

Influência da inoculação de *Azospirillum brasiliensis* e *Rhizobium tropici* na germinação de sementes de feijão em diferentes temperaturas

João Vitor dos Santos^{1*}; Jéssica Patrícia Borges da Silva¹

¹ Curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná.

^{1*} joaovitor9823@outlook.com

Resumo: O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é uma das principais culturas cultivadas no Brasil e do mundo por sua importância na segurança alimentar e humana. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da inoculação no feijão comum com *Azospirillum brasilensis* e *Rhizobium tropici*, na germinação e desenvolvimento de plântulas em diferentes temperaturas. O experimento foi realizado no laboratório de sementes localizado no Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG), situado na cidade de Cascavel-PR, durante o período de agosto a setembro de 2020. O delineamento experimental utilizado é inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4x2 com cinco repetições, sendo (sem inoculação, inoculação com *Azospirillum brasiliensis*, inoculação com *Rhizobium tropici* e inoculação mista com *Azospirillum brasiliensis* + *Rhizobium tropici*) e temperaturas de germinação (20 e 30 °C). Os parâmetros avaliados foram porcentagem de germinação, número de plântulas normais, comprimento radicular e aéreo e massa seca. Os quais foram submetidos a análise de variância (ANOVA), onde o uso de inoculação e inoculação mista, resultou significativamente, para o comprimento radicular e aéreo, massa seca (g) e o número plântulas normais, em temperaturas elevadas, comparado à testemunha, e quanto à temperatura, os tratamentos a 20°C, permitiu um maior desempenho, das variáveis avaliadas, comparado a 30°C, para germinação e desenvolvimento inicial da plântula. Concluindo que a germinação não é influenciada pelo tipo de inoculante ou temperatura. As plântulas de feijão têm incremento de sua massa seca e comprimento de raízes com inoculação de *Azospirillum brasiliensis* a 30 °C, enquanto a 20 °C o comprimento de parte aérea apresentou maior desenvolvimento.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L; fixação biológica; inoculante.

Influence of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasiliensis* inoculation at different temperatures on bean seed germination

Abstract: The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the main crops cultivated in Brazil and the world because of its importance in food and human security. The objective of this work was to verify the influence of inoculation in the common bean with *Azospirillum brasilensis* and *Rhizobium tropici*, in the germination and development of seedlings at different temperatures. The experiment was carried out in the seed laboratory located in the Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG), located in the city of Cascavel-PR, during the period from August to September 2020. The experimental design used is entirely randomized (DIC), in a 4x2 factorial scheme with five repetitions, being (without inoculation, inoculation with *Azospirillum brasiliensis*, inoculation with *Rhizobium tropici* and mixed inoculation with *Azospirillum brasiliensis* + *Rhizobium tropici*) and germination temperatures (20 and 30 °C). The parameters evaluated were germination percentage, number of normal seedlings, root and air length and dry mass. These were submitted to analysis of variance (ANOVA), where the use of inoculation and mixed inoculation resulted significantly, for root length and airborne, dry mass (g) and the number of normal seedlings, at high temperatures, compared to the witness, and for temperature, treatments at 20 °C, allowed a higher performance, of the evaluated variables, compared to 30 °C, for germination and initial development of the seedling. Concluding that germination is not influenced by the type of inoculant or temperature. Bean seedlings have increased their dry mass and root length with inoculation of *Azospirillum brasiliensis* at 30 °C, while at 20 °C the length of the aerial part showed greater development.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L; biological fixation; inoculant.

Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a leguminosa mais importante do gênero *Phaseolus* por ser a espécie cultivada mais antiga e utilizada na alimentação. Esta cultura apresenta grande importância no agronegócio brasileiro, devido à condição de adaptação edafoclimática, possibilitando o seu cultivo em todo o território nacional, ocorrendo até três safras ao ano, sendo essas denominadas de safra “das águas”, “da seca” e “de outono/inverno” (CARNEIRO *et al.*, 2015).

No Brasil, o cultivo do feijão tomou grandes proporções de áreas cultivadas, porém nos últimos anos tem ocorrido uma diminuição, visto que, em algumas regiões há uma concorrência direta com a soja e milho e relação com os riscos sanitários e de produção, desta forma têm-se buscado o desenvolvimento de novas cultivares resistente a pragas e doenças, mais produtivas, adaptadas a colheita mecânica e ao estresse hídrico para minimizar os problemas com redução de área (CONAB, 2016). Contudo o Brasil segue sendo um dos três maiores produtores do grão do mundo, disputando posições com Myanmar e Índia, produção esta que contribui para o maior consumo dessa leguminosa, sendo este, o principal alimento da população brasileira, por ser um alimento com segurança alimentar e nutricional entre os consumidores de baixa renda, reduzindo o risco de doença cardiovascular e diabetes, de forma que, toda a produção é destinada para o mercado interno, tendo o feijão grande importância econômica e social, em virtude de ser amplamente cultivado e pela alta geração de emprego durante o ciclo da cultura (SEAB, 2018).

Para o desenvolvimento do feijoeiro é necessário uma demanda hídrica adequada, devido a sua alta sensibilidade à deficiência deste recurso, sendo este um dos principais fatores que limitam a produtividade da cultura, esse estresse abiótico é bem visível, ao comparar o cultivo em sistema de sequeiro com o irrigado (HEINEMANN *et al.*, 2017). Devido ao pouco desenvolvimento do sistema radicular, a limitação hídrica para a cultura, interfere em qualquer período fenológico da planta, afetando seu desenvolvimento e possivelmente sua produção e, por ser uma cultura de aspecto edafoclimática, a necessidade hídrica requerida pela cultura pode ser variável conforme a região, época de semeadura e variedade (CARNEIRO *et al.*, 2015).

No entanto, o cultivo do feijão, para obter altos rendimentos, demanda o uso de fertilizantes nitrogenados, os quais, apesar de terem uma assimilação mais rápida pela planta, raramente a planta utilizara mais que 50% do nitrogênio disponível para cultura, sendo, tanto na sua produção ou quanto ao seu uso é prejudicial para o meio ambiente e tendo um elevado custo para a cultura (PERES *et al.*, 2016).

De acordo com EMBRAPA (2014), a utilização de tecnologias, de coinoculação ou inoculação mista, como usadas em outras culturas, possibilitam uma redução no uso de fertilizantes nitrogenados, assim reduzindo custos e danos ao ambiente, e proporcionam uma melhor possibilidade de resposta a estresses ambientais, sem afetar a produtividade.

A coinoculação ou inoculação mista consistem na combinação de duas bactérias simbióticas e assimbióticas associadas à planta, sendo que as bactérias do gênero *Rhizobium*, proporcionam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) suprindo as necessidades de nitrogênio da planta e as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, favorecem a sintetização de fitormônios, promotores de crescimento vegetal, agindo principalmente no sistema radicular, assim ampliando a exploração do perfil de solo e aumentando a população de nódulos intensamente (HUNGRIA *et al.*, 2013; PRANDO *et al.*, 2019).

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência da inoculação no feijão comum com *Azospirillum brasilensis* e *Rhizobium tropici*, na germinação e desenvolvimento de plântulas em diferentes temperaturas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de sementes localizado no Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG), situado na cidade de Cascavel-PR, no período de agosto a setembro de 2020.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com o esquema fatorial 4x2, com cinco repetições, totalizando 40 unidades experimentais, referentes às inoculações (sem inoculação, inoculação com *Azospirillum brasiliensis*, inoculação com *Rhizobium tropici* e inoculação mista com *Azospirillum brasiliensis* + *Rhizobium tropici*) e temperaturas de germinação (20 e 30 °C).

No processo para a inoculação, foram utilizados produtos comerciais com a composição de bactérias de *Azospirillum brasilense*, estirpes ABV5 e ABV6 e *Rhizobium tropici*, SEMIA 4077, sendo ambos de natureza física líquida, aplicados via semente, seguindo a dosagem do fabricante de 150 mL para 50 kg de semente. Para a aplicação dos inoculantes na semente, foi calculado o proporcional para 100 g de sementes de feijão comum da variedade IPR Urutau. Após a pesagem em balança analítica, as sementes foram acondicionadas em uma embalagem plástica e misturadas aos produtos, previamente dosados com auxílio de seringas descartáveis, conforme descrição dos tratamentos. Os ensaios foram montados com papel germinativo umedecidos com volume em mililitros de água destilada correspondente a 2,6 vezes o peso do papel, conforme recomendação das Regras para

Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Após umedecidas as folhas de papel germinativo, foram montados os rolos de germinação, compostos por duas folhas na base, sobre as quais foram distribuídas 50 sementes de feijão já inoculadas, recobertas por mais uma folha de papel germinativo, os quais foram acondicionados em embalagem plásticas previamente identificadas com o respectivo tratamento e repetição. Em seguida, os rolos de germinação foram acomodados, aleatoriamente, em câmara de germinação do tipo BOD, reguladas com temperatura de 20 e 30 °C e fotoperíodo de 24 horas durante nove dias.

A porcentagem de germinação foi obtida através da contagem do número de sementes germinadas. Em seguida, foram realizadas as medições do comprimento da radícula e parte aérea das plântulas normais, utilizando uma régua milimetrada, considerando somente as sementes que apresentarem radícula igual ou superior a dois milímetros (BRASIL, 2009). Após as medições, retirou os cotilédones das plântulas de cada uma das unidades experimentais, acondicionando-as em papel identificados com tratamento e repetição para secagem em estufa a 50 °C por um período de 24 horas e posterior pesagem em balança analítica de precisão para obtenção da massa seca das plântulas normais.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativas às médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, através do programa SISVAR (FERREIRA, 2019).

Resultados e Discussão

As médias dos resultados dos parâmetros de percentual de germinação, número de plântulas normais e massa seca estão apresentados na Tabela 1.

Comparando as médias, quanto à porcentagem de sementes germinadas, verificou-se que não houve resultados significativos quanto à interação entre temperatura e inoculação na germinação das sementes. A porcentagem de germinação de sementes não inoculadas a 30 °C foi estatisticamente inferior quando comparada à temperatura de 20 °C.

Damascena *et al.* (2018), ao realizem estudo para avaliar o efeito térmico sobre a germinação de sementes de feijão vagem, observaram que, conforme o aumento da temperatura houve um aumento da percentual de germinação até a temperatura de 25 °C, havendo a partir desta, um declínio no percentual de germinação do feijão-vagem, indicando que possa ocorre um processo de termoinibição que induz a dormência fisiológica, porém ao retornar na temperatura ideal ocorre germinação normalmente.

A inoculação não exerce influência no número de plântulas normais à temperatura de 20 °C enquanto à 30 °C, a inoculação combinada de *A. brasiliense* + *R. tropici* proporcionou

média estatisticamente superior as demais inoculações, sendo ainda, o tratamento sem inoculação estatisticamente inferior aos demais.

O aumento da temperatura de 20 °C para 30 °C reduz significativamente o número de plântulas normais em todos os tratamentos de inoculação, com exceção da combinação dos inoculantes *A. brasiliense* + *R. tropici*, não havendo diferença significativa.

Tabela 1 – Análise de variância dos parâmetros percentual de sementes germinadas, número de plântulas normais e massa seca (g) em relação à influência a inoculação de *Azospirillum brasiliense* e *Rhizobium tropici* no desenvolvimento de plântulas de feijão em diferentes temperaturas.

Tratamentos	Percentual de sementes germinadas		Nº de plântulas normais		Massa seca (g)	
	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C
T1– sem inoculação	100,0 Aa	97,6 Ba	48,4 Aa	23,6 Bc	2,3 Aa	1,4 Bc
T2 – <i>Azospirillum brasiliense</i>	100,0 Aa	99,2 Aa	49,6 Aa	37,8 Bb	2,1 Aa	2,4 Aab
T3 – <i>Rhizobium tropici</i>	100,0 Aa	100,0 Aa	49,4 Aa	35,0 Bb	1,6 Aa	1,7 Abc
T4 – <i>A. brasiliense</i> + <i>R. tropici</i>	99,5 Aa	99,6 Aa	49,8 Aa	48,8 Aa	2,2 Ba	2,8 Aa
CV (%)	1,42		10,33		22,77	
Temperatura (T)	**		**		**	
Inoculação (I)	ns	ns	ns	**	ns	**
Interação T x I	ns		**		**	
DMS	0,9255		2,8772		0,3054	

ns = não significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p>0,05$). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si; médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, ** - significativo a 5% de probabilidade ($p>0,05$). CV= Coeficiente de variação; dms = diferença mínima significativa. Fonte: autor, 2020.

A massa seca de plântulas não é influenciada pela ausência ou tipo de inoculante à 20 °C. O mesmo comportamento não é observado à 30 °C, sendo que a presença de *Azospirillum brasiliense* proporcionou às plântulas de feijão uma massa seca média estatisticamente superior aos demais inoculantes.

As plântulas sem inoculação desenvolvidas em temperatura de 30 °C tiveram uma redução significativa em sua massa seca se comparada com aquelas desenvolvidas à 20 °C, enquanto que as plântulas inoculadas apenas com um dos inoculantes não foram influenciadas pela temperatura. A inoculação combinada de *A. brasiliense* e *R. tropici* proporcionou uma massa seca estatisticamente superior à temperatura de 30 °C.

Hungria *et al.* (2013) e Aung *et al.* (2013), afirmam que os resultados superiores do uso da coinoculação aos demais tratamentos, são devido aos efeitos combinados que as duas bactérias proporcionam, aumentando o comprimento e massa das raízes de soja e feijão.

Tabela 2 – Análise de variância dos parâmetros comprimento da parte aérea (cm) e da raiz (cm) em relação à influência a inoculação de *Azospirillum brasiliense* e *Rhizobium tropici* no desenvolvimento de plântulas de feijão em diferentes temperaturas.

Tratamentos	Comprimento da parte aérea (cm)		Comprimento da raiz (cm)	
	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C
T1– sem inoculação	7,9 Aa	4,2 Ba	9,2 Aa	8,1 Ac
T2 – <i>Azospirillum brasiliensis</i>	8,0 Aa	4,6 Ba	10,9 Aa	11,7 Aab
T3 – <i>Rhizobium tropici</i>	6,0 Ab	4,1 Ba	9,9 Aa	10,9 Ab
T4 – <i>A. brasiliensis</i> + <i>R. tropici</i>	7,8 Aab	5,1 Ba	11,0 Ba	13,1 Aa
CV (%)	17,51		11,17	
Temperatura (T)	**		**	
Inoculação (I)	**	ns	ns	**
Interação T x I	**		**	
DMS	0,6851		0,7681	

ns = não significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p>0,05$). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si; médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, ** - significativo a 5% de probabilidade ($p>0,05$). CV= Coeficiente de variação; dms = diferença mínima significativa. Fonte: autor, 2020.

A inoculação de *Rhizobium tropici*, de forma isolada ou combinada à *Azospirillum brasiliensis*, proporcionou redução significativa no comprimento da parte aérea à 20 °C, enquanto que à 30 °C, à ausência ou presença de inoculantes, não houve diferença significativa. O aumento da temperatura de 20 °C para 30 °C reduziu significativamente o comprimento da parte aérea do feijão na ausência ou presença de inoculantes.

O comprimento médio da raiz das plântulas não foi influenciado pelas diferentes inoculações à 20 °C, bem como a ausência desta. Em contrapartida, à 30 °C, a utilização de *A. brasiliensis*, de forma isolada ou combinada à *R. tropici* acarretou em um comprimento médio da raiz estatisticamente superior à ausência ou inoculação isolada de *R. tropici*.

Apenas as plântulas com inoculação combinada de *A. brasiliensis* e *R. tropici* apresentaram diferença estatística na variação térmica, sendo que, à 30 °C notou-se maior crescimento da raiz. A variação de temperatura não exerceu influência no comprimento da raiz das plântulas sem inoculação ou inoculadas apenas um dos tipos de inoculantes.

Souza e Simonetti (2019), ao avaliarem em laboratório a inoculação e coinoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* na cultivar de feijão BRS FC 104, observaram resultados significativos para o comprimento aéreo de plântulas ao 9º dia após a germinação, comparando a testemunha aos tratamentos inoculados, sendo os quais foram superiores a testemunha.

Ao avaliar o desenvolvimento da plântula, nota-se que a uma influência significativa do uso da inoculação, sendo mais expressivo em algumas condições. Deste modo, o resultado obtido compactua com o afirmado, por Souza (2017), em que na avaliação do crescimento de feijão-caupi inoculado com rizóbios, verificou-se diferença significativa para a variável altura de plântula.

De modo, em que se obtiveram resultados significativos neste experimento, os quais se assemelham com os estudos de Dardanelli *et al.* (2008) que estudando a coinoculação em feijão com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* sob estresse salino em hidropônia, relataram efeitos positivos da coinoculação, perante o desenvolvimento radicular, fixação de nitrogênio, produção de flavonoides e efeitos causado por NaCl.

Conclusão

A germinação não é influenciada pelo tipo de inoculante ou temperatura. As plântulas de feijão têm incremento de sua massa seca e comprimento de raízes com inoculação de *Azospirillum brasiliensis* à 30 °C, enquanto à 20 °C o comprimento de parte aérea apresentou maior desenvolvimento.

Referências

AUNG, T.T.; TITTABUTR, P.; BOONKERD, N.; HERRIDGE, D.; TEAUMROONG, N. Coinoculation effects of Bradyrhizobium japonicum and Azospirillum sp. on competitive nodulation and rhizosphere eubacterial community structures of soybean under rhizobia-established soil conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 20, p. 2850-2862, 2013.

Brasil. Ministério da agricultura, pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da agricultura Pecuária e abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

CARNEIRO, J. E. S.; JÚNIOR, T. J. P.; BOREM, A. **Feijão do Plantio a Colheita**. Viçosa: UFV, 2015. 384 p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas de Diversificação e de Investimentos na Produção de Arroz – Trigo - Feijão**, 2016. Disponível também em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 04 maio. 2019.

DAMACENA, A. P., CORREIA, E. C. S. S., FERREIRA, J. C. A., SANTOS, M. E. G., SANTOS, D. S. Efeito do estresse térmico na germinação de sementes de feijão-vagem. In: VII JORNACITEC - JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 7, 2018, São Paulo. **Faculdade Tecnológica de Botucatu**.

DARDANELLI, M.S.; CÓRDOBA, F.J.F.; ESPUNY, M.R.; CARVAJAL, M.A.R.; DÍAZ, M.E.S.; SERRANO, A.M.G.; OKON, Y.; MEGÍAS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.40, n.11, p.2713-2721, 2008.

DI DOMENICO, G. H.; BORSOI, A.; RESENDE, J. D.; LIMA, P. R. Germinação de sementes de feijão IPR Sabiá inoculadas com *Rhizobium tropici*. **Cultivando o Saber**. Edição Especial, p. 122-128, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n.4, p. 529-535, 2019.

EMBRAPA. **Tecnologia de coinoculação: rizóbios e azospirillum em soja e feijoeiro**, 2014. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/101148/1/folder-coinoculacao-2-copy.pdf>>. Acesso em: 03 maio. 2020.

HEINEMANN, A. B.; STONE, L. F.; DIDONET, A. D.; SOUZA, T. L. P. O.; SILVA, S. C.; MORAES, A. C. **Deficit hídrico nas áreas de produção do feijão das águas e da seca em Goiás**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2017. 41 p.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and *Azospirilla*: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013.

PERES, A. R.; RODRIGUES, R. A. F.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; CORSINE, D. C. D. C. Co-inoculação de *rhizobium tropici* e *azospirillum brasiliense* em feijões comuns cultivados em duas profundidades de irrigação. **Revista Ceres**, v. 63, n. 2, p. 198-207, 2016.

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; HARGER, N.; CONTE, O. **Coinoculação de soja com *bradyrhizobium* e *azospirillum* na safra 2018/2019 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2019. 19 p.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Feijão – Analise da Conjuntura Agropecuária**, 2018. Disponível também em: < http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-09/feijao_2019_v1.pdf > . Acesso em: 04 maio. 2019.

SOUZA, D. A. **Germinação e desenvolvimento inicial de *vigna unguiculata* (L.) walp. inoculada com bactérias diazotróficas** 2017. Dissertação (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas Tecnologia em Agroecologia.

SOUZA, S. L. S.; SIMONETTI, A. P. M.; Inoculação e coinoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* na cultivar de feijão BRS FC 104. **Cultivando o Saber**, Edição especial, p. 14 - 23, 2019.

TONIN, J. S. **Influência da inoculação de *Azospirillum brasiliense* em diferentes temperaturas na germinação de semente de milho (*zea mays*)**. 2019. Disponível também em: <<https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/3484>> . Acesso em: 22 de julho de 2020.