

PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE FEIJÃO PELA ASSOCIAÇÃO DE RIZÓBIOS E RIZOBACTÉRIAS BIOCONTROLADORAS

**LAUREN FONSECA ANACKER¹; BIANCA OBES CORRÊA¹;
RAFAEL BARCELLOS NUNES¹; ANDRÉA BITTENCOURT MOURA²**

¹Universidade Federal de Pelotas – lauren_anacker@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – andreabittencourtmoura@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de feijão, apresentando uma produção de 3,6 milhões de toneladas em uma área de 3,8 milhões de hectares (IBGE, 2011). Entretanto, sua produção é insuficiente para abastecer o mercado interno devido aos baixos rendimentos da cultura, decorrentes tanto da incidência de doenças (danos de até 60%) como da deficiência nutricional (NETO; FANCELLI, 2000).

O uso de fertilizantes químicos acarreta alto custo financeiro e ambiental. Métodos de controle que reduzam estes entraves surgem como uma alternativa eficiente, como o controle biológico, que vem ganhando espaço, sendo estudado também para a cultura do feijão (CORRÊA et al., 2008).

Assim, uma alternativa viável à nutrição de plantas de feijão é a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium*. Estas bactérias formam associações simbióticas e mutualísticas com leguminosas, promovendo a fixação do nitrogênio atmosférico. Além destas bactérias, existem outras envolvidas no controle biológico, que sobrevivem na rizosfera e/ou rizoplano de plantas, denominadas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR - Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (KLOEPPER; SCHROTH, 1978). As rizobactérias apresentam baixo impacto ambiental, baixo custo de produção e aplicação, e podem incrementar o crescimento de plantas de feijão através da promoção de crescimento, pela produção de compostos como fitohormônios; ou pela redução de microrganismos deletérios e patogênicos (KLOEPPER, 1996).

Com isso, tem-se explorado a combinação de rizobactérias biocontroladoras juntamente com bactérias que formam associação simbiótica, buscando-se um tratamento que possibilite o controle de doenças e ao mesmo tempo promovam crescimento da planta (KLOEPPER, 1996; MELO, 1998).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o uso de rizobactérias biocontroladoras, isoladamente ou em combinações compatíveis entre si, associadas à *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* Frank. para a promoção do crescimento de plantas de feijão em casa de vegetação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As rizobactérias biocontroladoras utilizadas foram: DFs093, DFs348, DFs513, DFs769, DFs831, DFs842, DFs843 e DFs912 (Tabela 1), previamente selecionados para o biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (ZANATTA, 2007) pertencentes à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, DFs/FAEM/UFPel.

O isolado de rizóbio SEMIA4077 (*Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* Frank.) proveio da coleção de culturas Microbial Resources Centers (MIRCENS), do Centro de Fixação Biológica de Nitrogênio da FEPAGRO, Porto Alegre, RS.

Os isolados bacterianos (Tabela 1) foram cultivados em meio 523 de KADO; HESKETT (1970), e o isolado SEMIA4077 em meio de cultura com manitol e extrato

de levedura (YMA), ambos por 24 horas. Após, foram feitas suspensões de cada um em solução salina (NaCl 0,85%) e as concentrações ajustadas para $A_{540} = 0,50$.

Tabela 1 - Identificação e habitat das rizobactérias biocontroladoras utilizadas no experimento.

Isolados	Identificação*	Hábitat
DFs093	<i>Bacillus cereus</i> Frankland & Frankland	Solo
DFs348	<i>Bacillus</i> sp. Cohn	Folha de cebola
DFs513	<i>Pseudomonas veronii</i> Elomari	Túnica de cebola
DFs769	<i>B. cereus</i> Frankland & Frankland	Vagem de feijão
DFs831	<i>P. fluorescens</i> Migula	Solo rizosférico de feijão
DFs842	<i>P. fluorescens</i> Migula	Folha de feijão
DFs843	<i>Rhodococcus fascians</i> (Tilford) Goodfellow	Folha de feijão
DFs912	<i>R. fascians</i> (Tilford) Goodfellow	Folha de feijão

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

A suspensão do rizóbio foi utilizada isoladamente e em combinação com as suspensões dos isolados biocontroladores DFs831, DFs842 e com as soluções das combinações de rizobactérias, constituídas por: CO1(DFs093/DFs769/DFs831); CO2(DFs093/DFs769/DFs 842) e CO3(DFs769/ DFs348/DFs 831).

Assim, foram estabelecidos oito tratamentos: 1)testemunha (sem rizóbio); 2)testemunha adubada (sem rizóbio); 3)rizóbio; 4)rizóbio+DFS831; 5)rizóbio+DFs842; 6)rizóbio+CO1; 7)rizóbio+CO2; 8)rizóbio+CO3.

Sementes de feijão cultivar BRS Valente foram imersas em suspensão dos tratamentos e agitadas por 5 h/10°C. Semeou-se cinco sementes, em vasos contendo 5 Kg de solo. Após 15 dias, realizou-se o desbaste deixando-se duas plantas por vaso. O ensaio realizado em casa de vegetação não climatizada foi irrigado diariamente com água destilada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 repetições por tratamento. Noventa dias após a semeadura realizaram-se as avaliações: número de folhas e peso seco; número de vagens e peso seco; peso de sementes; número de nódulos nas raízes e peso seco de raízes. Os dados foram submetidos à análise variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$) através do programa SASM-Agri®(2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De modo geral observou-se que a utilização de rizóbio em associação com rizobactérias biocontroladoras, incrementou alguns dos parâmetros avaliados das plantas de feijão oriundas de sementes microbiolizadas com as suspensões das combinações. Observa-se que o tratamento 5 (rizóbio/DFs842) proporcionou incremento de 11,75% para a variável número de folhas (Figura 1), de 0,79 gramas para peso seco de folhas e de 1,03 gramas para peso seco de raízes (Figura 2).

Na Figura 1, nota-se que o tratamento 4, correspondente à associação de rizóbio com o isolado DFs831, destacou-se em relação aos demais tratamentos com rizóbio, apresentando maior porcentagem de nódulos nas raízes das plantas de feijão (33,13%) e maior número de vagens (4,13%). Este mesmo tratamento também proporcionou incremento nas variáveis: peso seco de vagens (1,82 gramas) e peso seco de sementes (1,33 gramas), em relação aos demais tratamentos com rizobactérias (Figura 2).

Adicionalmente observa-se que em todos os tratamentos, nos quais se utilizou rizóbio SEMIA4077 em associação com as rizobactérias, houve aumento da massa seca de folhas, vagens, sementes e raízes de plantas de feijão em relação à testemunha sem adubação (Figura 2).

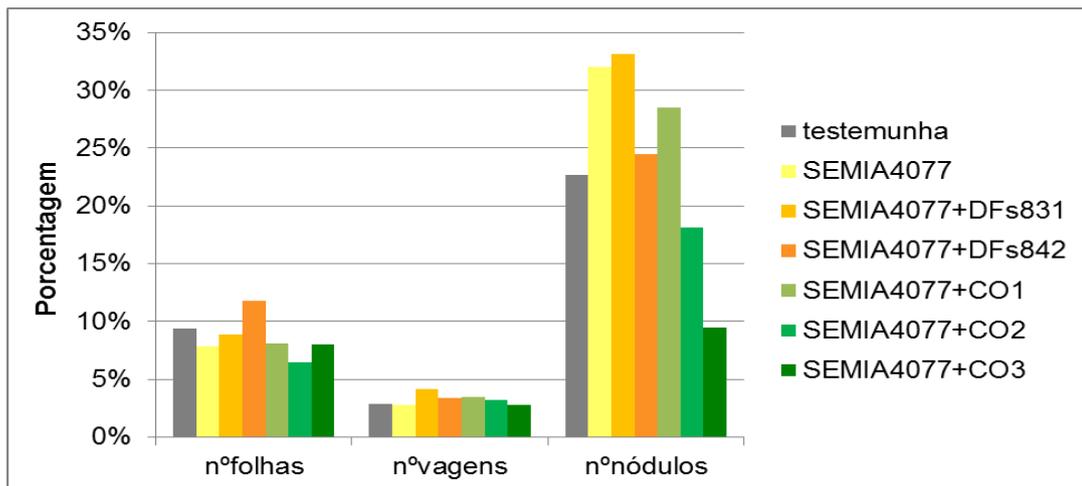


Figura 1. Porcentagem do número de folhas e vagens de plantas de feijão, e de nódulos de *Rhizobium leguminosarum*, referentes a cada tratamento, considerando a média entre as repetições.

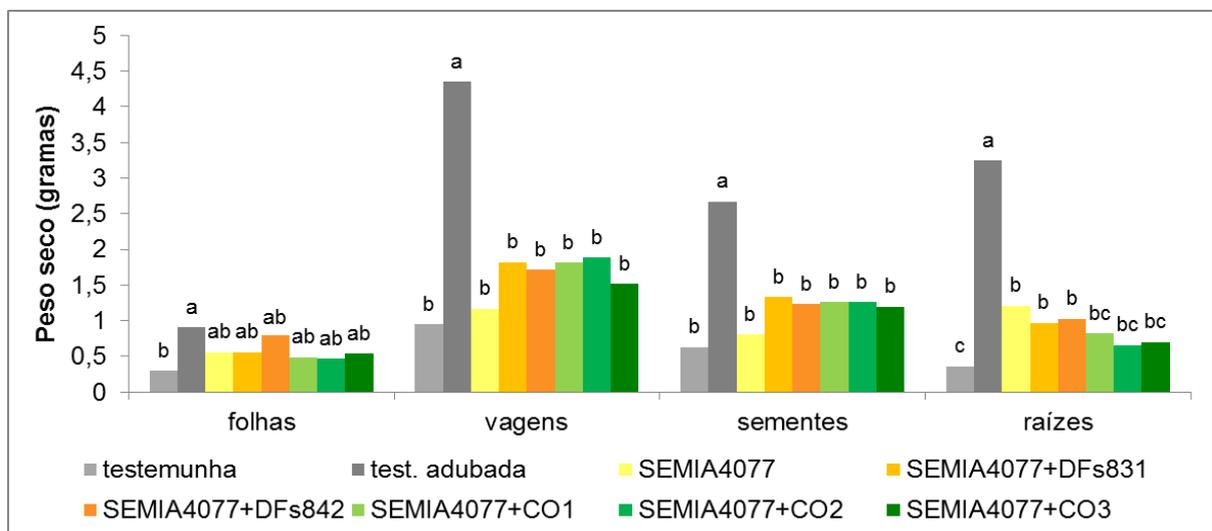


Figura 2. Média das repetições de cada tratamento, em relação ao peso seco (gramas) de folhas, vagens, sementes e raízes de plantas de feijão avaliadas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Portanto, nota-se que as plantas apresentaram melhoria nos parâmetros de crescimento quando as sementes foram microbiolizadas com as combinações de rizóbios e rizobactérias, especialmente aquelas que continham a espécie *Pseudomonas fluorescens* (DFs831 e DFs842). Além do comportamento observado em casa de vegetação, esta rizobactéria biocontroladora também apresenta compatibilidade com o rizóbio SEMIA4077 *in vitro*, confirmando o sinergismo entre estas duas espécies (ZANATTA et al., 2007). Os efeitos benéficos da combinação de espécies de *P. fluorescens* e *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* foi observado por MAREK-KOZACZUK et al. (2000), em plantas de trevo, ocorrendo aumento da atividade da enzima nitrogenase e consequente crescimento vegetal.

Assim, alguns trabalhos exibem a colaboração de rizobactérias na associação sinérgica com rizóbios, tais como: produção de ácido indolacético e solubilização de nutrientes. Além disso, bactérias do gênero *Pseudomonas* são fixadoras de nitrogênio e produtoras de auxinas, o que pode explicar seu melhor desempenho neste trabalho frente às demais rizobactérias utilizadas (GARCIA et al., 2004).

Dessa forma, é notável que esta associação constitui-se em uma estratégia viável, que pode intensificar a promoção de crescimento vegetal, possivelmente através de diferentes mecanismos de ação.

4. CONCLUSÕES

A microbiolização de sementes com combinações de rizóbio SEMIA4077 e rizobactérias DFs831 e DFs842 proporciona incremento no crescimento vegetal de plantas de feijão conduzidas em casa de vegetação. Estas combinações apresentam potencial promissor para o desenvolvimento de um biofertilizante. Entretanto, há necessidade de estudos a campo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORRÊA, B.O.; MOURA, A.B.; DENARDIN, N.A., SOARES, V.N.; SCHÄFER, J.T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.156-163, 2008.

GARCÍA, J.A.L.; PROBANZA, A.; RAMOS, B.; BARRIUSO, J.; MAÑERO, F.J.G. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and *Sinorhizobium fredii* on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Glycine max* cv. Osumi. **Plant and Soil**, v.267, p.143-153, 2004.

IBGE. Levantamento da produção de feijão safra 2011. Acessado em 18 jul. 2012. Online. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201104.pdf

KADO, C.I; HESKETT, M.S. Seletive media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.

KLOEPPER, J.W. Host specificity in microbe-microbe interactions. **Bio Science**, v. 46, p. 406-409, 1996.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: International Conference on Plant Pathogenic Bacterial. **Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacterial**, Angers, p.879-882, 1978.

MAREK-KOZACZUK, M.; KOPCINSKA, J.; LOTOCKA, B.; GOLINOWSKI, W.; SKORUPSKA, A. Infection of clover by plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* studied by Tn5-gusA. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.78, p.1-11, 2000.

MELO, I.S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia Microbiana**. Embrapa-CNPMA, 1998. p.87-116.

NETO, D. D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000.

ZANATTA, Z.G.C.N.; MOURA, A.B.; MAIA, L.C.; SANTOS, A.S. Bioassay for selection of biocontroller bacteria against bean common blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) . **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.511-515, 2007.