AVALIAÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM ERVILHA-FORRAGEIRA (*PISUM SATIVUM L.*) PARA COBERTURA E ADUBAÇÃO VERDE DO SOLO

Breno Augusto Moraes (PIBIC/CNPq), Rafael Mazer Etto (Orientador), e-mail: mazeretto@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Bioquímica, Bioquímica dos Microrganismos.

Palavras-chave: Bactérias promotoras do crescimento vegetal, Inoculantes, Biotecnologia.

Resumo

A rotação de culturas e a cobertura do solo com palhada de qualidade são essenciais para o sucesso do sistema plantio direto. Um estudo de campo foi realizado com ervilha forrageira (*Pisum sativum* L.), inoculada com isolados bacterianos com potencial para fixação biológica de nitrogênio e promoção do crescimento em plantas. Avaliaram-se a resposta dos isolados nas plantas de ervilha e no resíduo sobre o solo. Para isso foram utilizados seis tratamentos bacterianos na ervilha. Durante a fase de plena floração da ervilha foram realizadas avaliações de produção massa seca e quantificação de nitrogênio nas plantas. Verificou-se que não houve evidente benefício dos isolados bacterianos testados sobre a produção de cobertura de ervilha-forrageira e nitrogênio presente na palhada.

Introdução

A estimativa de uma população mundial de 10 bilhões de pessoas até o ano de 2050 (Foley *et al*., 2011) somada a fatores como sustentabilidade, redução de custos, consciência ecológica, entre outros, torna a prática agrícola cada vez mais desafiadora para produtores, empresas e pesquisadores envolvidos na área, que desenvolvem sistemas, variedades e produtos para atender a essa nova demanda.
O plantio direto é um dos sistemas de cultivo implantado em grande parte das áreas agrícolas, reconhecido por ser um sistema conservacionista de manejo do solo, onde, através da cobertura e a rotação de culturas, contribui com a incorporação da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, controle de plantas daninhas e prevenção quanto a degradação física e química do solo.
A ervilha-forrageira é uma das leguminosas utilizadas na cobertura do solo e adubação verde. Quando se pensa na morfologia da planta, esta apresenta crescimento rápido e agressivo, cobrindo o solo de forma homogênea, podendo servir para cobertura do solo ou até mesmo forragem animal. Somado a sua capacidade de associar-se a bactérias principalmente do gênero *Rhizobium*, torna-se cada vez mais necessário investigar novas propostas e metodologias de pesquisa para esta área, para incrementar a produção de plantas de cobertura/adubação verde.

Materiais e Métodos

Com o objetivo de avaliar o potencial de fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento de diferentes BPCVs (Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal) estas foram inoculadas em ervilha-forrageira utilizando esta planta como cobertura e adubo verde do solo.

O seguinte experimento foi realizado em laboratório (seleção de isolados bacterianos e preparo dos inoculantes), e, então implantado no campo com a cultivar da ervilha-forrageira *(Pisum sativum* L.) IAPAR 83, na gleba de cultivo F7 localizada no campo experimental (CDE) da Fazenda Escola Capão da Onça – UEPG. O delineamento utilizado foi blocos casualizados com três repetições e 6 tratamentos sendo uma testemunha sem inoculação, um tratamento controle inoculado com o inoculante comercial disponível para ervilha, uma co-inoculação e 3 BPCVs do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana da UEPG (LABMOM).

A partir dos valores considerados como atividade significativa para produção de compostos indólicos, sideróforos, celulase, protease, solubilização de fosfato e zinco, citados na bibliografia, foram selecionados no Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia (LABMOM), os isolados bacterianos a serem testados como potenciais bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), sendo eles: H2D (*Pseudomonas* sp.), 10N6 (*Burkholderia* sp.) e B3D (*Rhizobium* sp). Estes foram crescidos em meio DIGs, e a partir de dados de absorbância e microgota foi traçada a curva de crescimento de cada isolado para inoculação na concentração semelhante aos inoculantes comerciais.

Foram inoculados todos os tratamentos, exceto o tratamento I. O tratamento II, considerado um dos controles, foi inoculado com o inoculante disponível no mercado, recomendado para ervilha composto pela bactéria *Rhizobium leguminosarum* bv. Viceae SEMIA 3007 e SEMIA 3012. O tratamento III co-inoculado, recebeu a dose do inoculante comercial para ervilha composto pela bactéria *R. leguminosarun* mais o inoculante composto pela bactéria *Azospirillum brasilense Abv5*/Abv6 (inoculante líquido comercial para gramíneas. Utilizou-se a recomendação do fabricante.

Os tratamentos IV, V, e VI, referentes aos isolados bacterianos pertencentes ao LABMOM crescidos foram padronizados em 10^9 u.f.c/ml e inoculados seguindo a recomendação do inoculante comercial.

A semeadura foi realizada usando a semeadora de parcelas de nove linhas com densidade de semeadura de 10 sementes por metro em espaçamento de 20 cm, em parcelas de 32,4 m^2 (6 m x 5,4 m). A cultura demonstrou pouca exigência em relação ao manejo de agroquímicos. Foi realizado apenas o arranquio manual de plantas espontâneas que poderiam competir com a ervilha por duas vezes durante o cultivo da ervilha.

A coleta das plantas para avaliações de produção de biomassa e extração de nitrogênio foi realizada aproximadamente aos 105 dias, na fase de floração plena, realizando-se a coleta da biomassa formada em 0,5 m^2 de cada parcela. As amostras foram colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 45ºC por três dias consecutivos, quando se observou massa constante. Estas foram então pesadas obtendo-se dados de produção de massa seca de cada tratamento.

Para a determinação do teor de nitrogênio nas plantas, utilizou-se 0,100 g de amostra da parte aérea, seguindo-se o método proposto por Malavolta (1997). A extração de nitrogênio pela parte aérea foi obtida pelo produto entre o teor de nitrogênio e a produção de massa seca da parte aérea das plantas.

Resultados e Discussão

A produção de massa seca e extração de nitrogênio pela parte aérea da ervilha não foram influenciados significativamente pelos tratamentos (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 1- Produção de massa seca da parte aérea (MS) por plantas de ervilha-forrageira em função dos diferentes tratamentos com BPCVs.

Tratamentos da Ervilha	**MS (t/ha)**
Controle	6,17 A
Inoculante Comercial	6,04 A
Co-inoculação	5,30 A
Rhizobium sp. (B3D)	5,26 A
Pseudomonas sp. (H2D)	4,83 A
Burkholderia sp. (10N6)	6,38 A
C.V.	17,58%

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Porém para a variável produção de massa seca, é possível verificar numericamente que o isolado *Burkholderia sp*. (10N6) apresentou o maior valor de produção sendo este superior aos tratamentos sem inoculação e inoculado com inoculante comercial para ervilha.

Tabela 2- Extração de nitrogênio pelas plantas de ervilha-forrageira em função dos diferentes tratamentos com BPCVs.

Tratamentos da Ervilha	**Nitrogênio (kg/ha)**
Controle	153,28 A
Inoculante Comercial	184,93 A
Co-inoculação	169,33 A
Rhizobium sp. (B3D)	155,91 A
Pseudomonas sp. (H2D)	135,23 A
Burkholderia sp. (10N6)	181,04 A
C.V.	25,48%

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Para a variável extração de nitrogênio, os resultados indicam uma superioridade de todos os tratamentos sobre o tratamento controle sem inoculação, e, novamente um valor similar do isolado *Burkholderia sp*. (10N6) em relação ao tratamento com inoculante comercial. Em relação ao tratamento controle o aumento foi de 18,11% quando utilizado o isolado *Burkholderia sp*. (10N6). A proximidade dos resultados em todos os tratamentos pode ser atribuída a nodulação espontânea ocorrida pela

presença de rizóbios nativos do solo. Todos os tratamentos mesmo os que não receberam o inoculante a base da bactéria *Rhizobium leguminosarun* apresentaram nodulação, o que possivelmente favoreceu a fixação biológica de nitrogênio em todos os casos.

No estudo apresentado por Aita *et al.* (2001) também não foram encontrados resultados significativos para a ervilha forrageira em comparação às demais leguminosas de cobertura (ervilhaca, chícharo e tremoço azul) quanto à absorção de nitrogênio; porém, e ervilha foi superior à ervilhaca e semelhante às outras duas plantas de cobertura quanto a produção de biomassa da parte aérea.

O trabalho desenvolvido por Chanway *et al.* (1989), utilizando ervilha-forrageira inoculada com nove estirpes bacterianas de BPCVs, à campo e em laboratório no sistema vasos de Leonard, apresentou resultados semelhantes entre os tratamentos para as variáveis peso seco de raiz e parte aérea, nodulação e absorção de nitrogênio, de forma que nenhuma bactéria apresentou resultado significativo, por fatores atribuídos pelo autor, como genótipo da planta e condições climáticas muito variáveis.

Conclusões

Não houve diferença estatística significativa demonstrando benefícios dos isolados bacterianos testados sobre a produção de cobertura de ervilha-forrageira e a quantidade de nitrogênio na palhada.

Resultados numéricos ainda indicam uma maior produtividade do isolado *Burkholderia sp.* (10N6) para a produção de massa seca e uma produtividade similar ao inoculante comercial para o nitrogênio presente na palhada.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica. À Universidade Estadual de Ponta Grossa. A toda a equipe do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana – LABMOM. Ao Laboratório de Fertilidade do Solo pela colaboração durante a execução do trabalho.

Referências

AITA, C. et al. Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.25, p.157-165, 2001.

CHANWAY C. P. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta moench*) and pea (*Pisum sativum* L.) **Soil Biol. Biochem,** 1989, v. 21. n. 4. p. 51.

FOLEY J.A., et al. Solutions for a cultivated planet. **Nature**. v. 478, p. 337-342. 2011

MALAVOLTA, E. et al. ***Avaliação do estado nutricional das plantas*: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos. p. 319 1997.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 30 de 12 de Dezembro de 2010**. 28 p. 2010.