



Coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas sobre o crescimento de plantas de feijão⁽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⁾ Professora Temporária; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste; Colorado do Oeste, Rondônia. erica.araujo@igro.edu.br; ⁽⁵⁾ Professor Adjunto; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, Campus Colorado do Oeste, Rondônia. leandro.matte@ifro.edu.br.

RESUMO: O estudo de coinoculação bem como a utilização de substâncias húmicas torna-se de grande importância para obtenção de aumentos na nodulação, na Fixação Biológica de Nitrogênio e na produtividade do feijoeiro. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com ácidos húmicos sobre o crescimento de plantas de feijão, cultivadas em ambiente protegido. 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 + Ácido húmico; 5) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e 6) Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Ácido húmico. Na semeadura foram utilizadas sementes de feijão-comum cv. Pérola (grupo carioca), 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 *Rhizobium tropici*, em veículo à base de turfa. Os ácidos húmicos foram previamente dissolvidos em água, sendo pulverizados, nas plantas, 20 mL por vaso. Aos 30 dias após a emergência foi determinadas a altura de plantas, o diâmetro do colmo, o comprimento de raiz, o volume de raiz, a massa seca de raiz e parte aérea. Os resultados permitiram concluir que a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* promoveu aumento na altura de plantas, diâmetro do caule, comprimento e volume radicular. A produção de massa seca da parte aérea aumentou na ordem de 76,12% com a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*.

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

INTRODUÇÃO

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. Uma alternativa para a redução da necessidade de fertilizantes nitrogenados é a fixação biológica de nitrogênio, que é realizada por um grupo restrito de bactérias denominadas diazotróficas (Reis, 2007).

Atualmente, o inoculante comercial para o feijoeiro no Brasil é produzido com uma espécie de rizóbio adaptada aos solos tropicais, o *Rhizobium tropici* (Straliotto, 2002), que consegue fixar de 20 a 30% do nitrogênio que a planta necessita através da fixação biológica (Malavolta, 1987) podendo contribuir com 20 a 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (Fancelli; Dourado Neto, 2007). Além dos rizóbios específicos para as leguminosas, existem outros microrganismos que podem trazer grandes benefícios às culturas. Um dos grupos mais promissores é representado por bactérias associativas capazes de promover o crescimento das plantas por meio de vários processos, como a produção de hormônios de crescimento e a capacidade de realizar fixação biológica do nitrogênio, entre outros. Dentre essas bactérias destacam-se as pertencentes ao gênero *Azospirillum* (Hungria; Nogueira, 2013). Neste cenário, uma técnica alternativa de coinoculação ou também denominada de inoculação mista com bactérias simbióticas e assimbióticas têm sido estudadas em leguminosas.

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 (SH).

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 o crescimento de plantas de feijão, cultivado 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, cujas coordenadas geográficas são 13° 06' S e 60° 29' W, com altitude média de 407 metros. O clima segundo a classificação de Köppen é do tipo Awa. 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 cmmolc 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 sementeira.

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

Na sementeira 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.

As sementes foram postas a germinar diretamente nos vasos, sendo, que aos oito dias após a emergência, realizou-se o desbaste deixando apenas uma planta em cada unidade experimental.

Os ácidos húmicos foram extraídos e cedidos pelo Laboratório de Biotecnologia da UENF, RJ, sendo estes isolados de vermicomposto. O material foi previamente dissolvido em água, na proporção de 13,5 mg L⁻¹, sendo pulverizados, nas plantas, 20 mL por vaso desta solução.

Aos 30 dias após a emergência foram determinadas a altura de plantas e o diâmetro do colmo, comprimento de raiz e volume de raiz.

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

A altura de plantas de feijão cv. Pérola apresentou os maiores valores no tratamento correspondente à coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Acido húmico, sendo superior ao controle (sem coinoculação e sem N) e similar aos demais tratamentos avaliados (**Tabela 1**). Os valores variaram de 22 cm (controle) a uma média de 41,16 cm (Coinoculação, Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Acido húmico), com acréscimos em relação ao controle de 87,09% (**Tabela 1**). Esse incremento na altura de plantas observado neste estudo está associado ao alongamento do caule promovido pelo N em associação com a coinoculação.

O diâmetro do caule foi superior no tratamento coinoculado com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, diferindo estatisticamente (p<0,05) somente do tratamento controle (**Tabela 1**). Cabe salientar que maior diâmetro do caule está diretamente relacionado com o aumento da produção, uma vez que atua no armazenamento de sólidos solúveis que serão utilizados posteriormente para a formação dos grãos (Fancelli; Dourado Neto, 2008).

A coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* influenciou o comprimento e o volume de raiz de plantas de feijão cv. Perola (**Tabela 1**). Plantas coinoculadas apresentaram incremento na ordem de 55,26% no comprimento de raiz e de 35,13% no volume de raiz em relação ao



controle não inoculado, no entanto, não diferiram estatisticamente do tratamento Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N e Coinoculação + 30 kg ha⁻¹ N + Acido húmico. Esse efeito de aumento no comprimento e no volume radicular se deve à produção de auxinas pelas bactérias, que estimula o crescimento das raízes secundárias, aumentando assim a área específica de absorção de água e nutrientes pelas plantas (Radwan et al., 2004). Resultados concordantes foram evidenciados por Gitti et al. (2012) verificaram aumento do sistema radicular e maior número de nódulos fixadores de nitrogênio atmosférico em feijão comum quando coinoculados com *Azospirillum brasilense* e estirpe de *Rhizobium*.

A produção de massa seca da parte aérea aumentou na ordem de 76,12% no tratamento coinoculado com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium* em relação ao tratamento controle (sem coinoculação e sem N), ficando evidente os efeitos benéficos da coinoculação de bactéria simbióticas e associativas na assimilação de nitrogênio pelas plantas de feijão.

É importante salientar, com bases nos resultados já apresentados, que a maioria dos tratamentos com coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, apresentaram resultados similares aos tratamentos coinoculados acrescidos de ácidos húmicos e aqueles coinoculados acrescidos de 30 kg ha⁻¹ de N para altura de plantas, diâmetro do caule, comprimento e volume radicular (**Tabela 1**), o que permite sugerir que apenas a coinoculação das plantas de feijão é capaz de fornecer o nitrogênio necessário para o desenvolvimento da cultura, proporcionando uma redução no uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos, e conseqüentemente redução nos custos de produção.

CONCLUSÕES

1. A coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* promoveu aumento na altura de plantas, diâmetro do caule, comprimento e volume radicular.
2. A produção de massa seca da parte aérea aumentou na ordem de 76,12% com a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

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.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. 2. ed. Piracicaba: Livroceres, 2007. 386 p.

GITTI, D. C.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; RODRIGUES, F. R. A.; BUZZETTI, S.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C. Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Revista Agrarian**, Dourados, v.5, n.15, p.36- 46, 2012.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; MERCANTE, F. M. Tecnologia de fixação biológica de nitrogênio com feijoeiro: viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 32 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.

RADWAN, T. E. S. E. D.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.10, p.987-994, 2004.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Soropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p. (Documentos, 232).

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.

Tabela 1. Altura de plantas (ALT), diâmetro do caule (DIA), comprimento de raiz (CR), volume radicular (VR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de 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	ALT	DIA	CR	VR	MSPA	MSR
	(cm)	(mm)	(cm)	(cm ³ /planta)	g	
1. Controle	22,00 b	2,71 b	19,00 b	6,66 b	1,55 b	0,28
2. Coinoculação	42,00 a	4,10 a	29,50 a	9,00 a	2,73 a	0,32
3. 30 kg ha ⁻¹ N	34,16 ab	3,75 ab	27,50 ab	8,33 ab	2,06 ab	0,38
4. Coinoculação + Ácido Humico	36,76 ab	3,34 ab	20,76 b	7,99 ab	1,48 b	0,29
5. Coinoculação + 30 kg ha ⁻¹ N	40,23 a	3,37 ab	23,33 ab	8,66 ab	1,31 b	0,23
6. Coinoculação + 30 kg ha ⁻¹ N + Acido húmico	41,26 a	3,20 ab	23,00 ab	8,00 ab	1,31 b	0,25
Média	36,06	3,41	23,84	8,10	1,74	0,29
Teste F	0,00*	0,01*	0,03*	0,03*	0,04*	0,05 ^{NS}
CV (%)	18,47	13,85	10,82	38,82	61,08	69,00

* 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.