

AValiação DA EMERGÊNCIA DE SEMENTES DE FEIJÃO MICROBIOLIZADAS COM RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E RIZÓBIOS*

BUSS, Renato Berwaldt¹; CAMPESATO, Cibeli Bastos Marques² CORRÊA, Bianca Obes³; CASTILHOS, Danilo Dufech⁴; MOURA, Andréa Bittencourt⁵.

¹Agronomia Bolsista ITI-A, ²Biologia Bolsista ITI-A, ³Doutoranda Bolsista CAPES, ⁴Departamento de solos FAEM-UFPEL, ⁵Bolsista de produtividade CNPq. e-mail: renatobbuss@gmail.com
Projeto com recursos do CNPq Processo 574838/2008-2

1. INTRODUÇÃO

O crescimento progressivo da população humana tem exigido uma grande produção de alimentos e os agricultores, para atenderem essa demanda, têm se valido de modelos de produção baseado na monocultura e uso intensivo de agrotóxicos. Este manejo em curto prazo responde às expectativas de produção, mas tem causado desequilíbrio ambiental e aumento de áreas agrícolas degradadas.

Em contra partida, os consumidores têm exigido cada vez mais alimentos saudáveis, produzidos em sistemas sustentáveis. Esta necessidade também surge por parte dos pequenos agricultores que geralmente não tem condições econômicas de adotarem os modelos tecnológicos convencionais, e pelos problemas ecotoxicológicos e de saúde, vinculada ao mau uso de agrotóxicos.

Entre as alternativas possíveis, encontra-se o uso das PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, que são bactérias que colonizam ativamente o sistema radicular das plantas e promovem aumento no seu crescimento (KLOEPPER *et al.*, 1991), seja por mecanismos diretos como: produção de metabólitos análogos aos hormônios vegetais e/ou disponibilizando nutrientes como nitrogênio e fósforo (KLOEPPER, 1993; GLICK & BASHAN, 1997), ou por mecanismos indiretos, como competição com patógenos (por espaço e nutrientes) e biocontrole (KLOEPPER & SCHROTH, 1980).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a velocidade de germinação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) microbiolizadas com rizobactérias promotoras de crescimento e rizóbios.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados utilizados no presente ensaio fazem parte da coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, e estão listados na Tabela 1.

Os tratamentos foram compostos da seguinte maneira: tratamento testemunha (solo não adubado pobre em N e P), solo adubado segundo recomendação completa para a cultura do feijão (SBCS/2004), rizóbios isoladamente (SEMIA 4077 e SEMIA 4080), rizobactérias não rizobiais isoladamente (DFs 831 e DFs 842), combinações compatíveis entre si de rizobactérias não rizobiais (C01, C02 e C03), associação de bactéria não rizobial com cada um dos rizóbios (DFs 831 + SEMIA 4077, DFs 831 + SEMIA 4080, DFs 842 + SEMIA 4077 e DFs 842 + SEMIA 4080) e associação de combinações de rizobactérias não rizobias com cada um dos rizóbios (C01 + SEMIA 4077, C01 +

SEMIA 4080C02 + SEMIA 4077 e C02 + SEMIA 4080, C03 + SEMIA 4077 e C03 + SEMIA4080).

Tabela 1 - Identificação e habitat dos isolados bacterianos utilizados, isoladamente ou em combinação compatível, para compor os tratamentos.

Isolados	Identificação*	Habitat
SEMIA 4077	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	
SEMIA 4080	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	
DFs 093	<i>Bacillus cereus</i>	Solo
DFs 348	<i>Bacillus</i> sp.	Filoplano de Cebola
DFs 769	<i>Bacillus cereus</i>	Vagem de feijão
DFs 831	<i>Pseudomonas</i> sp.	Solo rizosférico de feijão
DFs 842	<i>Pseudomonas</i> sp.	Folha de feijão
C01	DFs 093+769+831	
C02	DFs 093+769+842	
C03	DFs 769+348+831	

* Determinados por sequenciamento do gene 16S rDNA (dados não publicados)

Os isolados bacterianos foram cultivados em meio de cultura 523 de Kado e Heskett (1970) durante 24 horas em BOD a 28°C, depois foram preparadas suspensões salinas (NaCl 0,85 %) para cada um dos isolados, sendo suas concentrações ajustadas para 10⁸ UFC (unidades formadoras de colônias) com auxílio de espectrofotômetro. As combinações de alguns dos isolados foram constituídas de suspensões de cada isolado, cujas concentrações foram ajustadas individualmente para 10⁸ UFC constituindo as combinações descritas na Tabela 1.

As sementes de feijão da cultivar BRS Valente foram submetidas à microbiolização em Erlenmeyers contendo quantos mL de suspensões dos respectivos tratamentos, sendo as testemunhas imersas em soluções salinas, sob agitação durante 5 horas à 10⁰ C. Posteriormente 5 sementes microbiolizadas foram semeadas em cada vaso com capacidade de 5 L, contendo solo não autoclavado,. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação não climatizada, onde os vasos eram suspensos por bancadas e a irrigação utilizava água destilada mantendo os vasos com peso constante de 5 Kg. A partir da semeadura, os vasos eram inspecionados diariamente pelo período de quinze dias e quantificados o número de plântulas sadias emergidas, e com estes dados foram calculados o IVE (Índice de Velocidade de Emergência) segundo Nakagawa, 1999.

O mesmo ensaio foi conduzido em três épocas diferentes de semeadura: Julho, Outubro e Dezembro. Cada ensaio constitui-se de seis repetições em um delineamento inteiramente casualizado. Para análise do IVE os dados obtidos, no ensaio, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2. Muitos tratamentos não germinaram quando semeados em julho, possivelmente devido à temperatura

inadequada para a cultura do feijão. Houve baixo percentual de plântulas emergidas, sendo o maior percentual de 68% no mês de outubro, o que pode estar associado com baixa qualidade da semente.

Entre os tratamentos contendo rizobactérias e rizóbios, em julho, quem se destacou foi a associação de DFs 831 + SEMIA 4080, com incremento de 26,44% na velocidade de emergência e a combinação C03, que incrementou em 14,04% a velocidade de emergência.

Tabela 2 – Percentual de plântulas emergidas (PE) e Índice de Velocidade de Emergência de sementes microbiolizadas com diferentes tratamentos bacterianos.

Tratamento	Julho		Outubro		Dezembro	
	PE	IVE	PE	IVE	PE	IVE
Testemunha	40a	2,42abc	63,33ab	4,10ab	60abc	4,05abc
Solo Adubado	30a	1,86abcd	56,67ab	3,90ab	63,33abc	5,58a
SEMIA 4077	20a	0,96cd	60ab	4,33ab	53,33abc	3,09bc
SEMIA 4080	40a	2,25abc	46,67ab	3,34ab	60abc	5,20ab
DFs 831	20a	0,43d	53,33ab	3,82ab	33,33c	2,75c
DFs 842	20a	2,28abc	66,67a	4,50ab	43,33abc	2,90bc
C01	20a	1,23bcd	63,33ab	4,54ab	36bc	3,27abc
C02	20a	1,67abcd	53,33ab	3,77ab	56,67abc	4,56abc
C03	40a	2,76ab	50ab	3,44ab	60abc	3,94abc
DFs 831 + SEMIA 4077	26,67a	1,48abcd	68a	5,00a	63,33ab	4,03abc
DFs 831 + SEMIA 4080	33,33a	3,06a	52ab	3,66ab	63,33ab	3,99abc
DFs 842 + SEMIA 4077	20a	0,82cd	60ab	4,13ab	56,67abc	4,82abc
DFs 842 + SEMIA 4080	N.G.*	N.G.*	50ab	3,35ab	33,33c	2,79c
C01 + SEMIA 4077	N.G.*	N.G.*	56ab	4,01ab	48abc	3,09bc
C01 + SEMIA 4080	N.G.*	N.G.*	53,33ab	3,68ab	60abc	4,46abc
C02 + SEMIA 4077	N.G.*	N.G.*	36b	2,47b	32c	2,91bc
C02 + SEMIA 4080	N.G.*	N.G.*	44ab	3,07ab	50abc	4,23abc
C03 + SEMIA 4077	N.G.*	N.G.*	53,33ab	3,77ab	66,67a	4,86abc
C03 + SEMIA 4080	N.G.*	N.G.*	56ab	4,06ab	40abc	3,29abc
C.V. (%)	49,29	62,1	37,7	39,33	38,74	43,26

* Não germinou, ** Valores seguidos de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de significância.

C01 (DFs093+DFs769+DFs831); C02 (DFs093+DFs769+DFs842); C03 (DFs348+DFs769+DFs831); SEMIA (*Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*).

No mês de outubro, bons resultados foram verificados para os tratamentos DFs 831 + SEMIA 4077, a combinação C01 e o isolado DFs 842, com incrementos de 21,95% 10,73% e 9,75% respectivamente. SEMIA 4077 e DFs 842 + SEMIA 4077 apresentaram valores próximos da testemunha não adubada.

Em dezembro, época mais indicada para semeadura, a testemunha adubada obteve o maior índice de emergência, o que correspondeu a 37,77% de incremento no IVE. Entre os tratamentos com rizobactérias e, os que mais se destacaram foram: SEMIA 4080, C03 + SEMIA 4077, DFs 842 + SEMIA 4077 e C02, com incrementos de 28,39%, 20%, 19% e 12,59%, respectivamente.

Muitos tratamentos reduziram a velocidade de emergência das plântulas, o que também foi verificado por SANTOS (2006), em que combinações de rizobactérias aumentaram o tempo para iniciar e terminar a emergência, mesmo

para o feijão que apresenta uma germinação e emergência muito rápida comparada a outras culturas.

Um dos pontos mais importantes a ser analisado, neste contexto do uso de rizobactérias, é sua capacidade na promoção do crescimento das plantas e seu sucesso no controle de doenças, como por exemplo, o isolado DFs 831, que isoladamente, em nenhuma das épocas analisadas, melhorou a emergência das plantas, mas segundo CORRÊA (2007) apresenta um amplo espectro de ação sobre diferentes estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e *Colletotrichum lindemuthianum*. Adicionalmente, todos os tratamentos bacterianos não diferiram da testemunha adubada nos dois primeiros semeios e para percentual de emergência na terceira semeadura.

4. CONCLUSÃO

A microbiolização de sementes feijão com rizobactérias promotoras de crescimento e rizóbios em diferentes épocas de semeadura interfere na velocidade de emergência das plântulas.

5. REFERÊNCIAS

- GLICK, B.R.; BASHAN, Y. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. **Biotechnology Advances**, v.15, n.2, p.353-378, 1997.
- KLOEPPER, J.W.; ZABLOTOWICZ, R.M.; TIPPING, E.M.; LIFSHITZ, E. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: KEISTER, D.L.; CREGAN, P.B. (eds.). **The rhizosphere and plant growth**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishes, 1991. p.315-326.
- KLOEPPER, J.W. Plant growth promotion rhizobacteria as biological control agents. In: F.B. Meeting Jr. (ed.). **Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management**. New York, 1993. p. 255-274.
- KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**. v.1, p.642-644,. 1980.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, C. F.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B.(Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2.2 – 2.24.
- KADO, C.I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p. 24-30, 1970.
- CORRÊA, B.O. **Microbiolização com bactérias no controle do cretamento bacteriano comum e da antracnose na cultura do feijão**. 2007. 80f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- SANTOS, A. S. dos. **Biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e promoção de crescimento de plantas de feijão pelo uso de bactérias pré-selecionadas, isoladamente e em diferentes combinações**. 2006. 42f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.