

Co-inoculação de bactérias na cultura do feijão

Neuri Dias Machado^{1*}; Cornélio Primieri¹.

¹Centro Universitário Assis Gurgacz, Colegiado de Agronomia, Cascavel, Paraná.

^{1*}neuridias@hotmail.com

Resumo: O uso de bactérias específicas na inoculação do feijoeiro contribui para o aumento de produtividade e diminui o uso de fertilizantes químicos, o trabalho terá como objetivo avaliar a resposta da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em um processo que tem baixo custo e grandes ganhos em rendimentos e com sustentabilidade, diminuindo assim a nitrificação do solo. Uma estratégia viável que reduz tanto o uso de adubos inorgânicos e favorece a sustentabilidade na produção agrícola é o uso de bactérias que fazem a FBN, o processo acontece pela associação entre plantas e bactérias específicas que se fixam nas raízes e fazem a simbiose. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no CEDETEC do Centro Universitário Assis Gurgacz, Cascavel – PR, no mês de setembro de 2019. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos, sendo T1- testemunha, T2 – *Rhizobium spp.* e T3 – *Azospirillum spp.* T4 *Rhizobium spp.* e *Azospirillum spp.* Os parâmetros avaliados foram comprimento radicular, número de nódulos, peso de matéria seca e verde. Após as coletas desses dados os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk, análise de variância e as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat. A aplicação de inoculantes de forma isolada ou com co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* promoveu aumento no parâmetro comprimento da parte aérea nos tratamentos T2, T3 e T4. Porém houve um decréscimo na massa fresca da parte aérea e na massa seca da parte aérea, nos tratamentos T2, T3 e T4, demonstrando um efeito negativo com o uso destes produtos.

Palavras-chave: Fixação biológica; adubos inorgânicos; nitrificação do solo.

Bean culture co-inoculation (*Azospirillum spp.* and *Rhizobium spp.*).

Abstract: The use of bacteria in bean inoculation contributes to increased productivity and decreases the use of chemical fertilizers. The objective of this work will be to evaluate the response of biological nitrogen fixation (BNF) in a process that has low cost and large yield gains. and sustainably, thereby reducing soil nitrification. A viable strategy that reduces both the use of inorganic fertilizers and favors sustainability in agricultural production is the use of bacteria that make BNF, the process happens by the association between plants and specific bacteria that attach to the roots and make symbiosis. The experiment will be conducted in a greenhouse at CEDETEC of Centro Universitário Assis Gurgacz, Cascavel - PR, in September 2019. The experimental design will be completely randomized (DIC), with three treatments, T1-control, T2 - *Rhizobium. spp.* and T3 - *Azospirillum spp.* T4 *Rhizobium spp.* and *Azospirillum spp.* The evaluated parameters will be root length, number of nodules, weight of dry matter and green. After collecting these data the results will be submitted to Shapiro Wilk normality test, analysis of variance and means compared with Tukey test at 5% probability, using the Assistat program. The application of inoculants alone or with co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici* promoted increase in the shoot length parameter in treatments T2, T3 and T4. However, there was a decrease in shoot fresh weight and shoot dry mass, in treatments T3, T4 and T5, demonstrating a negative effect with the use of these products.

Keywords: Biological fixation; inorganic fertilizers; nitrification.

Introdução

O uso de bactérias na inoculação do feijoeiro contribui para o aumento de produtividade e diminui o uso de fertilizantes químicos, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo que tem baixo custo e grandes ganhos em rendimentos e com sustentabilidade, diminuindo assim a nitrificação do solo. Portanto se mostra uma grande estratégia que concilia produtividade, sustentabilidade com pouco investimento. Para Gilabel (2018), as pesquisas nesta área buscam diminuir o uso de fertilizantes químicos que degradam o meio ambiente e acabam por fim não contribuindo para o desenvolvimento do cultivar, deste modo cresce o estudo de utilização destas bactérias para aumentar a produtividade, baixo custo e com sustentabilidade.

A pesquisa foi desenvolvida no cultivar feijão, pensando no alto consumo do mesmo no nosso país e por ser um cereal rico em diversos nutrientes de acordo com a SEAB (2017), o feijão é um cereal muito consumido devido seus teores de proteínas vegetal, fibras, carboidratos, vitaminas, é o prato principal na mesa da população de baixa renda dos países subdesenvolvidos. Dessa forma Souza (2015), ressalta que o Brasil é um dos maiores produtores mundiais do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), e este é consumido em grande quantidade pelos brasileiros, portanto há um grande aumento nas áreas cultivadas de feijão tanto no nível brasileiro e nível mundial. Souza acrescenta ainda que na safra 2014/15 a produção de feijão do Estado de Goiás, levou ele à quinta posição no ranking nacional e ao primeiro lugar em produtividade por hectare. Conab, (2015) destaca que há um grande aumento da produção do feijoeiro, mas muitas vezes a produção sai caro devido ao uso de fertilizantes nitrogenados. Gilabel (2018) coloca que o uso destes fertilizantes, possuem baixa eficiência, risco ambiental, alto gasto de fontes energéticas e elevado custo.

Uma estratégia viável que reduz tanto o uso de adubos inorgânicos e favorece a sustentabilidade na produção agrícola é o uso de bactérias que fazem a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Okada (2005) destaca que o processo FBN, acontece pela associação entre plantas e bactérias específicas que se fixam nas raízes e fazem a simbiose. Portanto durante o processo a planta e a bactéria se beneficiam, a planta consegue o nitrogênio atmosférico (N₂) e a bactéria recebe os fotoassimilados (Sampaio 2013). Como destaca a EMBRAPA (2014), após o processo da simbiose a bactéria trabalha para a planta, para extrair o nitrogênio e em troca está mesma recebe as fotos assimilados.

Porém Matoso (2014), destaca que existe alguns fatores que intervêm na FBN do feijoeiro estão ligadas as características intrínsecas à planta e ao rizóbio. Sendo aspectos

importantes o ciclo da cultura e o tempo de resposta à nodulação. Portanto, quando é evidenciada o fato de que feijoeiros silvestres possuem maior nodulação do que os domesticados, percebe-se que parte dos problemas pertinentes à FBN está relacionado ao processo de domesticação e seleção de cultivares, no qual acabam idealizando o aspecto comercial descuidando das características da nodulação.

Sendo assim as pesquisas realizadas nesta área comprovaram que o uso da FBN contribui para a cultura do feijão, diminuindo o uso de fertilizantes químicos e contribuindo com o meio ambiente. Deste modo esta pesquisa foi desenvolvida para testar os benefícios da FBN no cultivar feijão, avaliando assim o efeito de inoculantes bacterianos *Azospirillum spp.* e *Rhizobium spp.* Sobre parâmetros produtivos do feijão.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação no CEDETEC, localizado no Centro Universitário Assis Gurgacz - Cascavel (PR), durante o mês de setembro de 2019.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e dez repetições, totalizando 40 parcelas. Os tratamentos foram T1 testemunha; T2 *Rhizobium spp.* T3 *Azospirillum* T4: - *Azospirillum spp.* e *Rhizobium spp.* Cada parcela foi composta por um vaso, com seis sementes.

A cultivar utilizada para semeadura foi feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* Pinto Group), semeada em vasos com solo fértil preparado e homogeneizado, este solo foi misturado com substrato (na proporção 50/50). Os vasos foram irrigados por gotejamento e permaneceram na casa de vegetação por um período de 30 dias.

Os vasos utilizados para a semeadura foram descartáveis com capacidade para 12 L cada. A semeadura foi realizada no início do mês de setembro, de forma manual e após a emergência das plantas foi feito o raleio das plantas, deixando apenas as quatro melhores.

O monitoramento, desenvolvimento e controle de pragas e doenças da cultura, foram realizados durante o ciclo da cultura após o plantio, foram feitas aplicações de defensivos agrícolas, de acordo com recomendações desta cultura feita pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR), sendo também controlada a necessidade hídrica da cultura, mantendo o solo em capacidade de campo, para um bom desenvolvimento da cultura.

No fechamento do ciclo da cultura, foram realizadas as avaliações dos parâmetros: comprimento do sistema radicular, comprimento da parte aérea, massa da matéria fresca e seca do sistema radicular e parte aérea.

Para coletar os dados de comprimento do sistema radicular e tamanho da parte aérea, foi utilizada uma escala graduada em centímetros.

Para determinação da massa fresca e massa seca do sistema radicular e da parte aérea, foram realizadas a separação da parte aérea e da raiz, desta maneira todas as raízes de cada tratamento e suas repetições foram acondicionadas em sacos de papel, sendo feito a pesagem das raízes fresca em balança analítica de precisão, anotados seus respectivos pesos nos próprios sacos de papel, estes sacos de papel foram colocados em estufas com circulação forçada, durante 72 horas para secagem das raízes. Após este período foram pesados todos os sacos de papel em balança analítica de precisão para determinação da massa seca das raízes.

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk, análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2016).

Resultados e Discussão

A análise da variância para os fatores avaliados nos tratamentos realizados, por meio de diferentes fontes de inoculantes demonstrou que os mesmos afetaram de maneira significativa ($p < 0,005$) a variável comprimento da parte aérea. As variáveis massa fresca da parte aérea e massa seca da parte aérea foram influenciadas significativamente ($p < 0,001$). No entanto as variáveis comprimento da raiz, massa fresca da raiz e massa seca da raiz não foram influenciadas significativamente, conforme dados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resumo da Análise de Variância (ANOVA), para os diferentes tratamentos de inoculantes avaliando: Comprimento Raiz; comprimento da parte aérea, massa fresca da raiz, massa seca da raiz, massa fresca parte aérea e massa seca parte aérea na cultura do feijão.

Tratamentos	Comp. Raiz	Comp. Parte Aérea	Massa Fresca Raiz	Massa Seca Raiz	Massa Fresca Parte Aérea	Massa Seca Parte Aérea
	cm	cm	g	g	g	g
T1 – Testemunha	36,20 a	14,60 b	51,20 a	2,20 a	75,00 a	5,60 a
T2 – Rhizobium spp.	35,56 a	14,64 b	52,50 a	2,20 a	64,40 ab	4,20 ab
T3 – Azospirillum spp.	33,62 a	13,38 a	41,10 a	2,20 a	54,40 b	3,40 b
T4 – Rhizobium + Azospirillum spp	34,64 a	11,84 a	41,30 a	2,20 a	54,20 b	3,40 b
Valor de F	1,729 ns	2,9177*	2,5969 ns	1,0270 ns	5,47**	4,79**
CV %	7,67%	17,95%	26,03%	60,40%	21,56%	36,10%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância, * Significativo a 5% pelo teste de Tukey ** Significativo a 1% pelo teste de Tukey. CV= coeficiente de variação. D.M.S. = diferença mínima significativa.

Observa-se no parâmetro comprimento de raiz que os diferentes tratamentos não foram significativos para este parâmetro. Na avaliação observa-se que a maior média foi obtida pelo tratamento testemunha, o que demonstra que os diferentes inoculantes usados de maneira isolada ou em co-inoculação não foram significativas no aumento do comprimento da raiz do feijoeiro.

Este resultado diverge do obtido por Gerola *et al.* (2015), avaliando os efeitos da co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos sobre o crescimento de plantas de feijão, cultivadas em ambiente protegido, observaram que a co-inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* influenciou de forma significativa o comprimento e o volume de raiz de plantas de feijão cv. Perola. Os autores ressaltam que em plantas co-inoculadas houve um incremento de 55,26% no comprimento de raiz e de 35,13% no volume de raiz em relação ao tratamento testemunha sem a adição de inoculantes. Nesse mesmo sentido, German *et al.* (2000), observaram no tratamento inoculando *Azospirillum* spp, o maior desenvolvimento do sistema radicular do feijoeiro, em que o aumento obtido foi 95% superior ao tratamento testemunha.

De acordo com Hungria (2011) o maior desenvolvimento das raízes pela inoculação possibilita incrementos na absorção de água e minerais, assim como promove uma maior tolerância a estresses como salinidade e seca, o que por consequência resulta em plantas mais vigorosas e produtivas.

O comprimento da parte aérea foi influenciado negativamente pelos tratamentos testados, as maiores médias foram obtidas pelos tratamentos T1 – Testemunha e T2 – *Rhizobium* spp, com médias de 14,60 e 14,64 cm respectivamente. A menor média para o parâmetro foi obtida pelo tratamento T4 – *Rhizobium* + *Azospirillum* (co-inoculação).

A produção de massa fresca da raiz não foi influenciada pelos diferentes tratamentos com inoculantes. Estes resultados podem ser explicados pelas altas temperaturas (média 45°) que ocorreram no interior da casa de vegetação, que fez com que as plantas passassem pelo estresse de altas temperaturas inibindo o crescimento da planta.

O parâmetro massa seca da raiz não sofreu influência negativa dos tratamentos com inoculantes. Em análise realizada de maneira separada das médias obtidas verificou-se que o tratamento T2 - *Rhizobium* spp, com média de 52,50 gramas. Enquanto a menor média foi

apresentada pelo T3 – *Azospirillum*. Estes resultados vão de encontro aos obtidos por Frigo (2013) que em seus estudos com feijão-caupi, não observou diferença significativa entre plantas sem inoculação e plantas inoculadas com diferentes estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio.

A massa fresca da parte aérea foi influenciada negativamente pelos tratamentos com inoculantes, no entanto a maior média foi obtida pelo tratamento testemunha, sem a utilização de qualquer inoculante. A menor média foi apresentada pelo T2 - *Rhizobium* spp. Este resultado pode ser explicado pelo estresse de altas temperaturas que ocorreram no interior da casa de vegetação, havendo um estresse na planta. De acordo com Zafar *et al.* (2012), os autores ressaltam que o efeito da inoculação com *A. brasiliense*, é ligado as alterações fisiológicas geradas nas plantas em razão da liberação de hormônios como auxinas e citocininas por meio do aumento do crescimento radicular e assim a planta pode absorver mais água e nutrientes, desta maneira, estes microrganismos são chamados de bactérias que promovem o crescimento de plantas.

A produção de massa seca da parte aérea foi influenciada significativamente pelos tratamentos realizados, no entanto, a maior média do parâmetro avaliado foi obtido pelo tratamento testemunha sem a adição de inoculantes. Estes resultados divergem dos resultados obtidos por Gerola *et al.* (2015), que observaram em seus resultados que o parâmetro massa seca da parte aérea aumentou na ordem de 76,12% no tratamento co-inoculado com *Azospirillum* *brasiliense* e *Rhizobium* em relação ao tratamento controle (sem co-inoculação e sem N). Os autores enfatizaram os efeitos benéficos da co-inoculação de bactérias simbióticas na assimilação do nitrogênio.

Conclusão

A aplicação de inoculantes de forma isolada ou com co-inoculação de *Azospirillum brasiliense* e *Rhizobium tropici* promoveu aumento no parâmetro comprimento da parte aérea nos tratamentos T2, T3 e T4. Porém houve um decréscimo na massa fresca da parte aérea e na massa seca da parte aérea, nos tratamentos T2, T3 e T4, demonstrando um efeito negativo com o uso destes produtos.

Referências

CONAB -COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira:** grãos, nono levantamento, junho, 2015. Brasília. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_06_11_09_00_38_boletim_graos_junho_2015.pdf> Acesso em 14 jun. 2019.

EMBRAPA -EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Catálogo de cultivares de feijão comum: 2014-2015**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2014. 20 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1011166/catalogo-de-cultivares-de-feijao-comum-2014-2015>> Acesso em: 20 jun. 2019.

FRIGO, G.R. **Feijão-caupi submetido à inoculação com rizóbio e cultivado em Latossolo do cerrado Mato-Grossense**. Dissertação (Mestrado em Engenharia agrícola). 69f. Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT, Rondonópolis, 2013.

GERMAN, M. A.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; KIGEL, J. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v. 32, n. 3, p. 259-264, 2000.

GEROLA, J. G; ARAÚJO, E. O; ROCHA, J. R; MATTE, L. C; MIELKE, K. C. Coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas sobre o crescimento de plantas de feijão. **Anais XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. Natal, Agosto, 2015. Disponível em: <<https://www.sbcs.org.br/cbcs2015/arearestrita/arquivos/390.pdf>> Acesso em: 10 out. 2019.

GILABEL, A. P. **Co-inoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* e adubação nitrogenada na cultura do feijão comum**. Tese de Mestrado. UNESP. Botucatu, 2018, 87f. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/152913/gilabel_ap_me_botfca.pdf?sequence=4> Acesso em: 10 jun. 2019.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, M.; KNIPHOFF, A. F.; ARAUJO, R. S. Inoculação do trigo (*Triticum aestivum*) com *Azospirillum brasilense*: eficiência agrônômica de inoculantes líquidos e turfosos. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 4, 2011, Cascavel. **Anais...**Cascavel: Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola, 2011.

MATOSO, S.C.G.; KUSDRA, J.F. Nodulação e crescimento do feijoeiro-comum em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.18, p.567-573, 2014.

OKADA, N.; NOMURA, N.; NAKAJIMA-KAMBE, T.; UCHIYAMA, H. Characterization of the aerobic denitrification in *Mesorhizobium* sp. Strain NH-14 in comparison with that in related rhizobia. **Microbes Environment**, v. 20, n. 4, p. 208-215, 2005.

SAMPAIO, FERNANDA BUENO. Isolados de rizóbios capturados por genótipos silvestres de feijoeiro: obtenção, morfologia e uso de fontes de carbono. 28/02/2013. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/3023>. Acesso em novembro de 2019.

SEAB. **Feijão** - Análise da Conjuntura Agropecuária. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/_feijao_2017_18.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2019.

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. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

ZAFAR, M.; ABBASI, M. K.; KHAN, M. A.; KHALIQ, A.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth, Nodulation and Nutrient Accumulation of Lentil Under Controlled Conditions. ***Pedosphere***, v. 22, n. 6, p. 848-859, 2012.