PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris*) COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

Venicios Vieira Gabre (BIC/Fundação Araucária), Rafael Mazer Etto (Orientador), e-mail: mazeretto@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Bioquímica, Bioquímica dos Microrganismos

Palavras-chave: Agricultura sustentável, Inoculantes, Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal, Fixação de nitrogênio, Nitrogênio em feijão.

Resumo

O feijão é uma cultura de grande importância econômica e sociocultural como alimento base para a população brasileira. A espécie *Phaseolus vulgaris* comumente pode se associar com bactérias que promovem o crescimento da planta e fixação de nitrogênio atmosférico. Essa característica pode melhorar a produtividade com baixo custo e de forma sustentável. O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes isolados bacterianos que possam contribuir positivamente nos componentes de produção da cultura do feijão através da inoculação em sulco de semeadura. O delineamento foi em blocos casualizados com 7 tratamentos sendo: (I) sem nitrogênio em cobertura e sem inoculação; (II) com nitrogênio em cobertura e sem inoculação; (III) sem nitrogênio em cobertura e inoculação de *Rhizobium tropici*; (IV) *Rhizobium tropici* + *Bacillus subtillis*; (V) *Rhizobium tropici* + *Burkholderia sp*.; (VI) *Bacillus subtillis*; (VII) *Burkholderia sp*. 10N6, em condições de casa de vegetação. Foram analisados massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, contagem de nódulos e componentes de rendimento. Os resultados mostraram diferenças entre os microrganismos na promoção de crescimento e melhorias nos componentes de produção na cultura do feijão.

Introdução

Uma agricultura sustentável demanda a utilização de ferramentas que auxiliem o aumento da produção de alimentos com mínimo de prejuízo ao meio ambiente e saúde, considerando contexto econômico, social e político de cada região. Uma das alternativas potenciais para atingir este objetivo é o uso das bactérias promotores do crescimento vegetal (BPCV), considerando sua fácil aplicação em tratamento de sementes, raízes e também da parte aérea. Por outro lado, estas bactérias são nativas nos solos ou plantas, não interferindo no equilíbrio ecológico (MARIANO et al., 2004). Nesse contexto, o emprego de (BPCV) é visto como uma alternativa promissora. Entre esses microrganismos as bactérias podem ser responsáveis por fixar nitrogênio, solubilizar nutrientes e produzir sideróforos, celulases, quitinases e fitormônios, essenciais para o desenvolvimento da planta, reduzindo a necessidade do uso de agroquímicos (VESSEY et al., 2003). Estima-se que em 2012 a utilização da inoculação de bactérias no cultivo da soja gerou uma economia de 7 bilhões de dólares (VIANA, 2012). Entre os principais gêneros de bactérias empregados na agricultura estão *Bacillus, Burkholderia* e *Rhizobium* (MARIANO et al., 2004).

Considerando a necessidade de aumentar a produção de feijão com baixo impacto ambiental e econômico, esse trabalho visa avaliar novas associações de bactérias com a cultura do feijão que podem proporcionar incremento da produtividade.

Materiais e Métodos

O experimento foi executado em casa de vegetação e foi realizado a inoculação e co-inoculação na cultura do feijão. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular Microbiana da UEPG (LABMOM) em parceria com Laboratório de Fertilidade do Solo da UEPG. No início foi selecionada uma bactéria presente no estoque do LABMOM com potencial para o emprego como Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV) através dos testes de atividades bioquímicas para produção de ácido indol acético, sideróforos, celulase, protease, solubilização de fosfato e zinco, através de respostas positivas em experimentos anteriores com inoculação da bactéria de plantas feita no próprio laboratório. Em seguida foi realizado o preparo do meio de cultura DYGS (RODRIGUES NETO et al.,1986) líquido e sólido para crescimento da bactéria *Burkholderia sp*. 10N6. Esta foi então inoculada em meio DYGS líquido para acompanhar a taxa de crescimento com a mensuração de absorbância à 600 nm através do equipamento espectrofotômetro, e em meio DYGS sólido, em placas de Petri, para mensurar o número de unidades formadoras de colônia (UFC mL-1) em relação ao tempo de crescimento através da técnica da microgota (NAGHILI, 2013). Relacionando-se os dados de absorbância e de contagem de microgota calculou-se a curva de crescimento desses isolados, e foi possível estabelecer o ponto de crescimento alcançando o número mínimo de $1x10^9$ UFC mL^{-1} exigido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para ser testado como inoculante. Para as bactérias *Rhizobium tropici* SEMIA 4088, *Bacillus subtillis* - linhagem QST não foi utilizado técnicas de crescimento e contagem no laboratório por se tratar de bactérias presente em produtos comerciais que seguem as exigências (MAPA).
Na casa de vegetação preparou-se o substrato com mistura de areia e vermiculita (1:1) e adicionou-se em vasos com 8,0 L de volume. Após essa etapa, foram adicionadas soluções e formulações para suplemento de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas de feijão. Além da aplicação de nutrientes de forma padronizada em todos os vasos, foram adicionados em um dos tratamentos nitrogênio em cobertura, como referência de controle do feijão com suplemento integral de nitrogênio de fonte artificial como é convencionalmente utilizado nas lavouras da cultura do feijoeiro.
O feijão inoculado com as diferentes bactérias foi cultivado em casa de vegetação submetido ao delineamento inteiramente casualizado com um total de 7 tratamentos com 4 repetições cada, sendo: (I) sem nitrogênio em cobertura e sem inoculação; (II) com nitrogênio em cobertura e sem inoculação; (III) sem nitrogênio em cobertura e inoculação de *Rhizobium tropici*; (IV) *Rhizobium tropici* + *Bacillus subtillis*; (V) *Rhizobium tropici* + *Burkholderia sp.*; (VI) *Bacillus subtillis*; (VII) *Burkholderia sp.* 10N6.

Resultados e Discussão

Na avaliação da variável massa seca da parte aérea quando o feijão foi submetido à inoculação com microrganismos não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos pelo teste de Scott-Knott no estádio V4. Em estádio R6 as médias

dos tratamentos diferiram estatisticamente sendo o tratamento com nitrogênio em cobertura apresentando a maior média, e os tratamentos *R. tropici*, *R. tropici* + *Burkholderia* sp., *B. subtilis* e *Burkholderia* sp. considerados o segundo maior valor de massa seca da parte aérea. Em experimento realizado por Costa *et al.* (2013) estirpes não nodulíferas aumentaram a produção de massa seca da parte aérea do feijão-caupi, sendo que três pertencem ao gênero *Bacillus* e cinco ao gênero *Paenibacillus*. As médias de massa seca da raiz foram estatisticamente diferentes podendo ser divididas em dois grupos, sendo as maiores médias composta pelos tratamentos *R. tropici* + *B. subtilis*, *R. tropici* + *Burkholderia* sp., *B. subtilis* e *Burkholderia* sp. em estádio V4 da cultura do feijão. Em estádio R6 do feijão a massa seca de raiz diferiu estatisticamente apenas no tratamento com nitrogênio em cobertura sendo a maior média entre os tratamentos. Quando analisado os valores de contagem de nódulos com diâmetro acima de 2 mm os tratamentos testemunha e nitrogênio em cobertura apresentaram, estatisticamente, as menores médias de número de nódulos por planta. O efeito benéfico de *B. subtilis* sobre a nodulação de leguminosas, observado por Li e Alexander (1988); Halverson e Handelsman (1991); Camacho *et al*. (2001), não foi verificado no presente trabalho, embora o experimento não tenha mostrado que a coinoculação com *B. subtilis* prejudica a associação. Verificou que para os componentes de produtividade as variáveis que possuem médias distintas são vagens por planta (VP) e produtividade por vaso (PV). Já, para as variáveis grãos por vagem e peso de cem grãos não ocorreram médias distintas entre os tratamentos aplicados. O tratamento com maior média para vagens por planta foi o nitrogênio em cobertura e os tratamentos que se destacaram em relação à testemunha foram os tratamentos *R. tropici* e *B. subtilis*. Em produtividade por vaso, o tratamento que recebeu nitrogênio em cobertura foi superior as demais médias e os tratamentos com *R. tropici, R. tropici* + *B. subtilis, B. subtilis* e *Burkholderia* sp. apresentaram médias significativamente maiores que a testemunha com ganhos relativos acima de 58,4%.

Conclusões

Em casa de vegetação os tratamentos inoculados com *R. tropici*, *B. subtilis* e *Burkholderia sp*., e a coinoculação com *R. tropici* + *B. subtilis*, foram os que proporcionaram maior produtividade, porém abaixo do tratamento com nitrogênio em cobertura.
A efetividade na promoção de crescimento do feijoeiro foi confirmada em casa de vegetação pelo uso da inoculação de *B. subtilis* em tratamento de sulco.
O uso da inoculação e coinoculação apresentou grande potencial para promover o crescimento da cultura do feijão, além de proporcionar ganhos de produtividade de forma sustentável.

Agradecimentos

A fundação Araucária pelo suporte financeiro, a nossa equipe e Professores do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana da UEPG (LABMOM), e a equipe do Laboratório de Fertilidade do Solo da UEPG.

Referências

ARAÚJO, A. S. F. et al. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N_2 e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v.43, p.182-185, 2010.

CAMACHO, M., SANTAMARIA, C., TEMPRANO, F., RODRIGUEZ-NAVARRO, D. N., DAZA, A. Co-inoculation with *Bacillus* sp. CECT 450 improves nodulation in *Phaseolus vulgaris* L. **Canadian Journal of Microbiology**, v.47, n.11, 2001. p.1058-1062.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

COSTA, E.M.et al. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa gropecuária Brasileira,** v.48, p.1275-1284, 2013**.**

ELIAS, H. T. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. 2. ed. Florianópolis, SC: EPAGRI, 2012. 157 p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Métodos de Pesquisa em Fertilidade do Solo**. Brasilia, 1991. 390p.

HALVERSON, L.J.; HANDELSMAN, J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* VW 85 in the field and in a growth chamber. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, n.9, p.2767-2770, 1991.

LI, D.; ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.108, p.211-219, 1988.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais**

RODRIGUES NETO, J; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. e VICTOR, O. 1986. Meio simples para o isolamento e cultivo de Xanthomonas campestris pv. citri tipo B**. Summa Phytopathologica**, v. 12, n. 1-2, p. 32, 1986.

VESSEY, Joseph Kevin. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

VIANA, Tarciana de Oliveira. **Isolamento e inoculação de bactérias diazotróficas em arroz (Oryza sativa L.) cultivado em Vitória da Conquista** - BA. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2012.