi feita com Biomax Líquido (300 mL ha<sup>-1</sup> no sulco de plantio). Tanto no Experimento 4 como no 3, as leituras SPAD do clorofilômetro foram feitas nos dois tratamentos (T1 e T2), no estádio V4 da planta de feijão. Também nestes dois experimentos, houve a aplicação extra de Biomax líquido Azum (*Azospirillum*) na dose de 300 mL ha<sup>-1</sup> aplicados nos estádios V2/V3 da cultura.

**Experimento 5:** o quinto experimento foi instalado em outubro de 2019, cultivo de feijão “das águas”. Foi empregada a cultivar BRSCFC 104, com aplicação de Biomax líquido (300 mL ha<sup>-1</sup>) no sulco de plantio. Semelhante aos Experimentos 3 e 4 as leituras do clorofilômetro foram feitas nos dois tratamentos (T1 e T2), no estádio V4 da planta de feijão. Também no experimento 5 houve a aplicação extra de Biomax líquido Azum (*Azospirillum*) na dose de 300 mL ha<sup>-1</sup> aplicados no estádio V2/V3 da planta.

De acordo com o ISN (%), encontrado nos cinco experimentos, foi adicionado nitrogênio, na forma de ureia, segundo Silveira & Gonzaga (2017), que relata adicionar 15 kg ha<sup>-1</sup> de N para cada um ponto percentual de ISN menor que 95%. Os tratos culturais foram os inerentes à cultura, utilizados quando necessários.

As produtividades de grãos do feijoeiro, em todos os experimentos, foram comparadas estatisticamente pelo teste de t de Student à 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as leituras do clorofilômetro e os Índices de Suficiência de Nitrogênio (ISN %) nos dois tratamentos e nos cinco experimentos. Os ISN encontrados variaram bastante entre si, alcançando o valor máximo de 94,8%, mostrando que as plantas estavam bem supridas de N conforme Silveira & Gonzaga (2017) e Maia (2011) ao valor mínimo de 88,4%, no qual as plantas, apesar de inoculadas com *Rhizobium tropici*, estavam bem carentes de N. Contribuiu para essa variação, provavelmente, as condições de ambientes diferentes dos diferentes experimentos. Esses valores de ISN estão dentro da faixa dos encontrados por Silveira & Gonzaga (2017) para plantas de feijão sem inoculação. Para plantas inoculadas com rizóbio, Silveira e Ferreira (2016) encontraram valores de ISN de 93,3 e de 94,7, em dois anos de experimentação, com a cultivar Perola.

**Tabela 1** – Leituras do clorofilômetro e Índices de Suficiência de Nitrogênio (ISN %) nos dois tratamentos e nos cinco experimentos

Experimento	Leitura Clorofilômetro T1 <sup>1</sup>	Leitura Clorofilômetro T2 <sup>2</sup>	ISN (%)
1	44,80	48,27	92,8
2	44,27	48,27	91,7
3	50,17	54,92	91,3
4	49,35	52,00	94,8
5	66,40	75,11	88,4

<sup>1</sup>T1: Aplicação de N no estádio V4 (terceira folha trifoliada formada) de acordo com o Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN %) da planta obtido nesse estádio (no Experimento 2 a leitura do clorofilômetro foi feita no estádio R5 - pré-floração), <sup>2</sup>T2: Aplicação de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N de 10 a 12 dias após emergência (tratamento Referência)

As quantidades de N adicionadas variaram de 0 a 99 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 2), no caso segundo a orientação de Silveira & Gonzaga (2017) e, como esperado, as produtividades de grãos do feijoeiro não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos dentro do mesmo experimento (Tabela 2).

Straliotto (2002) destaca que o feijoeiro quando inoculado com rizóbio pode produzir até 3.000 kg ha<sup>-1</sup> sob irrigação, e que, uma adubação nitrogenada de cobertura, de 30 a 40 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, feita aos 20-25 dias após o plantio, pode garantir maiores níveis de produtividade, mesmo que os nódulos apresentem ativos (vermelhos).

Pelos resultados encontrados nesse trabalho denota-se que essa orientação (STRALOTTO, 2002) não seria assertiva visto que foram encontrados valores maiores quais sejam, 50, 55 e até 99 kg ha<sup>-1</sup> e até a não necessidade de N (0 kg ha<sup>-1</sup>). Deduz-se que não existe um valor pré-determinado. Vai depender se as condições ambientais, cultivar e rizóbio estão favorecendo a FBN para completo suprimento de N às plantas do feijão-comum.

**Tabela 2** – Produtividades de grãos em razão dos tratamentos, nos diferentes experimentos.

Experimento	Tratamento <sup>1</sup>	Nitrogênio adicionado	Produtividade de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )
1	T1	33	3.123 a <sup>2</sup>
	T2	150	3.437 a
2	T1	50	3.100 a
	T2	150	3.437 a
3	T1	55	3.972 a
	T2	150	4.220 a
4	T1	0	3.721 a
	T2	150	3.951 a
5	T1	99	3.453 a
	T2	150	3.334 a

<sup>1</sup>T1: Aplicação de N no estádio V4 (terceira folha trifoliada formada) de acordo com o Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN %) da planta obtido nesse estádio (no Experimento 2 a leitura do clorofilômetro foi feita no estádio R5 (pré-floração), T2: Aplicação de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N de 10 a 12 dias após emergência (tratamento Referência); <sup>2</sup> médias comparadas pelo teste de t (de Student) à 5% de probabilidade.

Pias et al. (2022), em uma revisão de trabalhos no Brasil sobre a resposta do feijão-comum a adubação nitrogenada, num total de 160 trabalhos, observaram que quando combinada com doses de N mineral abaixo de 100 kg ha<sup>-1</sup>, a inoculação de sementes proporciona ao feijoeiro um aumento médio na produtividade de grãos de 6 % (118 kg ha<sup>-1</sup>) e é uma boa alternativa devido ao seu baixo custo. Observaram também, nessa mesma revisão, que a resposta do feijoeiro ao nitrogênio varia com as condições experimentais, sendo maior em solos com menos de 20 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica (23,3%) e maior em feijão cultivado após gramíneas (18,6%) do que após leguminosas (15,3%).

Dos cinco resultados encontrados nesse estudo, resultante de cinco experimentos conduzidos em diferentes condições, somente em um (20% dos casos) observou-se que a inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* no plantio foi totalmente eficiente para suprir a necessidade da planta de feijão em nitrogênio quando comparada com plantas adubadas com o nutriente, ou seja respondeu totalmente a FBN não necessitando da adubação nitrogenada. Isso mostra que FBN em feijão ainda não é tão solidificada como na cultura da soja e que o produtor de feijão necessita de um critério para avaliar, em campo, se a técnica está sendo eficiente para atender a necessidade da planta em nitrogênio.

#### 4. CONCLUSÕES

A técnica de utilização do clorofilômetro portátil, por meio da determinação do ISN, é eficiente em detectar a necessidade ou não da aplicação de nitrogênio em plantas de feijão-comum, inoculadas com *Rhizobium tropici*, para atingir produtividades semelhantes às das plantas que receberam altas doses de nitrogênio em cobertura.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLACKMER, T.M.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. **Journal of Production Agriculture**, v.8, n.1, p.56-60, 1995.
- CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v.89, n.4, p.557-562, 1997.
- MAIA, S.C.M. **Uso do clorofilômetro portátil na determinação da adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de feijoeiro**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.
- PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, I.M.N.; OTSUBO, A.A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.1, p.219-226, 2009.
- PENG, S.; GARCÍA, F.V.; LAZA, R.C.; CASSMAN, K.G. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration. **Agronomy Journal**, v.85, n.5, p.987-990, 1993.

- PIAS, O.H.C.; WELTER, C.A.; TIECHER, T.; CHERIBIN, M.R.; FLORES, J.P.M.; ALVES, L.A.; BAYER, C. Common bean yield responses to nitrogen fertilization in Brazilian no-till soils: A meta-analysis. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.46; e0220022, 2022.
- SCHEPERS, J.S.; FRANCIS, D.D.; VIGIL, M.; BELOW, F.E. Comparison of corn leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter reading. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.23, n.17/20, p.2173-2178, 1992.
- SILVEIRA, P.M.; FERREIRA, E.P.B. **Índice de suficiência de nitrogênio determinado pelo clorofilômetro em feijão inoculado com rizóbio e sob adubação nitrogenada**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2016. 16 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 46).
- SILVEIRA, P.M.; GONZAGA, A.C.O. Portable chlorophyll meter can estimate the nitrogen sufficiency index and levels of topdressing nitrogen in common bean. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.47, p.1-6, 2017.
- SILVEIRA, P.M.; GONZAGA, A.C.O.; SARMENTO, P.H.L. **Passo a passo para o uso do clorofilômetro portátil na quantificação do nitrogênio a ser aplicado em cobertura no feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2017 (Comunicado Técnico).
- SOUZA, E.F.C.; SORATTO, R.P.; PAGANI, F.A. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n. 4, p.370-377, 2011.
- STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia (CNPAB), 2002. 6 p.
- TAKEBE, M.; YONEYAMA, T. Measurement of leaf color scores and its implication to nitrogen nutrition of rice plants. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.23, n.2, p.86-93, 1989.
- YADAVA, U.L. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. **HortScience**, v.21, n.6, p.1449-1450, 1986.