

Inoculação com as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura do feijão

Wellington Tochetto^{1*}; Cornelio Primieri¹

¹Centro Universitário Assis Gurgacz, colegiado de Agronomia, Cascavel, Paraná

^{1*}wellington.tochetto@gmail.com

Resumo: A produtividade média de feijão no Brasil é baixa, devido a fatores como clima, doenças e preço para comercialização, visando que seu custo para produção é alto, uma vez que o fomento dessa produção é essencial, bem como, o uso de inoculantes isolados ou em conjunto, possibilitam uma melhor fixação biológica de nitrogênio com um custo baixo, possibilitando maior produção da cultura. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da inoculação de sementes de feijão com bactéria *Bradyrhizobium japonicum* estirpe 5079 turfoso e líquido e *Azospirillum brasilense* estirpe ABCV5 líquido e a sua co-inoculação, realizado nas estufas do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG. O delineamento experimental utilizado, foi inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 4 repetições cada, sendo os tratamentos: T1 – Testemunha, T2 – *Bradyrhizobium japonicum* turfoso, T3 – *Azospirillum brasilense* líquido, T4 – *Bradyrhizobium japonicum* líquido, T5 – *Bradyrhizobium japonicum* turfoso + *Azospirillum brasilense* líquido e T6 – *Bradyrhizobium japonicum* líquido + *Azospirillum brasilense* líquido. A cultivar utilizada foi BRS REALCE® e os parâmetros avaliados foram porte das plantas, peso de raízes e massa de 1.000 grãos e a produtividade. O tratamento com inoculante *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* líquido apresentaram variação a 5% do teste Tukey para a variável massa de raiz, onde as demais variáveis não apresentaram variação.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. inoculação. produtividade.

Abstract: The daily average of beans in Brazil, due to a factor such as climate, diseases and prices for marketing, which is a cost for the production of high, since the promotion of production is essential, as well as, the use of inoculants alone or in combination, make possible a higher biological rate of nitrogen with a low cost, allowing greater production of the crop. The work volume is verified from the inoculation of bean seeds with *Bradyrhizobium Japonicum* strain 5079 turfous and liquid and *Azospirillum Brasilense* strain ABCV5 and their co-inoculation, carried out in the greenhouses of Assis Gurgacz-FAG University Center. The treatments were: T1 - Witness, T2 - *Bradyrhizobium japonicum* turfoso, T3 - *Azospirillum brasilense* liquid, T4 - *Bradyrhizobium japonicum* liquid, T5 - *Bradyrhizobium japonicum* turfoso. The experimental design was completely randomized (DIC) with 6 treatments and 4 replicates each + *Azospirillum brasilense* liquid and T6 - *Bradyrhizobium japonicum* liquid + *Azospirillum brasilense* liquid. The cultivar was cultivated in BRS ENVELOPE and the variables were root weight and weight of one hundred seeds. The evaluation was performed with the data submitted to analysis of variance (ANOVA) and as comparative indicators by the Tukey test at 5% of significance, with the assistance of the ASSISTAT statistical program. As conclusion the treatment with inoculant *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum Brasilense* liquid presented variation regarding root weight.

Keywords: Biological fixation of nitrogen. Inoculation. inoculation. productivity.

Introdução

Diferente dos demais cereais, a cultura do feijão é dividida em cores para comercialização, em que, na parte sudeste e centro-oeste do Brasil, há maior preferência pelas variedades “carioca” ou rajada. Dessa maneira, a cultivar BRSMG Realce apresenta resistência a doenças comuns do feijoeiro, bem como, está aliado à precocidade e altas produtividades, o que é de suma importância para o produtor (MELO et al. 2016).

Neste contexto, a safra 2016/17 de feijão ocupou uma área de 13,5% a mais, comparados aos anos anteriores, fazendo com que levasse a uma produtividade média obtida de 17,6% acima da última, girando essa em torno de 1.381 toneladas de grão. Bem como, a produção nacional apresentou um acréscimo de 33,5% em relação à safra de 2015/16 e isso tudo foi possível pela contribuição do clima, sendo este favorável (CONAB, 2017).

Ligado a isso, a inoculação da semente de feijão vem sendo uma grande incógnita para produtores, na nodulação, enraizamento e porte de planta que podem impactar no potencial produtivo. O potencial para aumentar a nodulação e o crescimento de plantas tem sido demonstrado com a inoculação combinada de *Rhizobium* e *Azospirillum* em plantas de feijão (REMANS et al., 2008). Com isso, algumas bactérias de diferentes estirpes ou até mesmo a co-inoculação destas vem sendo utilizadas de forma a aperfeiçoar estas variáveis na cultura (CONAB, 2017).

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* fixadoras de nitrogênio na soja, estão sendo usadas em grande escala também na cultura do feijão, pelo fato de se tratar de uma leguminosa como a soja, porém conforme Zilli et al no ano de 2011, observaram que as bactérias *Bradyrhizobium* demonstraram grande incremento no porte do feijão quando acrescido Nitrogênio em cobertura, contudo, algumas estirpes não demonstram efeito significativo na fixação do mesmo na cultura, provando assim, que estirpes SEMIA 580 e SEMIA 579 foram inferiores comparadas a SEMIA 587 em feijão CAUPI. Já na cultura da soja, essas variedades de estirpes apresentaram até cinco sacas a mais quando comparadas com esta (VARGAS et al., 1992).

Concomitantemente a isso, o uso de somente a bactéria *Bradyrhizobium* na inoculação, pode aumentar a captação de Nitrogênio pela planta, mas também pode ser afetada pela deficiência de Molibdênio (Mo), já a inoculação juntamente com a aplicação de Mo via foliar em diferentes quantidades (40, 80 e 160 gr ha⁻¹) e a aplicação via semente (40 gramas ha⁻¹) não demonstram diferença em produtividade devido a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* turfoso (GRIS; CASTRO e OLIVEIRA, 2004).

Na soja, a co-inoculação mostra resultados superiores quando comparados com inoculação somente de uma bactéria, em que, sementes inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium* na proporção 150 mL 50 kg e 100 g 50 kg, apresentaram maiores teores de produtividade, isso ocorreu devido a maior nodulação das raízes devido a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), apresentando até 14 nódulos por planta (BÁRBARO *et al.*, 2011). Para Gitti *et al.* (2012), o uso de *Azospirillum brasilense* ABV5 e ABV6 não mostra mudança no porte de planta comparado a testemunha, mas quando se aumenta 60 kg ha⁻¹ N, percebe-se um incremento no porte da planta, porém o nitrogênio não se mostrou superior quando comparado ao aumento da produção, garantindo 101 kg ha⁻¹ mais somente com o uso do inoculante.

Já na inoculação de sementes de feijão com a bactéria *Rhizobium Tropici* e a estirpe SEMIA 4077 na quantidade de 500 gramas para 50 kg de sementes, com plantio de 15 sementes por metro e adubação de 320 kg ha⁻¹ da formulação 00-20-20, obteve-se que o feijão carioca da cultivar Pérola não demonstrou diferença no aumento de nódulos radiculares, matéria seca da parte aérea e nem em peso de 100 sementes, porém quando acrescido a dose mínima de 20 kg ha⁻¹ estes valores aumentam (PELEGRIN *et al.*, 2009).

Desse modo o objetivo deste trabalho é verificar a eficiência da inoculação de sementes de feijão com bactéria *Bradyrhizobium japonicum* turfoso e líquido, bem como, *Azospirillum brasilense* líquido e a sua co-inoculação sobre massa de mil grãos, comprimento de raiz, porte de planta e produtividade.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado em uma estufa localizada na Fazenda Escola do Centro Universitário Assis Gurgacz, em Cascavel, no Paraná, nos meses de janeiro a março de 2018. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais, as quais são compostas por vasos de 20 L, com 30 cm de diâmetro e 14 m de altura.

Em cada vaso foram semeadas 4 sementes, após a emergência das plântulas, foi feito raleio e deixado apenas 2 plantas da cultivar de feijão Realce[®] por vaso. Os tratamentos utilizados foram: T1 – Testemunha; T2 – Inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* turfoso; T3 – Inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* líquido; T4 – Inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* líquido; T5 - Inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* turfoso + *Azospirillum brasilense* líquido e T6 –

Inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* líquido + *Azospirillum brasilense* líquido.

O experimento foi conduzido primeiramente com a coleta de solo, da cidade de Nova Prata do Iguaçu no Paraná, a campo e mandado para o laboratório Maravilha de Pato Branco, no Paraná, sendo classificado como um latossolo vermelho distrófico. O solo foi coletado de outra cidade de um produtor rural da cidade de Nova Prata do Iguaçu - Pr, que trouxe em bolsas de ração o solo já corrigido para uso. Foi retirado o solo da lavoura e colocado em bolsas de 50 quilos para transporte até o CEEDETEC nas estufas, onde foi conduzido o experimento. A terra foi colocada em vasos de 20 litros e após toda terra ser acondicionada, perfurou-se cerca de 7 cm do solo para colocar a adubação química de manutenção da planta, conforme sugerida pela análise como mostra a Tabela 1.

A fim de se preparar os vasos, foi realizado a adubação com formulação supersimples a 17% de P₂O₅, com a necessidade recomendada para a cultura de 100 kg ha⁻¹. Tal adubação foi colocada de forma proporcional ao tamanho do diâmetro 30 cm, com base em regra de 3 obteve-se 2 gramas por parcela da formulação. Após, houve cobertura de 2 cm, para evitar inviabilizar a semente, ficando um sulco para depositar a semente de 5 cm.

Tabela 1 - Análise química do solo.

Camada	pH	P	K	Ca	Mg	H+AL	AL	CTC	V	MO	Argila
Cm	(CaCl ₂)	mg dm ⁻³	-----	-----	cmol _c	dm ⁻³	-----	-----	%	gkg ⁻¹	g kg ⁻¹
0-20	5,60	4,99	2,20	66,16	12,04	4,28	0,00	17,56	80,40	22,78	61.04

Fonte: O autor.

Cada tratamento foi preparado com ajuda de balança para pesagem de dosagens e recipiente para fazer a mistura dos diferentes tipos de inoculantes nas sementes. Após serem feito o sorteio dos tratamentos, iniciou-se a semeadura de 4 sementes por vaso da cultivar de feijão.

Para a testemunha foi apenas plantada sem inoculação, em T2 inoculou-se as sementes *Bradyrhizobium* turfoso (NITRO1000), baseado na dosagem de recomendação de bula (60 gramas para 50 kg sementes), em T3 inoculou-se com *Azospirillum brasilense* líquido (NITRO1000), conforme bula (100 ml para 25 kg sementes) em T4 inoculou-se com *Bradyrhizobium* líquido (NITRO1000), , conforme bula (100 ml para 50 kg de sementes), em T5 realizou-se a co-inoculação com T1 +T2 e T6 com T3 + T4. Sendo a estirpe *Bradyrhizobium* SEMIA 5079 e SEMIA 5080 e a estirpe *Azospirillum* abV5 e abV6.

Durante a condução da cultura foram realizadas prática de manejo, como irrigação diário da cultura por estar em estufa e realizado aplicação de acefato (ORTHENE®) a proporção de 6,25 gramas/litro para controle de mosca branca (*Bemisia tabasi*) e larva minadora (*Liriomyza huidobrensis*). A colheita dos resultados foi realizada no dia 28 de março de 2018. Os vasos com as plantas foram irrigados de forma a ajudar o amolecimento da terra para arrancar as plantas com bom perfil radicular para pesagem de avaliação.

Os parâmetros foram avaliados a partir da colheita, sendo estes: produtividade, massa de mil grãos, altura de planta e peso de raiz. A produtividade foi estimada a partir da pesagem dos grãos de cada repetição (tratamento), sendo realizada a média, que posteriormente foi convertida para kg ha^{-1} . Para determinar a massa de mil grãos, foi debulhado todas repetições de cada tratamento e pesado separado por tratamento, sendo determinado em gramas.

Na avaliação da altura, foi medido a base da planta até o ultimo trifólio apresentado para depois ser gerado uma média de altura de cada tratamento. Para determinar o peso de raiz, após ser avaliado todos os parâmetros necessários da planta, foi cortado a parte radicular de todas repetições de cada tratamento e então lavados e deixado secar a sombra, para posterior pesagem em balança analítica.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, com auxílio do programa estatístico ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2016).

Resultado e discussão

Conforme demonstrado pela Tabela 2, pelo Teste de Tukey em nível de 5% sobre as variáveis produtividades, massa de mil grãos, altura da planta e peso de raiz são verificadas significativas diferenças apenas na variável peso de raiz, especialmente entre as amostras T1 e T6.

Tabela 2 – Varáveis produtividade, massa de mil grãos, altura de plantas e peso de raiz.

Tratamentos	Produtividade (Kg ha ⁻¹)	Massa mil grãos (gr)	Altura de plantas (cm)	Peso de raiz (gr)
T1 – Testemunha sem inoculante	1.267,87 a	17,74 a	76,50 a	2,50 ab
T2 – <i>Bradyrhizobium japonicum turfoso</i>	1.285,89 a	18,00 a	69,25 a	3,00 ab
T3 – <i>Azospirillum brasiliense líquido</i>	1.303,56 a	18,25 a	72,50 a	2,03 b
T4 - <i>Bradyrhizobium Japonicum líquido</i>	1.232,31 a	17,25 a	76,50 a	2,94 ab
T5 – <i>Bradyrhizobium japonicum turfoso + Azospirillum brasiliense líquido</i>	1.321,34 a	18,49 a	78,50 a	3,13 ab
T6 – <i>Bradyrhizobium japonicum líquido + Azospirillum brasiliense líquido</i>	1.214,26 a	17,00 a	81,75 a	3,56 a
CV %:	17.18	28.42	11.06	19.64

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem pelo Teste Tukey à 5% de significância.
Fonte: O autor (2018).

No estudo desenvolvido, observou-se a variação no peso de raiz da espécie estudada, sendo o maior peso verificado no tratamento T6, em que, foi aplicado inoculante *Bradyrhizobium japonicum turfoso* e *Azospirillum brasiliense* líquido na semente, sendo o peso verificado de 3,56 gramas por vaso. Em contrapartida, o menor peso de raiz foi encontrado no tratamento T3, onde foi aplicado inoculante somente *Azospirillum* líquido na semente, sendo o peso verificado de 2,03 gramas por vaso.

Aumentos não muito significativos também foram observados por Gitti et al. (2012), em que, verificaram que a inoculação de sementes de feijão com *Azospirillum brasiliense* apresentou aumentos numéricos no teor de nitrogênio foliar, massa seca de plantas, componentes de produção, massa de 100 grãos e produtividade de grãos, corroborando com os dados obtidos nesta pesquisa. Em contrapartida, German et al (2000) conduziram experimentos testando os efeitos de *A. brasiliense* sobre a morfologia radicular de feijoeiro sob diferentes regimes de água, em que, observaram que a inoculação com *A. brasiliense* com 107 unidades formadoras de colônias (UFC) ml⁻¹ aumentou o comprimento da raiz, área de projeção de raiz, comprimento radicular específico (m g⁻¹) e área de raiz específica (cm² g⁻¹).

1), em comparação com os controles não inoculadas, resultando em sistemas radiculares com raízes mais longas e mais finas, discordando com o observado no teste T6.

Analisando os demais parâmetros como produtividade, altura de planta e massa de cem grãos não foi possível avaliar possíveis diferenças ao teste Tukey em 5%, porém quando comparado o resultado dos dados estatísticos pelos números, é possível observar que no tratamento T5, onde a semente foi inoculada com *Bradyrhizobium japonicum* turfoso e *Azospirillum brasilense* líquido houveram números elevados de produtividade, altura de planta e massa de cem grãos.

Sabendo que a massa de cem grãos depende dos meios climáticos, físicos químicos do solo, bem como, da quantidade de nitrogênio disposta para a planta em cobertura ou sulco (German, *et al.*, 2000), contribuiu para que houvesse a observação durante a realização do experimento em relação ao inoculante, pelo qual, capta o nitrogênio da melhor forma da atmosfera e o deixa disponível para a planta. Ligado a isso, como mostrado no teste T4, a massa de 100 grãos também não foi afetada pelos fatores e interações, confirmando que essa é a característica que apresenta a menor variação percentual em virtude das alterações do meio. Confirmando a pesquisa de Soratto e colaboradores (2004), que a aplicação de N não causa grande variação no número de grãos por vagem, nem na massa de cem grãos.

Conclusão

Conclui se com esse trabalho que não houve diferenças estatísticas em níveis de 5% pelo teste de tukey para, produtividade, massa de mil grão e altura de planta em ambos tratamentos testados. A variável peso de raíz apresentou diferença estatística no tratamento T6, que ficou inferior aos demais testados.

Referências

BÁRBARO, I. M.; JÚNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MACHADO, P. C.; MIGUEL, F. B. Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 8, n. 12, 2011.

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira de grãos**. v. 44, n. 12., p. 1-158. SAFRA 2016/17- Décimo segundo levantamento. Brasília, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

GITTI, D. C.; ARF, O.; KANEKO F. H.; RODRIGUES, R. A. F.; BUZETTI, S.; PORTUGAL, J. R.; CORSIN, D. C. D. C. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno**. Dourados, v.5, n.15, p.36-46, 2012. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/279662481>>. Acesso em: 25 ago. 2018.

GRIS, E. P.; CASTRO, A. M. C.; OLIVEIRA, F. F. **Soybean Yield in Response to Molybdenum and *Bradyrhizobium japonicum* inoculation.** Unioeste- PR, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832005000100017>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. & MENDES, I. C. **Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains.** *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.39, p.88-93, 2003.

SOUZA, J. E. B. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* no feijoeiro-comum Visando Aumento de Produtividade e Redução de Custo de Produção.** 2015. Universidade Federal de Goiás- UFG.

MOREIRA, G. B. L.; PEGORARO, R. F.; VIEIRA, N. M. B.; BORGES, I.; KONDO, M. K. Desempenho agrônomo do feijoeiro com doses de nitrogênio em semeadura e cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.17, n.8, p.818–823, 2013.

MELO, L. C.; ABREU, A. F. B.; PELOSO, M. J. D.; DEL PELOSO, M. J.; PEREIRA, H. S.; FARIA, L. C.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PEREIRA FILHO, I. A.; MOREIRA, J. A. A.; MARTINS, M.; COSTA, J. G. C.; WENDLAND, A.; MARTINS, F. A. D.; COELHO, M. A. O.; SANTOS, J. B.; CABRERA DIAZ, J. L.; CARNEIRO, P. C. S.; DEL GIÚDICE, M. P.; VIEIRA, R. F.; TEIXEIRA, H.; FARIA, J. C. **BRSMG REALCE: Cultivar de feijão comum de grãos rajados adaptada a colheita mecânica direta.** 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/106439/1/156-1.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2018.

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, A.; OSTUBO, I. M. N.; OSTUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.219-226, 2009.

PERES, A. R. Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação: produção e qualidade fisiológica de sementes. 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/111098/000798405.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

REMANS, R.; RAMAEKERS, L.; SCHELKENS, S.; HERNANDES, G. Effect of *Rhizobium-Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus vulgaris* L. genotypes cultivated across different environments in Cuba. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 312, n. 1/2, p. 25-37, 2008.

SOUZA, E. F. C.; SORATTO, R. P.; PAGANI, F. A. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro-comum cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 46, n. 4, p. 370-377, 2011.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3733 – 3740, 2016.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Duas novas estirpes de Rhizóbio para a inoculação da soja. **Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária-**

EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados- CPAC. n. 62, p. 3. 1992. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/549345/1/comtec62.pdf> >. Acesso em: 04 ago. 2018.

VIEIRA, C., JÚNIOR, P. T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. Editora UFV, Viçosa, p. 415-436, 2006. Disponível em: < <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/6872/texto%20completo.pdf?sequence=1> >. Acesso em: 25 ago. 2018.

ZILLI, J. E.; NETO, M. L. S. N.; JÚNIOR, I. F., *et al.* Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v. 35 p. 739-742, 2011.