

INSTITUTO FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CÂMPUS SÃO MIGUEL DO OESTE  
AGRONOMIA

Lucas Ferrari da Silva  
Tiago Henrique Roman

**COINOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* E *RIZOGLOMUS*  
*CLARUM* EM FEIJÃO**

São Miguel do Oeste – SC (2021)

Lucas Ferrari da Silva  
Tiago Henrique Roman

COINOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* E *RIZOGLOMUS CLARUM*  
EM FEIJÃO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Bacharelado em  
Agronomia do Campus São Miguel do  
Oeste do Instituto Federal de Santa  
Catarina como requisito parcial à  
obtenção do título de **Engenheiro(a)**  
**agrônomo(a)**

Orientador  
Prof. Dr. Alcione Miotto

São Miguel do Oeste – SC (2021)

## RESUMO

A utilização de microrganismos benéficos às culturas tem se mostrado uma excelente alternativa para uma produção agrícola mais econômica e racional. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da coinoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio (*Rhizobium tropici*) com o fungo micorrízico arbuscular (*Rizoglosum clarum*) na cultura do Feijão-preto. O estudo foi composto por dois experimentos realizados simultaneamente em casa de vegetação, com a cultura do feijão preto (cv. SCS204 Predileto) cultivado em um Cambissolo coletado em área de lavoura na camada 0-20 cm. Para ambos os experimentos foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com os seguintes tratamentos: 1-Testemunha; 2- Fungos micorrízicos arbusculares (FMA); 3- Bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN); 4- coinoculação com FMA + BFN. A inoculação com BFN foi em dose de 4 ml de inoculante por kg de semente ( $3,0 \times 10^9$  células viáveis por ml) e a de FMA de 12,5 esporos por litro de solo para ambos os experimentos. O experimento 1 foi composto de seis repetições por tratamento, com vasos de 4 L cultivados com 2 plantas para as seguintes avaliações: número de trifólios (NT), número de flores (NF), número de canivetes (NC), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e concentração de nitrogênio nos tecidos (NPA e NRA). O experimento 2 foi composto por vasos de 8 L cultivados com 2 plantas para a avaliação da massa de grãos (MSG) e número médio de grãos por vaso (NGV). As avaliações foram realizadas na floração e na maturação fisiológica dos grãos (R9) para o experimento 1 e 2, respectivamente. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando encontradas diferenças significativas o teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) foi utilizado para separar as médias. Os resultados obtidos indicam que em solo fértil e já cultivado com culturas de anuais, a inoculação de *Rizoglosum clarum* (FMA) não aumenta a colonização das raízes do feijoeiro com fungos micorrízicos arbusculares, mas a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) *Rhizobium tropici* aumenta o número de nódulos nas raízes. Plantas inoculadas com FMA apresentam nutrição nitrogenada igual às plantas inoculadas com BFN. Contudo, a interação entre FMA e BFN resultou em menor produção de matéria seca da parte aérea, mas não interferiu no desenvolvimento das plantas, número e massa de grãos produzidos. As evidências indicam que a coinoculação de FMA e BFN não proporciona efeitos significativos e sinérgicos.

**Palavras-chave:** fixação biológica de nitrogênio, inoculante, microrganismos, rizóbios, fungos micorrízicos arbusculares.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	9
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	12
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	21
<b>5 REFERÊNCIAS</b> .....	24

# 1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) é um alimento básico em muitos países latino-americanos, considerados uma fonte primária de proteínas e minerais diários. O feijão carioca e o feijão preto são os preferidos e mais consumidos no Brasil (VOGT et al, 2013). Na safra 2006/2007 cerca de 2.014.363 hectares eram utilizados para a cultura e a produtividade era em torno de 2.014.363 toneladas, obtendo um rendimento médio de aproximadamente 968 kg por hectare (IBGE, 2006) Segundo o censo agropecuário de 2017 produtividade da cultura aumentou em relação ao ano de 2006, aumento pouco expressivo em uma década, totalizando uma média de 1257 kg por hectare (IBGE,2017). O cultivo do feijoeiro é realizado de muitas formas, com alto ou baixo nível tecnológico, porém, por ser uma planta exigente em fertilidade do solo, disponibilidade hídrica e controle fitossanitário, as maiores produções são alcançadas com um considerável aporte de insumos.

Com intuito de aumentar a produtividade das culturas, diminuir os custos de produção, produzir eficientemente e suprir a demanda de produção, torna-se necessário ampliar os estudos sobre os microrganismos benéficos às plantas (PEREIRA et al, 2013). Estimulou-se o interesse por associações últimas décadas, em decorrência da crise de energia e de suas inferências na produção de fertilizantes e da preocupação pela sociedade com o impacto do uso desordenado de produtos químicos no meio ambiente. A planta pode ser beneficiada de diversas formas pela ação dos microrganismos do solo, tais efeitos benéficos podem ser atribuídos à diversidade de microrganismos nativos no solo, que atuam de forma conjunta na decomposição do material orgânico, imobilização e disponibilização de nutrientes às plantas (bactérias fixadoras de nitrogênio e solubilizadoras de fosfato mineral), mineralização de compostos orgânicos, transformações inorgânicas, produção de fito-hormônios, inibição de patógenos e antagonistas (TORO et al, 1997; FERREIRA, 2016).

Pesquisas por novas alternativas que auxiliem na eficiência da fixação biológica de nitrogênio apontam para o uso de bactérias que convertem o nitrogênio atmosférico em amônio (EPSTEIN & BLOOM, 2004). A fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um processo complexo e necessita de diversas transformações. Neste processo a molécula de nitrogênio ( $N_2$ ) presente na atmosfera na forma gasosa é reduzida a amônio ( $NH_3$ ) por bactérias simbióticas e disponibilizados para produção de proteínas nas plantas. Apenas bactérias que possuem o complexo enzimático da nitrogenase são capazes de

realizar a quebra da tripla ligação e fazer a redução de N<sub>2</sub> (nitrogênio atmosférico) a NH<sub>3</sub> (amônio) (FIGUEIREDO, 2010). Os micro-organismos responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio (FBN) através da simbiose estabelecida com as plantas leguminosas são as bactérias genericamente conhecidas como rizóbios (PEREIRA et al, 2013). O feijoeiro é uma planta que faz associação com bactérias do gênero rizóbio, mas a eficiência na fixação de N nem sempre é boa, sendo comum que a adubação nitrogenada seja complementada via adubação mineral ou orgânica (CQFS RS/SC, 2016). Assim, o aumento da eficiência da FBN é uma das formas de aumentar a eficiência produtiva da cultura. O ideal seria que o desempenho simbiótico do feijoeiro fosse equivalente ao da soja, dispensando assim o uso de fertilizantes nitrogenados (RUMJANEK et al, 2005).

Em associações micorrízicas ocorre interação entre fungo-planta, apresentando uma perfeita integração morfológica e fisiológica, resultando em ganhos para os organismos envolvidos. Nas espécies vegetais é visto diferentes graus de dependência micorrízica (SIQUEIRA e SAGIN-JÚNIOR, 2001). Algumas são altamente dependentes, de modo que o efeito benéfico do FMA é observado mesmo em níveis elevados de P no solo, o grau de dependência micorrízica em feijão é alta (MIRANDA e MIRANDA, 2001). Já é possível encontrar no mercado fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus Intraradices*), que prometem, nas culturas do milho e da soja, variados benefícios, os mais conhecidos são o maior aporte de nutrientes em especial o fósforo (P), maior tolerância a estresses ambientais (seca, metais, pragas, doenças etc.), o maior desenvolvimento vegetal e, conseqüentemente, maior produtividade na área plantada, a inoculação se dá através do tratamento de sementes.

Simbiose caracterizada pela formação de estrutura nas raízes, com colonização intracelular do córtex, formando hifas enroladas e outras profusamente ramificadas (denominadas arbúsculos) e micélio extra-radicular que cresce solo adentro ultrapassando a rizosfera (CABRAL, 2010). As hifas fúngicas penetram no solo cerca de 5 a 15 cm para além da raiz infectada, ocasionando a extensão do sistema radicular das plantas, proporcionando um acréscimo de aproximadamente 10 vezes mais superfície de absorção (PRIMAVESI, 2002). As micorrizas não só aumentam apenas a área radicular dedicada na absorção, mas possuem igualmente um poder de mobilização de nutrientes maior que a raiz vegetal, especialmente, P e N (FIGUEIREDO et al, 2010).

A importância para as plantas são os benefícios causados, entre eles o aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo (P), que é proporcionado pelas hifas fúngicas, funcionando como extensão do sistema radicular, sendo que o fungo é

beneficiado pelos fotoassimilados das plantas, que permitem o completo ciclo de vida dos FMAs (SMITH; READ, 2008).

Da mesma forma que a nodulação por BFN, a micorrização ocorre naturalmente, devido a presença de fungos nativos no solo. A contribuição da micorriza arbuscular tem suma importância, estima-se que elas possam fornecer até 80% da absorção de P para as plantas, sendo que elas não substituem a adubação fosfatada, mas aumenta a eficiência do uso pelas plantas. Nas culturas de soja e milho, visualizou-se que a associação micorrízica pode moderar de 34% a 56% o requerimento de fertilizantes fosfatados, são aproximadamente 30 e 60 Kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> que podem deixar de serem aplicado nessas culturas (MOREIRA et al, 2013).

Contudo, as pesquisas buscam a seleção de estirpes de fungos micorrízicos que apresentem vantagens cientificamente comprovadas. Várias pesquisas realizadas relatam os efeitos benéficos propiciados pela interação FMA-bactéria diazotrófica, principalmente com FMAs dos gêneros *Glomus* e *Acaulospora*, que indicam ser os mais eficientes e presentes em maior número nos solos cultivados.

Além de obter conhecimento dos efeitos das bactérias fixadoras de nitrogênio, é indispensável ressaltar a importância dos fungos que formam simbiose mutualística com as plantas, denominados fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os benefícios da interação FMA-BFN podem ser proporcionados pelo maior incremento na absorção de P pelas plantas micorrizadas, o que aumenta as condições para o estabelecimento da associação com bactérias diazotróficas, essas interações têm extrema importância para uma agricultura mais sustentável, diminuindo o a aplicação de insumos adubos químicos, por exemplo, fertilizantes nitrogenados e fosfatados. De mesmo modo que estas tendem a aumentar o crescimento e os teores de nutrientes nas plantas, com incrementos em sua matéria seca total, pois, há um aumento da colonização de bactérias proporcionadas pelos fungos (SALA, 2002).

Na literatura podemos encontrar resultados que comprovam que tanto a tecnologia da BFN como a FMA podem beneficiar a cultura do feijão e melhorar sua produtividade. As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) presentes no solo frequentemente são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. No entanto, resultados de co-inoculação de FMAs com BFNs ainda são escassos, entre os gêneros mais estudados, destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium* (ARAUJO, 2008).

Contudo, poucas são as informações acerca da eficiência da inoculação dos FMAs na presença de populações nativas e coinoculação de BFN. Neste sentido, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da coinoculação com *Rhizobium tropici* e *Rizoglomus clarum* na cultura do feijão-preto (*Phaseolus vulgaris*) em uma condição de solo produtivo, com alto teor de P e pH corrigido.



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração do experimento utilizou-se um solo cultivado sob plantio direto, proveniente de uma lavoura de grãos de uma propriedade localizada no município de São José do Cedro-SC, com coordenadas 26°26'07.7"S 53°28'36.0"W. O solo coletado na camada 0-20 cm foi seco ao ar, homogeneizado e reservado para uso nos experimentos. Após seco e homogeneizado uma amostra de solo foi retirada para análise que revelou os seguintes atributos: pH em água= 5,40; Índice SMP= 5,70; Al + H = 6,15 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al trocável= 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; cálcio= 12,96 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; magnésio= 2,38 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; potássio trocável 340,17 mg dm<sup>-3</sup>; fósforo disponível= 31,20 mg dm<sup>-3</sup>. O solo foi classificado quanto a sua textura como solo argiloso (56% de argila, 24% silte e 20% de areia).

Na condução do ensaio optou-se pela adoção de dois experimentos em vasos que foram conduzidos simultaneamente. No primeiro as plantas foram conduzidas até o florescimento e, no segundo, até o ponto de maturação fisiológica (R9) para colheita dos grãos. Ambos os experimentos foram desenvolvidos com a cultivar de Feijão SCS204 Predileto, selecionada pelo seu alto potencial produtivo, como demonstrado por Backes (2013). Os dois experimentos tiveram delineamento inteiramente casualizado em um esquema bifatorial: presença e ausência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) versus presença e ausência de Bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), com quatro tratamentos: 1-Testemunha sem inoculação; 2- FMA; 3- BFN; 4- FMA + BFN.

Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação, com os vasos próximos ao solo com um separador por vaso afim de evitar que houvesse contato das raízes com o solo do exterior, irrigados por gotejamento conforme sua necessidade hídrica. O primeiro experimento, destinado a conduzir as plantas até o pleno florescimento, foi realizado com seis repetições em vasos com quatro litros de solo totalizando 24 vasos. Já o segundo experimento, destinado a conduzir as plantas até o ponto de maturação fisiológica, foi realizado com quatro repetições em vasos com oito litros de solo totalizando 12 vasos pra este. Em cada vaso foram semeadas cinco sementes e após a emergência das plântulas, foi realizado um desbaste permanecendo duas plantas por vaso.

Os tratamentos com inoculação foram preparados no momento da semeadura. Para a inoculação das sementes com rizóbios utilizou-se o inoculante mais indicado para esta cultura, produzido com bactérias do gênero *Rhizobium*. A composição do inoculante

aplicado era se seguinte: inoculante turfoso com *Rhizobium tropici* (Semia 4077, Semia 4080; Semia 4088), concentração:  $3,0 \times 10^9$  células viáveis por grama. Para inoculação com rizóbios foi utilizada a razão de 4 g de inoculante por quilograma de sementes previamente umedecidas em solução açucarada a 10%.

Para a inoculação com FMA foram utilizados esporos de *Rizoglosum clarum* devido reconhecida capacidade de associação com plantas cultivadas e benefícios proporcionados. Os inóculos iniciais foram fornecidos pela Universidade Federal de Santa Catarina e multiplicados com o cultivo de *Brachiaria brizantha* em vasos plásticos contendo substrato estéril. Posteriormente, o substrato cultivado com a Braquiária foi homogeneizado e uma amostra retiradas para a determinação da concentração de esporos (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Assim, após este processo, pesou-se uma quantidade de substrato inoculante que contivesse a quantidade de esporos, perfazendo 50 e 100 esporos para o experimento um e dois, respectivamente. No momento da sementeira, o substrato contendo os esporos foi posicionado 1 cm abaixo das sementes para facilitar o seu contato com as raízes.

No experimento 1, aos 45 dias no estágio de formação de vagens (R7), determinou-se o percentual de colonização micorrízica (PCM), o número de trifólios (NT), número de flores (NF), número de canivetes (NC), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), concentração de nitrogênio nos tecidos; parte aérea e raízes (NPA e NRA). Para a avaliação as plantas foram cortadas rente ao solo, as raízes separadas em peneira de 2 mm com auxílio de jato de água. Os nódulos foram coletados manualmente contados e pesados, então posteriormente secos em estufa a 65 °C por 72 horas, juntamente com a parte aérea e raízes para subsequente determinação de sua MS da fração. Para determinação da colonização de FMA, uma fração das raízes foram mantidas em solução FAA com a finalidade de conservação até o momento da coloração. A clarificação e coloração das raízes foi feita através do método proposto por Phillips & Hayman (1970) utilizando-se 0,1 grama de raízes. Em seguida a constatação e quantificação da porcentagem de colonização radicular pelo método proposto por Giovannetti & Mosse (1980). A taxa de colonização micorrízica foi avaliada pelo rastreamento da presença de hifas e vesículas em 20 segmentos de raiz de 1 cm de comprimento. Para a determinação da concentração de nitrogênio nos tecidos da parte aérea e das raízes, após a secagem e determinação da MS as partes foram finamente trituradas em um moinho de facas e reservadas para posterior determinação pelo método Kjeldahl (TEDESCO, 1982).

No experimento 2, aos 85 dias quando as plantas atingiram o estágio de maturação fisiológica (R9), avaliou-se o número de vagens (NV), número de grãos (NG) e a massa dos grãos (MG). Para tal, vagens foram coletadas, debulhadas manualmente e os grãos contados. Os grãos obtidos foram secos estufa a 65 °C até o ponto de equilíbrio higroscópico, pesados para determinação de sua massa.

Os dados foram submetidos a análise de variância e quando encontradas diferenças significativas o teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) foi utilizado para separar as médias.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura do feijão não apresentou os efeitos da inoculação e coinoculação com BFN e FMA. Em relação aos FMAs, a inoculação não apresentou maior percentual de raízes colonizadas se comparada ao tratamento sem FMA (Tabela 1). Por outro lado, os resultados sugerem ( $P=0,07$ ) que a adição de esporos de *Rizoglyphus clarum* pode reduzir a colonização com FMA que naturalmente ocorreria em solo agrícola, podendo ser pelo efeito de primeira infecção dos nativos reduzir uma nova infecção pela estirpe introduzida. Este efeito é semelhante ao que ocorre quando a planta FMA é atacada por patógenos de raiz. O FMA colonizado promove formação de enzimas que promovem a formação de paredes mais “duras” ou produção de compostos orgânicos de defesa.

Tabela 1 – Percentual de colonização micorrízica em raízes de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA		Média
	Sem	Com	
	----- % -----		
Sem	56,68	38,87	47,78
Com	58,20	45,23	51,72
Média	57,44	42,05	
CV %	38,94		
	----- Valores de P -----		
BFN	0,76		
FMA	0,07		
BFN*FMA	0,62		

Tal resultado indica que estirpes, introduzidas em área juntamente com espécies nativas, podem perder sua competitividade e não se adaptar, além de interferir na colonização micorriza de estirpes nativas (FREIRE, 1992). O solo utilizado no experimento não foi autoclavado e diversos estudos indicam que fungos e actinomicetos parasitas podem reduzir populações de esporos de fungos MA e proporcionar efeitos diversos nas plantas com dependência micorrízica (PEREIRA, 2011).

Os resultados obtidos indicam que em nenhuma variável analisada a colonização micorrízica foi efetiva. Não foram encontrados valores que indicam que a inoculação de FMA foi efetiva nos diferentes tratamentos. Indicando que o solo utilizado para o experimento era fértil e as plantas não foram submetidas a estresse hídrico, tendo em vista

que foi utilizado solo de cultivo e corrigido, além de utilizar irrigação por gotejamento em cada uma das repetições. O desenvolvimento e a conservação dos ecossistemas são dependentes da associação micorrízica que propicia, aos vegetais, estratégia nutricional superior à de plantas não micorrizadas, beneficiando a sobrevivência em quando as plantas cultivadas estão em condições de estresse (MERGULHÃO et al., 2014).

Reconhecidamente o feijoeiro é considerado uma planta promíscua em relação a simbiose para fixação biológica de nitrogênio (BFN) pois faz associações presentes nos solos (RUFINI, 2010). Entretanto, neste experimento a inoculação com BFN próprias para o feijão (*Rhizobium tropici* – “Semia 4077, Semia 4080; Semia 4088”) resultou num aumento de mais de duas vezes o número de nódulos, mas sem aumentar a matéria seca total de nódulos (Tabela 2). Isto indica que a inoculação com BFN foi eficiente e resultou em um grande aumento do número de nódulos efetivos pois apresentavam coloração característica da leg-hemoglobina, conforme visualizados no momento da avaliação.

Porém, existem divergências de resultados à inoculação do feijoeiro, podendo ser atribuída à alta susceptibilidade da planta aos diversos estresses ambientais (STRALIOTTO et al., 2000). Estirpes nativas de rizóbios que nodulam a cultura do feijão, além de serem pouco eficientes na BFN (OLIVEIRA et al., 1996), ainda dificultam a introdução de espécies mais eficientes (VIEIRA et al., 2005).

Tabela 2 – Matéria seca de nódulos (MSN) e número de nódulos (NN) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA					
	Sem	Com	Média	Sem	Com	
	MSN			NN		
	g vaso <sup>-1</sup>			n vaso <sup>-1</sup>		
Sem	0,12	0,14	0,13	135,00	180,00	157,50B <sup>1</sup>
Com	0,17	0,19	0,18	315,33	351,33	333,33A
Média	0,15	0,17		225,17	265,67	
CV, %		45,41			45,76	
	----- Valores de P -----					
BFN		0,08			>0,01	
FMA		0,56			0,38	
BFN*FMA		0,97			0,92	

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de tukey ( $\alpha=0,05$ ).

Por outro lado, a coinoculação com FMA e BFN não apresentou interação para número e massa seca de nódulos ( $P=0,97$  e  $0,92$ , respectivamente). Isto indica que FMA e BFN não apresentaram efeitos antagônicos ou sinérgicos quanto a infecção. Estes diferem dos obtidos por Chagas et al. (2010), que observaram que em todos os tratamentos houve ocorrência de FMA e BFN resultou em aumento no crescimento de feijão caupi. Tendo em vista que o principal papel do fungo é o fornecimento de P para a planta hospedeira e o suprimento desse nutriente para os nódulos, Barea et al. (1992) afirmam que os FMA beneficiam o processo de nodulação.

A inoculação e a coinoculação com BFN e FMA não resultou no aumento da matéria seca de raízes (MSR), mas apresentou interação ( $P=0,02$ ) quanto a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) do feijoeiro (Tabela 3). Os dados evidenciam algum tipo de prejuízo a produção de MSPA resultante da coinoculação de FMA e BFN. Comparativamente, o tratamento FBN+BFN produziu 24% menos MSPA se comparado ao tratamento apenas com BFN (Tabela 3). Este resultado indica que o custo energético para a planta manter a colonização de suas raízes com BFN e FMA pode ser maior que os benefícios.

Tabela 3 – Matéria seca de raízes (MSR), matéria seca da parte aérea (MSPA) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA				MSPA	Média
	Sem	Com	Sem	Com		
	MSR	Média				
	----- g vaso <sup>-1</sup> -----					
Sem	2,47	3,07	2,77	21,74a <sup>1</sup>	22,59a	22,17
Com	2,84	2,77	2,81	25,43a	19,25b	22,34
Média	2,66	2,92		23,59	20,92	
CV, %				15,83		
	----- Valores de P -----					
BFN		0,91			0,90	
FMA		0,40			0,08	
BFN*FMA		0,29			0,02	

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey ( $\alpha=0,05$ ).

A avaliação do desenvolvimento das plantas foi realizada pela contagem do número de trifólios (NT), número de flores (NF) e número de canivetes (NC) (Tabela 4). Os dados mostram que nenhum dos tratamentos utilizados provocou alterações significativas no desenvolvimento do feijoeiro. Este resultado é mais um indicativo que os efeitos da inoculação e coinoculação com FMA e BFN não causaram efeitos

expressivos tanto no crescimento quanto no desenvolvimento das plantas de feijão. Estes resultados discordam dos obtidos por Oliveira et al. (2017), que reportam que a inoculação com *Rhizóbium tropici* aumentou o teor de nitrogênio nas folhas, acúmulo de biomassa vegetal, número de vagens por planta, peso de 1000 grãos e a produtividade do feijão comum cv. Pérola. Mercedes (2016), demonstrou que a adição de FMA (*Rizoglopus clarum*), aumenta a produtividade da soja, com adição ou não de fertilizantes em diferentes dosagens.

Tabela 4 – Número de trifólios (NT), número de flores (NF) e número de canivetes (NC) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA								
	Sem	Com	Média	Sem	Com	Média	Sem	Com	Média
	NT			NF			NC		
	----- n vaso <sup>-1</sup> -----								
Sem	35,50	40,00	37,75	32,17	35,67		16,83	14,67	15,75
Com	39,67	34,33	37,00	33,00	26,50		18,83	14,33	16,58
Média	37,59	37,17		32,59	31,09		17,83	14,50	
CV, %	19,61			36,97			32,68		
	----- Valores de P -----								
BFN	0,80			0,40			0,70		
FMA	0,89			0,76			0,13		
BFN*FMA	0,12			0,31			0,59		

Os tratamentos com inoculação ou coinoculação de BFN e FMA não alteraram o teor e quantidade de N acumulados nas raízes, mas alguns efeitos foram percebidos na parte aérea das plantas (Tabela 5 e 6). A inoculação com BFN não alterou a concentração e acúmulo de N na parte aérea das plantas ( $P=0,54$ ). Este resultado indica que as bactérias fixadoras de N já presentes no solo e foram efetivas para nutrir as plantas, devido ao solo ter sido cultivado anteriormente com espécies de plantas que apresentam a simbiose com os microrganismos estudados.

Por outro lado, a inoculação de FMA aumentou em 17% a concentração de N na parte aérea ( $P=0,04$ ), apresentando também interação ( $P<0,01$ ) positiva no acúmulo de N. De foram isoladas, a inoculação com FMA e a inoculação com BFN proporcionam aumento do acúmulo de N na parte aérea, representando vantagem para as plantas.

Contudo, a coinoculação de FMA e BFN não representaram para as plantas ganhos extras pois o acúmulo de N não é diferente da inoculação isolada de ambos (Tabela 6).

No experimento realizado por Pereira et al. (2013) foi analisada a sinergia entre diferentes espécies de FMAs e rizóbios na cultura da soja, indicando efeito positivo da simbiose em questão nas variáveis analisadas (MSPA, MSN, MSR).

Tabela 5 – Teor de nitrogênio ([N]) e nitrogênio acumulado nas raízes (Nac) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA					
	[N]			Nac		
	Sem	Com	Média	Sem	Com	Média
	----- mg kg <sup>-1</sup> -----			----- mg vaso <sup>-1</sup> -----		
Sem	24,37	25,16	24,77	60,40	76,75	68,58
Com	25,00	24,77	24,89	71,32	68,82	70,07
Média	24,67	24,97		65,86	72,79	
CV, %	5,74			28,04		
	----- Valores de P -----					
BFN	0,83			0,85		
FMA	0,62			0,39		
BFN*FMA	0,41			0,25		

Tabela 6 – Teor de nitrogênio ([N]) e nitrogênio acumulado na parte aérea (Nac) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

BFN	FMA					
	[N]			Nac		
	Sem	Com	Média	Sem	Com	Média
	----- mg kg <sup>-1</sup> -----			----- mg vaso <sup>-1</sup> -----		
Sem	30,66	36,89	33,76	654,91bB <sup>1</sup>	812,05 aA	733,48
Com	33,08	37,38	35,23	830,69 aA	719,94 aA	775,32
Média	31,87B	37,14A		742,80	766,00	
CV, %	16,89			14,96		
	----- Valores de P -----					
BFN	0,54			0,37		
FMA	0,04			0,62		
BFN*FMA	0,69			>0,01		

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula para linha e maiúscula para coluna, não diferem entre si pelo teste de tukey ( $\alpha=0,05$ ).



Embora o estudo tenha apresentado algumas evidências dos efeitos da inoculação e coinoculação de FMA e BFN, a produtividade das plantas não foi igual em todos os tratamentos (Tabela 7). Isto indica que os tratamentos não proporcionaram efeitos importantes para as plantas. Para tal resposta existem várias explicações possíveis: 1) o solo utilizado já continha espécies nativas tanto de BFN quanto de FMA eficientes para auxiliar na nutrição das plantas; 2) o solo utilizado tinha bons teores de matéria orgânica e teor alto de fósforo e, 3) as plantas não foram submetidas a estresse hídrico, entre outras.

Tabela 7 – Número de vagens (NV), número de grão (NG) e massa de mil grãos (MMG) de plantas de feijão-preto cultivadas em solo com e sem inoculação com bactérias fixadoras e nitrogênio (BFN) e fungo micorrízico arbuscular (FMA).

BFN	FMA							
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
	NV		NG		MG		MMG	
	n vaso <sup>-1</sup>				g vaso <sup>-1</sup>		g	
Sem	45,00	41,75	238,8	240,0	54,98	61,06	231,31	255,66
Com	42,25	41,00	233,0	225,0	58,09	54,16	248,39	244,81
CV, %	18,27		18,80		16,21		7,65	
	----- Valores de P -----							
BFN	0,66		0,65		0,69		0,75	
FMA	0,57		0,88		0,82		0,29	
BFN*FMA	0,07		0,83		0,30		0,16	

O nitrogênio é um nutriente exigido em grande quantidade pelas culturas. Na fixação biológica o nitrogênio presente no ar (N<sup>2</sup>) é capturado e tem sua forma alterada, possibilitando a absorção pelas plantas, esse processo é feito por bactérias presentes no solo, ou adicionadas por meio de inoculação, a simbiose entre BFNs e plantas leguminosas (soja, feijão, ervilha, amendoim, entre outras) é a mais significativa (DOBEREINER, 1990).

No caso do feijão, a FBN não tem alcançado níveis esperados, e seus resultados não mostram consistência. É indispensável ressaltar que níveis elevados de N disponível no solo diminuem a nodulação e a eficiência da fixação biológica pelas estirpes de *Rhizobium*. Resultados obtidos provam que o feijão se caracteriza pela rápida senescência dos nódulos e pela diminuição da FBN logo após a floração, ao contrário da soja (AQUINO, 2005).

Em algumas espécies a inoculação de FMAs e rizóbios pode contribuir para melhorar a nutrição e qualidade, tendo em vista que as micorrizas atuam no crescimento da planta, pelo aumento na absorção de nutrientes, principalmente o fósforo, adição de volume de solo explorado aumentando a tolerância de plantas a estresses por fatores bióticos e abióticos e na fixação de nitrogênio por bactérias fixadoras (DIAS, 2012).

Os dados obtidos neste experimento demonstram que há um possível maior custo energético para a planta e que isto pode resultar em uma desvantagem quando as condições de solo e disponibilidade de água são adequadas, limitando a expressão dos efeitos de fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio.

## 4 CONCLUSÃO

Em solo fértil e já cultivado com culturas de anuais, a inoculação de *Rizoglonus clarum* (FMA) não aumenta a colonização das raízes do feijoeiro com fungos micorrízicos arbusculares, mas a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) *Rhizobium tropici* aumenta o número de nódulos nas raízes. Plantas inoculadas com FMA apresentam nutrição nitrogenada igual às plantas inoculadas com BFN. Contudo, a interação entre FMA e BFN resultou em menor produção de matéria seca da parte aérea, mas não interferiu no desenvolvimento das plantas, número e massa de grãos produzidos. As evidências indicam que a coinoculação de FMA e BFN não proporciona efeitos significativos e sinérgicos.

## REFERÊNCIAS

A. P. MERCÊDES; et al. Efeito de um inoculante do fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus* no desenvolvimento e produtividade da soja em condições de campo no município de Cláudia–MT. In: II CONGRESSO PARANAENSE DE MICROBIOLOGIA - SIMPÓSIO SUL-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 2016. **Anais eletrônicos...** Campinas, Galoá, 2016. Disponível em: <<https://proceedings.science/cpm/papers/efeito-de-um-inoculante-do-fungo-micorrizico-arbuscular-rhizophagus-clarus-no-desenvolvimento-e-produtividade-da-soja-em?lang=pt-br>> Acesso em: 25 mar. 2021.

AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de (Ed.). **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. cap. 7.

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciênc. agrotec.** n.2 v. 32 Lavras mar./abr. 2008.

BACKES, R. L.; et al. **SCS204 Predileto: novo cultivar de feijão-preto**. Agropecuária Catarinense, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 52-56, 2020. Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/RAC/article/view/558>. Acesso em: 25 abr. 2021.

BAREA, J. M. et al. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen fixing systems. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A. K. (Eds.). **Methods in microbiology: Techniques for the study of Mycorrhizae**. London: Academic Press, 1992. v. 24. p.391-416.

CABRAL, Lucélia et al. **Retention of heavy metals by arbuscular mycorrhizal fungi mycelium**. Rev. Química Nova, São Paulo, n.1, v. 33, p. 25-29, 2010.

CHAGAS, JR, AF; et al. **Efeito da inoculação de rizóbio e micorriza em feijão-caupi com fosfato natural em Gurupi**, Tocantins. 2010. Horticultura Brasileira n. 2. (Suplemento - CD Rom), julho 2010.

CQFS-RS/SC, Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2016. 376p.

DIAS, P. C; et al. Micorriza arbuscular e rizóbios no enraizamento e nutrição de mudas de angico-vermelho. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1027-1038, dez. 2012.

DOBEREINER, Johanna. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. **Estudos avançados**. São Paulo, v. 4, n. 8, p. 144-152, abr. 1990.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2ª edição, Londrina, Editora Planta, p.403, 2004.

FERREIRA, D. A; Interações entre fungos micorrízicos arbusculares e a microbiota de solos. 2016. **Tese** (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- FIGUEIREDO, M.V.B; et al. **Biotecnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 761 p.
- FREIRE, J. R. J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992, p. 121 – 140.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 6, p. 235-246, 1963.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** 84:489-500
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6957#resultado>> Acesso em: 18/04/2021
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/825#resultado> > Acesso em: 18/04/2021
- MERGULHÃO, et al. Caracterização morfológica e molecular de fungos micorrízicos arbusculares isolados de áreas de mineração de gesso, Araripina, PE, Brasil. **Hoehnea**. v. 41, n. 3, p. 393-400, 2014.
- MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. **Seleção e recomendação de uso de espécies de fungos micorrízicos arbusculares**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 2001. 3p. (EMBRAPA-CPAC. Comunicado Técnico, 52)
- MOREIRA, Fatima M. S. (Ed.) et al. **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Lavras: Ed. UFLA, 2013. 351 p.
- OLIVEIRA, C. A. B.; PELÁ, G. M.; PELÁ, A. Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação foliar com Molibdênio na cultura do feijão comum. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, Suplemento 1, p. 43-50, dez. 2017.
- PEREIRA, G, M. Interações entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA), rizóbio e actinomicetos na rizosfera de soja. **Dissertação** (Pós Graduação em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.
- PEREIRA, Marsílvio G. et al. Interações entre fungos micorrízicos arbusculares, rizóbio e actinomicetos na rizosfera de soja. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande, v.17, n.12, p.1249-1256, dez. 2013.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. **Transactions of the British Mycological Society** 55:158-161.
- RUFINI, M. Eficiência da Simbiose de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio com Feijoeiro Comum em Diferentes Condições de pH. **Dissertação** (Pós Graduação em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

RUMJANEK, N. G. et al. Fixação biológica do nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J.A de A.; RIBEIRO, V.Q. (ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.280-335

SALA, V. M. R. Atividade microbiana do solo e interação de diazotróficos endofíticos e fungos micorrízicas arbusculares na cultura de trigo. 2002. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v. 11, p. 245-255, 2001.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3 ed. London, Academic Press, 2008. 785p.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. **A Variabilidade Genética do Feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.L): aplicações nos estudos das interações simbióticas e patogênicas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 59p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 126).

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).

TORO, M.; AZCÓN, R.; BAREA, J.M. **Improvement of Arbuscular Mycorrhiza Development by Inoculation of Soil with Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria To Improve Rock Phosphate Bioavailability ((sup32) P) and Nutrient Cycling. Environmental Microbiology**, n. 11, v. 63, 4408-4412, 1997.

VIEIRA, R.F.; TSAI, S.M.; TEIXEIRA, M.A. 2005. Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em feijoeiro com estirpes nativas de rizóbio, em solo tratado com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.40, v.10, 1047-1050.

VOGT, G. A. et al. Competitive ability of black common bean genotypes with weeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, n. 5, v. 37, p. 397-403, out. 2013.