



Eficiência de utilização do N por plantas de feijão em resposta a coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas ⁽¹⁾

Juliana Guimarães Gerola⁽²⁾; Érica de Oliveira Araújo⁽³⁾; Juan Ricardo Rocha⁽⁴⁾;
Leandro Cecílio Matte⁽⁵⁾ Kamila Cabral Mielke⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

^(2,4,6) Graduanda (o) em Agronomia; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste; Colorado do Oeste, Rondônia. ju_gerola@hotmail.com; juan_rocha4@hotmail.com; kamilamielke@hotmail.com. ^(3,5) Professor (a); Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste; Colorado do Oeste, Rondônia. erica.araujo@ifro.edu.br; leandro.matte@ifro.edu.br.

RESUMO: Embora as pesquisas envolvendo bactérias simbióticas e diazotróficas estejam crescendo nos últimos anos no Brasil, muito pouco se conhece sobre o efeito da coinoculação desses microrganismos junto com substâncias húmicas. Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos e nitrogênio sobre a eficiência de utilização de N por plantas de feijão. O experimento foi conduzido no Setor de Produção Vegetal do IFRO, Campus de Colorado do Oeste, RO. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos: 1) Controle; 2) Coinoculação; 3) 30 kg ha⁻¹ de N; 4) Coinoculação + Acido húmico; 5) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e 6) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Acido húmico. Na semeadura foram utilizadas sementes de feijão-comum cv. Pérola, sendo previamente inoculadas com produto contendo uma combinação de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* em inoculante com formulação líquida, e o inoculante contendo a estirpe *Rizhobium tropici*, em veículo à base de turfa. Os ácidos húmicos foram previamente dissolvido em água e aplicado diretamente sobre as sementes. Aos 30 DAE foram determinados os teores de N nas diferentes partes da planta, bem como, as eficiência de absorção, transporte e utilização de N pelas plantas de feijão. Os resultados permitiram concluir que a eficiência de utilização do N pelas de feijão foi superior quando coinoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rizhobium tropici*, comprovando que apenas a coinoculação já disponibiliza o N necessário para desenvolvimento das plantas.

Termos de indexação: *Phaseolus vulgaris* L.; Ácidos húmicos; Bactérias promotoras do crescimento.

INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) constitui a base alimentar da população de muitos países em desenvolvimento e é considerado um dos mais importantes constituintes da dieta da população brasileira por ser, reconhecidamente, uma excelente fonte proteica, de carboidratos e de ferro (Vieira et al., 2006). A produção mundial de feijão vem crescendo progressivamente desde os anos de 1960. O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial dessa leguminosa com produção em torno de 3,39 milhões de toneladas (Conab, 2015). Contudo, a produtividade média do feijoeiro no País é relativamente baixa, apenas 1071 kg ha⁻¹ na safra 2014/2015, considerando os cultivos de 1^a, 2^a e 3^a safras (Conab, 2015). Estes baixos rendimentos da cultura refletem o baixo nível tecnológico empregado pelos produtores, bem como o cultivo do feijoeiro em solos de baixa fertilidade, especialmente pobres em nitrogênio (N) (Pelegri et al., 2009).

Entre os fatores que mais contribuem na elevação do custo de produção das lavouras de feijão, destaca-se a utilização de fertilizantes minerais, principalmente, os nitrogenados, que são exigidos em maior quantidade pelas plantas (Straliotto et al., 2002). Dessa forma, existe um grande interesse em alternativas que visem à redução na aplicação de insumos nas áreas de produção agrícola, capazes de promover elevadas produtividades e manter a sustentabilidade ambiental, com foco na segurança alimentar.

A técnica de coinoculação com bactérias simbióticas e assimióticas tem sido estudadas em leguminosas. Essa técnica consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem efeito sinérgico, em que se superam os resultados produtivos obtidos quando utilizados na forma isolada (Bárbaro et al., 2008). Nos casos onde se tem utilizado *Azospirillum brasilense* em leguminosas, o efeito benéfico da associação com rizóbio se deve, na maior parte, a



capacidade que a bactéria tem de produzir fitormônios, que resulta em maior desenvolvimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo (Bárbaro et al., 2008). Na cultura do feijoeiro, tem sido verificado que a inoculação combinada de *Rhizobium* e *Azospirillum* pode aumentar a quantidade de N fixado e a produtividade de grãos de feijoeiro (Yadegari et al., 2010). No entanto, embora as pesquisas envolvendo essas bactérias estejam crescendo nos últimos anos no Brasil, muito pouco se conhece sobre o efeito da utilização desses microrganismos junto com substâncias húmicas.

Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos e nitrogênio sobre a eficiência de utilização de N por plantas de feijão, cultivadas em ambiente protegido.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Produção Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus de Colorado do Oeste, RO, no período de fevereiro a abril de 2015. O solo utilizado neste estudo, classificado como Argissolo Vermelho-amarelo de textura muito argilosa (Embrapa, 2013), foi coletado na profundidade de 0-20 cm. A análise química do solo foi realizada antes da instalação do experimento e resultou nos seguintes valores: M.O.: 10,00 g dm⁻³; pH (CaCl₂): 5,30; P: 1,10 mg dm⁻³; K: 0,14 cmolc dm⁻³; Ca: 5,56 cmolc dm⁻³; Mg 1,15 cmolc dm⁻³; Al: 0,0 cmolc dm⁻³; H+Al: 2,25 cmolc dm⁻³; SB: 6,90 cmolc dm⁻³; CTC: 9,10 cmolc dm⁻³, saturação por bases 75,30%. A análise granulométrica apresentou 199 g kg⁻¹ de areia, 166 g kg⁻¹ de silte e 635 g kg⁻¹ de argila.

A correção do solo e a adubação de base foram feitas de acordo com os resultados da análise química do solo. A adubação nitrogenada foi realizada na dose de 30 kg ha⁻¹ de N (0,03 g dm⁻³), na forma de ureia (45%), aplicados na semeadura.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos: 1) Controle; 2) Coinoculação; 3) 30 kg ha⁻¹ de N; 4) Coinoculação + Acido húmico; 5) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e 6) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Acido húmico.

As unidades experimentais foram compostas por vasos plásticos com capacidade de 6 dm³, preenchidos com solo seco ao ar. As sementes foram postas a germinar diretamente nos vasos, sendo, que aos oito DAE, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta em cada unidade

experimental. A umidade dos vasos foi controlada diariamente, visando manter o solo com 60% da capacidade de campo.

Na semeadura foram utilizadas sementes de feijão-comum cv. Pérola (grupo carioca), sendo previamente inoculadas com produto contendo estirpes de *Azospirillum brasilense*, em inoculante com formulação líquida, e o inoculante contendo a estirpe *Rhizobium tropici*, em veículo à base de turfa, produzido pela Empresa Total Biotecnologia. A dose aplicada foi de 150 mL para cada 50 kg de sementes de feijão para o inoculante com formulação líquida, e de 250 g para cada 10 kg de sementes de feijão do inoculante com veículo à base de turfa.

Os ácidos húmicos foram extraídos e cedidos pelo Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Norte Fluminense - UENF, estabelecido em Campos dos Goytacazes, RJ, sendo estes isolados de vermicomposto. O material foi previamente dissolvido em água, na proporção de 50 mg L⁻¹. A SH foi aplicada diretamente sobre as sementes, dentro de sacos plásticos, com uma pipeta volumétrica. Após a aplicação, os sacos plásticos foram fechados e agitados vigorosamente por dois minutos para uma distribuição homogênea do produto sobre as sementes.

Aos 30 DAE as plantas foram coletadas e divididas em raiz e parte aérea e, todo o material vegetal coletado foi lavado em água corrente, solução de HCl a 0,1 mol L⁻¹ e água deionizada. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, por 72 horas. Após a secagem, procedeu-se à pesagem e moagem da massa seca, sendo as amostras, submetidas à digestão sulfúrica, para determinação do teor de N nas diferentes partes da planta (raiz e parte aérea), de acordo com a metodologia descrita em Embrapa (2009). O índice de eficiência de absorção foi calculada de acordo com Swiader et al. (1994), enquanto que o índice de transporte e utilização do nitrogênio foi calculado de acordo com Siddiqi e Glass (1981).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias serão comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) dos tratamentos para teor de N na parte aérea, teor de N na raiz, teor de N na planta e eficiência de absorção e transporte de N (**Tabela 1**). A eficiência de utilização do N respondeu significativamente



($p < 0,05$) os tratamentos. Houve um aumento na eficiência de utilização do N pelas de feijão quando coinoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rizhobium tropici* em relação ao tratamento controle, e não diferindo dos demais tratamentos (**Tabela 1**). Observa-se que nos tratamentos com incremento de N a eficiência de utilização do N foi reduzida, o que permite inferir que apesar houve um menor aproveitamento pelas plantas do N aplicado via adubação. Assim, comprova que apenas a coinoculação já disponibiliza o N necessário para desenvolvimento das plantas, não sendo necessária adubação, o que faz ainda que o procedimento seja realizado com menores custos.

CONCLUSÕES

A eficiência de utilização do N pelas de feijão foi superior quando coinoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rizhobium tropici*, comprovando que apenas a coinoculação já disponibiliza o N necessário para desenvolvimento das plantas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e ao IFRO pela disponibilização de recursos e bolsa de estudo ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

BÁRBARO, I. M.; BRANCALIANO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade. [S. l.: s.n.], 2008. Disponível em: . Acesso em: 4 abril. 2015.

CONAB. 2015. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2014/2015**: Sétimo Levantamento, Abril/2015, Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília, CONAB, 105p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 Ed. rev. ampl.- Brasília, DF: Embrapa Solos, 2013. 353p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**.- 2. Ed, Brasília., Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

PELEGRIN, R. et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, n.3, p. 289-302, 1981.

STRALIOTTO, R. et al. Fixação biológica de nitrogênio. In: AIDAR, H. et al. (Ed.) **Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. p. 121-153.

SWIADER, J. M. CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v.17, n.10, p.1687-1699, 1994.

VIEIRA, C., JUNIOR, T., BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006, 600p.

YADEGARI, M. et al. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 33, n. 12, p. 1733-1743, 2010.



Tabela 1. Teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA), teor de nitrogênio na raiz (TNR), teor de nitrogênio na planta (TNPL), eficiência de absorção de nitrogênio (EAN), eficiência de transporte de nitrogênio (ETN) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) por plantas de feijão cv. Pérola em resposta a coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rizhobium tropici* e a aplicação de substância húmicas e nitrogênio. Colorado do Oeste, RO (2015).

Tratamentos	TNPA (g kg ⁻¹)	TNR (g kg ⁻¹)	TNPL (g kg ⁻¹)	EAN (mg g ⁻¹)	ETN (%)	EUN (mg g ⁻¹)
Controle	41,60	24,22	65,82	309,17	73,89	0,02 b
Coinoculação	45,25	24,62	79,70	627,27	85,58	0,07 a
30 kg ha ⁻¹ N	44,20	26,80	69,87	621,92	86,60	0,05 ab
Coinoculação + Ácido Húmico	48,46	26,63	75,10	346,49	91,07	0,03 ab
Coinoculação + 30 kg ha ⁻¹ N	45,73	27,35	73,08	484,54	91,08	0,03 ab
Coinoculação + 30 kg ha ⁻¹ N + Acido húmico	43,56	26,16	69,72	514,14	94,31	0,03 ab
Média	44,80	25,96	72,21	483,92	87,08	0,04
Teste F	0,11 ^{NS}	0,21 ^{NS}	0,08 ^{NS}	0,57 ^{NS}	0,48 ^{NS}	0,04*
CV (%)	7,05	7,63	5,79	61,80	17,09	20,01

* e ^{NS} – significativo a 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.