

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO DE AGRONOMIA

André Silveira Valderrama

**Inoculação de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com rizóbios
endógenos de solos do planalto catarinense.**

Curitibanos
2020

André Silveira Valderrama

Inoculação de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com rizóbios endógenos de solos do planalto catarinense.

Trabalho Conclusão do Curso de
Graduação em agronomia do Centro de
ciências agrárias da Universidade Federal
de Santa Catarina como requisito para a
obtenção do título de Bacharel em eng.
Agrônomo
Orientador: Prof. Dr. Gloria Regina Botelho

Curitibanos

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Valderrama, André Silveira Valderrama

Inoculação de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com rizóbios endógenos de solos do planalto catarinense / André Silveira Valderrama Valderrama ; orientador, Gloria Regina Botelho Botelho, 2020.

42 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2020.

Inclui referências.

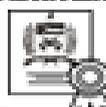
1. Agronomia. 2. Inoculação. 3. Isolados . I. Botelho, Gloria Regina Botelho. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.

ANDRÉ SILVEIRA VALDERRAMA

**Inoculação de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com rizóbios endógenos
de solos do planalto catarinense.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

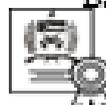
Curitiba, 20 de novembro de 2020.



Documento assinado digitalmente

Samuel L. Fioreze
Data: 20/11/2020 11:58:40-0300
CPF: 052.258.059-90

Prof. Dr. Samuel L. Fioreze
Coordenador do Curso



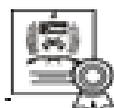
Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente

Glória Regina Botelho
Data: 24/11/2020 17:08:39-0300
CPF: 052.243.051-87

Profa. Dra. Glória Regina Botelho |
Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina

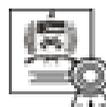


Documento assinado digitalmente

Ana Carolina da Costa Lara
Data: 25/11/2020 08:09:43-0300
CPF: 029.493.458-43

Profa. Dra. Ana Carolina da Costa Lara Fioreze
Membro da banca examinadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Anabel Gonzalez Hernandez
Data: 24/11/2020 17:20:10-0300
CPF: 012.625.005-07

Dra. Anabel Gonzalez
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus colegas de classe
e aos meus queridos pais.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar esse trabalho as seguintes pessoas:

Primeiramente a minha família por todo apoio durante a vida.

Um agradecimento especial a prof. Dra Gloria, pela orientação e por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa Microrganismo Promotores de Crescimento de Plantas (MPCP). E claro ao grupo pela ajuda no projeto.

Agradeço ao Setor Agropecuário da UFSC por todo o auxílio prestado no desenvolvimento desse experimento.

Agradeço a STAE Clarice pela ajuda em conseguir as sementes de feijão para realização do experimento.

Agradeço aos amigos que fiz durante a faculdade, em especial aos que me ajudaram na implantação desse experimento. E ao meu irmão Rafael e ao Guilherme por toda ajuda durante o experimento.

RESUMO

Cresce a necessidade de novas tecnologias capazes de aumentar a produção do feijoeiro, mantendo a mesma área cultivada. Com isso, o uso de adubação nitrogenada vem aumentando e conseqüentemente, o custo de produção e os impactos ambientais. Como alternativa, busca-se por bactérias fixadoras de N eficientes e adaptadas às condições edafoclimáticas diversificadas. Nesse sentido, o objetivo com este trabalho foi avaliar a eficiência na fixação biológica de nitrogênio (FBN) de rizóbios isolados da microrregião de Curitiba no feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Foram selecionados dois isolados (RZ14 e RZ15) da coleção de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) que obtiveram resultados promissores em experimentos anteriores. O experimento comparou os isolados com a estirpe de referência CIAT 899 classificada como *Rhizobium tropici* e com a adubação padrão de nitrogênio de 120kg/ha⁻¹. O experimento foi conduzido na área experimental agropecuária da UFSC, *campus* Curitiba-SC e foram avaliadas as massas seca e úmida da parte aérea, e de raiz, os nódulos ativos e inativos, a produtividade, o teor de N foliar e do grão. Os rizóbios testados obtiveram resultados superiores a CIAT899 para massa de parte aérea seca e úmida. Para a massa de raiz seca e úmida não houve diferença entre os isolados e CIAT 899. Para massa de nódulos ativos úmida, os isolados foram estatisticamente superiores aos tratamentos com adubação nitrogenada e a CIAT 899 se diferenciou dos demais tratamentos. Para massa dos nódulos ativos seca a testemunha, os isolados e a CIAT899 se diferenciaram dos tratamentos que receberam adubação nitrogenada. Para massas de nódulos inativos úmidos e secos, os isolados e a testemunha se diferenciaram dos tratamentos com N e a estirpe CIAT 899 se diferenciou dos demais. Para a produtividade, os isolados obtiveram resultados iguais à estirpe padrão, enquanto o tratamento com adubação nitrogenada se mostrou estatisticamente superior. Para teor N foliar e do grão os tratamentos não se diferenciaram. Conclui-se que os isolados apresentaram potencial para FBN na região mais elevada que a estirpe padrão, necessitando estudos mais aprofundados.

Palavras-chave: FBN. Isolados. Produtividade. Fabaceae

ABSTRACT

There is a growing need for new technologies capable of increasing the production of beans, maintaining the same cultivated area. As a result, the use of nitrogen fertilizer has been increasing and, consequently, the production cost and environmental impacts. As an alternative, we are looking for efficient bean N-fixing bacteria adapted to diverse edaphoclimatic conditions. In this sense, the objective with this work was to evaluate the efficiency in biological nitrogen fixation (BNF) of rhizobia isolated from the Curitibanos microregion in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Two isolates (RZ14 and RZ15) were selected from the collection of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (RPCP) that obtained significant results in previous experiments. The experiment compared the isolates with the standard CIAT 899 strain of *Rhizobium tropici* and with the standard nitrogen fertilization of 120kg / ha. This was carried out at the experimental farm of UFSC - Curitibanos-SC and dry and wet masses of the aerial part, root, active nodules, inactive nodules, productivity, leaf N and grain content were evaluated. The tested rhizobia obtained results statistically superior to CIAT899 for dry and humid aerial part mass. For dry and wet root masses, there was no statistical difference between the isolates and CIAT 899. The treatment with nitrogen fertilization was statistically superior to the others. For wet mass of active nodules, the isolates were statistically superior to treatments with nitrogen fertilization and CIAT 899 differed from other treatments. For the mass of the active nodules dry the control, the isolates and CIAT899 differed from the treatments that received nitrogen fertilization. For masses of wet and dry inactive nodules, the isolates and the control were different from the treatments with N and the strain CIAT 899 was different from the others. For productivity, the isolates obtained results equal to the standard strain, while the treatment with nitrogen fertilization was statistically superior. For N and leaf content, the treatments did not differ. It is concluded that the isolates had potential for FBN in the region higher than the standard strain, requiring further studies.

Keywords: FBN. Isolates. Yield. Fabaceae

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Precipitação durante a condução do experimento, Curitiba – SC.....	19
Figura 2 – Temperatura durante a condução do experimento, Curitiba – SC.....	19
Figura 3 – Instalação do experimento	22
Figura 4 – Croqui do experimento.....	22
Figura 5 – Folha de feijoeiro com sintoma de antracnose.....	23
Figura 6 – Plantas colhidas ao final do experimento	25
Figura 7 – Plantas de feijão sem sintomas de clorose.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise do solo.....	21
Tabela 2 – Massa da parte aérea	26
Tabela 3 – Massa da parte radicular.....	27
Tabela 4 – Massa dos nódulos ativos.....	28
Tabela 5 – Massa dos nódulos inativos e eficiência na nodulação	29
Tabela 6 – Efeito na produtividade do feijão cultivar tuiuiú.....	30
Tabela 7 – Efeito no teor de nitrogênio da parte aérea total e acúmulo de N.....	32
Tabela 8 – Teor de N no grão.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	OBJETIVOS	12
1.1.1	Objetivo Geral	13
1.2	JUSTIFICATIVA	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	PRODUÇÃO MUNDIAL DO FEIJÃO	14
2.2	EXIGÊNCIAS DE NITROGÊNIO E ADUBAÇÃO PARA O FEIJOEIRO	14
2.3	INOCULAÇÃO NA CULTURA DO FEIJÃO	15
2.4	PRINCIPAIS FATORES LIMITANTES À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N.....	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1	ORIGEM DOS RIZÓBIOS NATIVOS	18
3.2	LOCALIZAÇÃO DA ÁREA.....	18
3.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	19
3.4	PREPARO DOS INOCULANTES DOS ISOLADOS.....	20
3.6	INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	21
3.7	CARACTERIZAÇÃO DA CULTIVAR.....	23
3.8	TRATOS CULTURAIS.....	23
3.9	PARÂMEROS AVALIATIVOS	24
3.9.1	Massas da raiz e parte aérea – úmida e seca	24
3.9.2	Massa total de nódulos – ativos e inativos	24
3.9.3	Nitrogênio total da parte aérea	24
3.9.4	Produtividade	25
3.9.5	Teor de nitrogênio do grão	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa, utilizada como base alimentar para diversos povos a mais de 10 mil anos, e é atualmente, ainda muito cultivada e consumida (SALVADOR, 2017). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), a população brasileira combina a tradicional dieta à base de arroz e feijão. O consumo alimentar brasileiro médio de feijão per capita é 14,94 kg/hab/ano (SALVADOR, 2017).

A cultura do feijão possui grande relevância para alguns países, incluindo o Brasil. No país, o feijão tem grande importância, tanto pelo tamanho da área plantada e pela produção. Mesmo sendo importante, sua área cultivada diminuiu nos últimos anos, principalmente pela flutuação dos preços. Porém, o cultivo mais tecnificado aumentou sua produção (LOLLATO; SEPULCRI; DEMARCHI, 2001).

No ranking de produção mundial, o Brasil está em terceiro lugar, respondendo por 13% da produção mundial, perdendo para Mianmar com 18%, e a Índia que produz cerca de 16% (FAOSTAT, 2019). Na produção nacional, destaca-se o Paraná, como o maior produtor e Santa Catarina está em quinto lugar com 83,1 mil toneladas na safra de 2018/2019 (CONAB 2018). O planalto catarinense se destaca na produção de feijão, havendo alguns fatores que limitam sua produtividade, como manejo inadequado do solo, sementes de baixa qualidade, baixa tecnologia e a deficiência de nitrogênio no solo (ALMEIDA; SANGOI, 1994 apud LISOT, 2017).

O nitrogênio é um elemento fundamental para o crescimento e desenvolvimento da planta. Porém, sua disponibilidade nos solos é inferior a demanda da planta, sendo necessário a adubação nitrogenada que aumenta os custos da produção (HAAG, *et al.*, 1967). Além do custo, o manejo inadequado pode resultar em efeitos indesejados para o ambiente, principalmente, pelos processos de lixiviação, contaminando as águas do lençol freático (CARVALHO; REIN, 2019).

Uma solução para a redução da adubação nitrogenada é o uso de bactérias fixadoras de N, especialmente rizóbios para leguminosas, que podem garantir o suprimento para a planta (PEIXOTO, 2014).

Nesse contexto, a utilização de bactérias fixadoras de N, para o feijão tem como espécie principal a *Rhizobium tropici* que está presente nos inoculantes comerciais. Entretanto, outras espécies, como *R. etli* e *R. leguminosarum*, também podem se associar simbioticamente com o feijoeiro garantindo o fornecimento de N (MERCANTE, 2000).

As condições edafoclimáticas da microrregião de Curitibanos-SC parecem influenciar a adaptabilidade e sobrevivência dos rizóbios que fazem parte dos inoculantes comerciais. Os quais foram selecionados para sobreviver em temperaturas mais elevadas e pH mais ácido, resultando em rendimento inferior ao esperado (MARTINS *et al.*, 2012). Além disso, o melhoramento genético do feijoeiro, ocorreu para responder ao uso de adubos nitrogenados, diminuindo a sua capacidade simbiótica e conseqüentemente, de fixação biológica de nitrogênio, o que não foi considerado nos programas de melhoramento (ANDRADE, 2001).

Para o feijoeiro, via simbiose, estima-se que o aporte de N para a planta pode chegar a 300kg/ha, dependendo do cultivar e das bactérias utilizadas (MATOSO; KRUSDA, 2014). Porém, uma dificuldade é a sobrevivência e competição dos rizóbios presentes no inoculante frente aqueles presentes no solo, que são adaptados às condições edafoclimáticas (XAVIER *et al.*, 2006).

Para obter melhoria da fixação biológica de nitrogênio no feijão para microrregião de Curitibanos-SC, sugere-se o uso de rizóbios adaptados às condições edafoclimáticas da região. Isto poderia aperfeiçoar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio, trazendo rentabilidade a cultura do feijão, pela redução de custo com adubação nitrogenada, estimulando a adoção da inoculação pelos agricultores (MARTINS *et al.*, 2012), além de reduzir os riscos ambientais pelo uso excessivo de adubos nitrogenados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência na fixação biológica de nitrogênio de rizóbios isolados da microrregião de Curitibanos no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

1.2 JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de variedades cada vez mais produtivas demandam mais fertilidade do solo, o que vem sendo obtido através do uso de insumos. Porém, o manejo errôneo e as práticas utilizadas podem acarretar na perda de nutrientes e danos ao meio ambiente.

A adubação vem sendo responsável pelo aumento de custos da produção nos últimos anos, devido à grande quantidade de fertilizantes aplicado nos solos, que com o passar do tempo podem promover alterações na microbiota, prejudicando especialmente a ciclagem de nutrientes. Além disso, essa grande quantidade, pode acarretar problemas, como a contaminação dos rios, lagos e lençol freático, principalmente pelo excesso de nutrientes como nitrogênio (N) e o fósforo (P) (RESENDE, 2002). Por isso, é importante a redução da entrada demasiada desses insumos.

Diversas alternativas vêm sendo estudadas para reduzir o custo de produção e os impactos ambientais. Por isso, a utilização de bactérias capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio ganhou grande espaço nas pesquisas (RATZ *et al.*, 2017). Um exemplo disso é na cultura da soja. Seriam necessários 240kg de N/ ha, para produzir 3000kg/ha, com um custo de aproximadamente \$750,00 em adubos. Com a inoculação, esse custo geralmente fica abaixo de \$8,00 (HUNGRIA; CAMPO; MENDES; 2001).

A microrregião de Curitibanos (SC) teve uma diminuição da área plantada de feijão, principalmente, pelo elevado custo de produção (EPAGRI, 2017). Contudo, a microrregião de Curitibanos ainda é responsável por 22% da produção do estado de Santa Catarina (CONAB, 2018), ficando evidente a necessidade de novas ferramentas que reduzam o custo de produção e o impacto ambiental na região.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUÇÃO MUNDIAL DO FEIJÃO

O feijão tem grande importância nutricional para a população brasileira, e também para o agronegócio (SOARES *et al.*, 2006). Isso se deve principalmente, ao ciclo curto, que proporciona o cultivo do feijoeiro entre safras, elevando a renda do produtor (LOLLATO; SEPULCRI; DEMARCHI, 2001).

A produção mundial de feijão vem crescendo desde 1960 (FUSCALDI e PRADO, 2004). No período entre 2010 e 2014, a média foi de 23,8 milhões de toneladas (FAO, 2017). Segundo a Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2016/2017 (2017), em 2002, cerca de 65% da produção mundial se originou de seis países, os quais foram Brasil, Índia, México, Mianmar, Estados Unidos e China. O Brasil é terceiro maior produtor, com uma produção de 3.328 mil toneladas (CONAB, 2018). As principais regiões produtoras são a sul com 33% da produção, região sudeste com 28,3% e o centro oeste com 22,2%. O Paraná é o maior produtor da região Sul, onde destaca-se o município de Prudentópolis – PR com 36.900 toneladas (CONAB, 2018). Em Santa Catarina se destaca quatro microrregiões, Xanxerê, Curitibanos, Canoinhas e Campos de Lages, com produção de 34.800, 21.000, 20.192 e 16.259 toneladas respectivamente. Na safra 2017, a microrregião de Curitibanos foi a segunda maior produtora de feijão do estado de Santa Catarina (EPAGRI, 2017).

2.2 EXIGÊNCIAS DE NITROGÊNIO E ADUBAÇÃO PARA O FEIJOEIRO

A produção do feijoeiro é favorecida na maioria das regiões brasileiras, pelas condições ambientais. Porém, se o solo não estiver com fertilidade adequada, esse pode ser um fator limitante para a produtividade, principalmente pela insuficiência de alguns nutrientes fundamentais para o crescimento e desenvolvimento da planta. O nitrogênio é um dos principais nutrientes encontrado no solo em quantidades menores que a recomendada para o feijoeiro (CABALLERO *et al.*, 1985).

O nitrogênio (N) é também o nutriente absorvido e extraído em maior quantidade (SOARES *et al.*, 2006). A sua absorção ocorre praticamente durante todo o ciclo, sendo a máxima exigência no florescimento, fundamental para o desenvolvimento das vagens e sementes da planta (JUNIOR, 2011).

A dose da adubação nitrogenada recomenda é de 40 kg/ha na base e 80kg/ha na floração que ocorre entre 25 a 30 DAE (Dias Após a Emergência) dependendo do cultivar (HAAG, *et al.* 1967).

A adubação nitrogenada no feijão em sua grande maioria é realizada através de fontes minerais, tais como a ureia. Considerando-se que algumas regiões do Brasil possuem elevados índices pluviométricos, isso pode ocasionar perdas de até 50% dos adubos nitrogenados por lixiviação, elevando os custos econômico e o impacto ambiental (SIQUEIRA *et al.*, 1994; STRALIOTTO *et al.*, 2002 apud PELEGRIN, *et al.*, 2009). Desta forma sugere-se a necessidade do uso de tecnologias economicamente mais acessíveis e com menor impacto ao meio ambiente.

2.3 INOCULAÇÃO NA CULTURA DO FEIJÃO

Uma alternativa para substituir ou reduzir as adubações nitrogenadas é a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (EMBRAPA, 2016). Para a fixação biológica de nitrogênio ser uma alternativa viável, essa precisa suprir a demanda de nitrogênio da planta, que é necessária para seu crescimento vegetativo e sua produção (JUNIOR, 2011). Além da economia financeira, pode diminuir os gases do efeito estufa (GEE), reduzindo suas consequências e a contaminação de recursos hídricos (MENDES, 2007).

De acordo com Mendes *et al.*, (1995), o potencial estimado de fixação biológica de nitrogênio da cultura de feijão é de 30 kg/ha. Essa quantidade não seria suficiente para atingir o potencial produtivo do feijoeiro que pode chegar a níveis superiores a 3000kg/ha.

Para conseguir essa produtividade a demanda de nitrogênio é superior a 60kg/ha. Considerando a grande demanda do nutriente pelo feijoeiro, a fixação biológica de nitrogênio, atualmente na cultura, pode não ser suficiente (PEREIRA, 2000).

Entretanto, devido ao potencial que a FBN apresenta, diversos estudos indicam a possibilidade de substituir parcialmente a adubação nitrogenada. Porém, ainda só com a FBN não foi possível alcançar o potencial produtivo das plantas (FONSECA, 2011).

A resposta aos inoculantes no campo, ainda mostram resultados instáveis, havendo diversos fatores que podem limitar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FONSECA, 2011).

2.4 PRINCIPAIS FATORES LIMITANTES À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N

As vantagens da inoculação podem ser perdidas, pela influência de fatores bióticos e abióticos. Entre os fatores abióticos, as altas temperaturas são um dos mais limitantes para a formação e desenvolvimento dos nódulos, principalmente, quando combinado com o estresse hídrico (JUNIOR e REIS, 2008). Mesmo não estando associada ao estresse hídrico, as altas temperaturas são limitantes a FBN e podem afetar todas as fases da associação, principalmente, a fase inicial da nodulação, pois é o período de comunicação química entre a planta e a bactéria. Também, podem afetar a sobrevivência das bactérias no solo (MERCANTE *et al.*, 1998; HUNGRIA; VARGAS; ARAUJO, 1997).

Em condições de deficiência hídrica, a planta desencadeia uma cascata de reações, resultando na diminuição de pelos radiculares, em menor área para formação de nódulos e em alguns casos, até o abortamento de alguns já existente (GOORMACHTING *et al.*, 2004 apud JUNIOR; REIS, 2008).

Além dos fatores abióticos, fatores bióticos podem interferir na fixação biológica de nitrogênio, por exemplo os relacionados com o melhoramento genético do feijoeiro (GRAHAM; ROSAS, apud STRALIOTTO; TEIXEIRA, 2000). As cultivares melhoradas foram selecionadas para responder à presença de adubos nitrogenados, dificultando a capacidade de fixação biológica de nitrogênio. Além da resposta à adubação nitrogenada, o melhoramento buscou selecionar plantas de ciclo curto, o que pode ser um problema para a simbiose, em função do tempo de resposta para a nodulação (ARAÚJO, MUNHOZ, HUNGRIA 1996; ANDRADE, 2001). Geralmente, a nodulação ocorre de 15 a 20

dias após a emergência. Por esse motivo, cultivares com ciclo mais tardio apresentam resultados melhores na FBN, pois o período é maior para assimilar o N através da simbiose (BRITO, 2013).

Um outro fator biológico que pode influenciar a FBN é a baixa competitividade do rizóbio presente nos inoculantes comerciais em relação à microbiota do solo, devido à falta de adaptação às condições edafoclimáticas (DENARDIN, 1991). Sabe-se que o sistema radicular do feijoeiro é superficial, desta forma as bactérias ficam expostas as variações de temperatura do ambiente ao longo do ciclo a cultura (ANDRADE, 2011 apud FONSECA, 2011).

A competitividade é a capacidade das estirpes de rizóbio em crescer, sobreviver e colonizar os sítios de nodulação independente dos outros rizóbios presentes no mesmo ambiente (LUPWAYI, RICE E CLAYTON apud FONSECA, 2011). A falta de resposta à inoculação pode estar, muitas vezes, ligada à presença de rizóbios nativos ou endógenos mais agressivos (MERCANTE, *et al.*, 1992). Sendo por isso, é necessário ampliar os estudos referentes a essa microbiota.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ORIGEM DOS RIZÓBIOS NATIVOS

Os rizóbios foram isolados em 2016, de nódulos de feijão cultivado em solos da região de Horizolândia, distrito de Curitibanos, pela aluna Janaína Lisot, com a finalidade da realização do seu TCC, do curso de agronomia da UFSC Curitibanos. Foram obtidos 38 isolados que, atualmente, encontram-se na coleção de Microrganismo Promotores de Crescimento de Plantas, do Laboratório de Microrganismo Promotores de Crescimento de Plantas (LMPCP), UFSC – Curitibanos – SC.

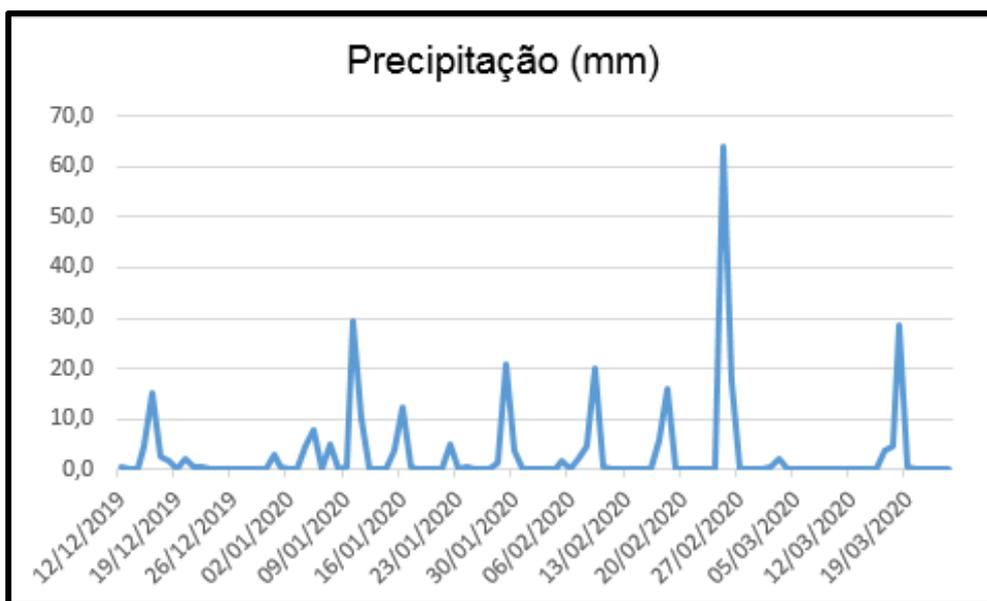
Os isolados RBZ14 e o RBZ15 foram os escolhidos, pois já obtiveram resultados significativos em experimentos anteriores. Esses foram testados em laboratório pela aluna Camila Wibbelt em 2019 e a campo pelo aluno Matheus Aroni em 2019, dando origem a dois dos seis tratamentos deste trabalho.

3.2 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA

O experimento foi conduzido na área experimental agropecuária da Universidade Federal de Santa Catarina – *campus* Curitibanos cujo solo predominante na região é classificado como Cambissolo háplico de textura argilosa (EMBRAPA, 2016) A altitude local é de aproximadamente 1000 metros. O clima da região é classificado, segundo Köppen-Geiger, como Cfb temperado – mesotérmico úmido e verão ameno – com precipitação média anual variando entre 1500 a 1700 mm, e temperatura média anual de 17°C.

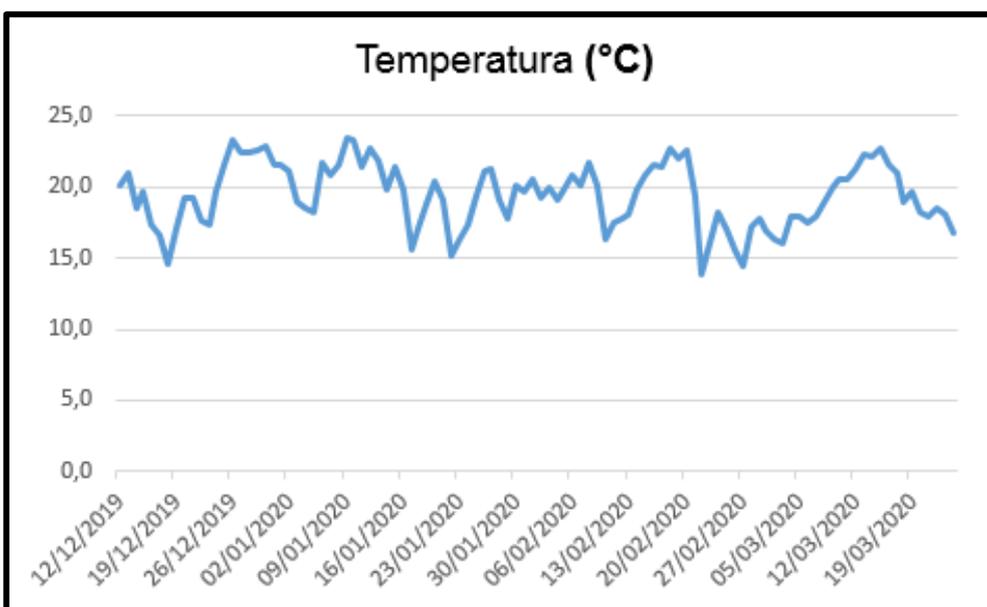
Segue nas Figuras 1 e 2 a precipitação e a temperatura durante a condução do experimento a campo.

Figura 1 – Precipitação durante a condução do experimento, Curitibanos - SC.



Fonte: Estação Meteorológica da Área Experimental - UFSC Curitibanos (CIRAM/EPAGRI), 2019 – 2020

Figura 2 – Temperatura durante a condução do experimento, Curitibanos - SC.



Fonte: Estação Meteorológica da Área Experimental - UFSC Curitibanos (CIRAM/EPAGRI), 2019 – 2020

3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram T1 e T2

- (inoculação dos isolados RBZ14 e RBZ15, respectivamente); T3 - inoculante comercial, com a estirpe padrão CIAT899 (*Rhizobium tropici*); T4 – 120kg/ha, correspondendo a 100% da dose recomendada de nitrogênio para o feijão; T6 – 60kg/ha correspondendo a 50% da dose de N; e T7 - testemunha, sem inoculação e sem adubação nitrogenada.

Os parâmetros avaliados na fase de florescimento (44 DAE) foram massa da parte aérea, massa da parte radicular, e massa dos nódulos ativos e inativos. Nessas avaliações foram feitas massas úmida e seca. Foi realizado o teor de N foliar com a parte aérea total seca. Na colheita foi avaliada a produtividade (kg/ha) e o teor de N dos grãos.

Após a obtenção dos dados e a verificação que os pressupostos na ANOVA foram cumpridas, esses foram submetidos à análise de variância e havendo significância, as médias comparadas pelo método de Scott-Knott a 5% de significância usando o software R (R CORE TEAM, 2015).

3.5 PREPARO DOS INOCULANTES DOS ISOLADOS

O preparo do inoculante foi realizado no laboratório de Microbiologia do *campus* de Curitibanos da UFSC. Três frascos contendo 5 mL de meio de cultivo LB (Lurian Bertani) líquido foram inoculados com os isolados RBZ14 e RBZ15. O último foi mantido sem inoculação, servindo como testemunha. Todos foram incubados a 28°C por 24 horas. Passado esse período, foram transferidos 1 mL de cada suspensão bacteriana e do meio sem inoculação para os frascos com 0,2g de turfa esterilizada, que permaneceram por três dias incubados a 28°C. No dia da semeadura, amostras de 132 sementes foram misturadas a cada um dos inoculantes. Foi adicionado 0,6 mL de solução açucarada a 10%. As proporções de turfa, sementes e solução açucarada foram baseadas nas recomendações dos fabricantes de inoculante. Já a inoculação da estirpe padrão CIAT899 se baseou nas instruções do fabricante do inoculante comercial.

Após as inoculações, as sementes secaram à sombra até o momento da semeadura.

3.6 INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

A adubação foi calculada de acordo com a análise de solo (Tabela 1). Adubação de base foi realizada para todos os tratamentos no dia 11 de dezembro de 2019, com 45kg/ha de P₂O e 55kg/ha de K₂O, e os fertilizantes utilizados foram MAP e cloreto de potássico como fonte de P e K respectivamente. A semeadura ocorreu no dia 12 de dezembro de 2019 (Figura 3) e foi realizada de maneira manual nas linhas abertas pela plantadora. A adubação de base com N foi realizada somente para os tratamentos com 100% e 50% da dose de N, 84kg/ha e 42kg/ha respectivamente e o fertilizante utilizado foi a ureia. Foi realizado o cultivo mínimo na área. A adubação de cobertura ocorreu no estágio fenológico entre V3 – V4 (35 DAE) somente com N, e para os tratamentos com 100% e 50% da dose de N, e as doses foram de 84kg/ha e 42kg/ha respectivamente.

A área onde foi implantado o experimento já estava no sistema de plantio direto a vários anos, e as culturas antecessoras foram feijão como cultura de verão e azevém no inverno.

Tabela 1 – Propriedades químicas do solo antes da implantação do experimento.

Propriedades	Amostras (0-20 cm)
pH Água	4,80
P (mg dm ⁻³)	6,63
K (cmol _c dm ⁻³)	0,16
Ca ² (cmol _c dm ⁻³)	2,3
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,83
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,11
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	12,13
MO (g dm ⁻³)	49,88
SB (cmol _c dm ⁻³)	4,29
CTC pH7 (cmol _c dm ⁻³)	16,42
Zn (mg dm ⁻³)	1,20
Fe (mg dm ⁻³)	53,20
V (%)	26,13
Mn (mg dm ⁻³)	13,50
Cu (mg dm ⁻³)	7,80

Fonte: Autor

Figura 3 – Instalação do experimento na Fazenda experimental campus de Curitibanos da UFSC.



Fonte: Autor

Cada parcela foi composta por quatro linhas de semeadura espaçadas de 0,45 metros, com 3 metros de comprimento, totalizando 5,40 m²/parcela. A área útil de cada parcela foram as duas linhas centrais, desconsiderando as bordaduras que foram de meio metro, logo a área útil foi de 2,27 m². O espaçamento entre plantas foi de 9,09 cm (11 plantas/m), resultando em 132 sementes por tratamento.

A distribuição dos tratamentos foi sorteada pelo programa R Studio e está representada na Figura 4.

Figura 4 – Distribuição dos tratamentos na área experimental.

Bloco 1	T4	T2	T3	T1	T5	T6
Bloco 2	T6	T2	T5	T3	T1	T4
Bloco 3	T1	T6	T3	T2	T5	T4
Bloco 4	T5	T6	T2	T4	T3	T1

T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

3.7 CARACTERIZAÇÃO DA CULTIVAR

A cultivar de feijão utilizada para a realização do trabalho foi a IPR tuiuiú, grão preto com ciclo médio de 88 dias da emergência até a colheita. O florescimento se dá em média com 43 dias após a emergência, possui hábito de crescimento indeterminado, porte ereto, potencial produtivo máximo em sequeiro de 3.950kg/hectare (IAPAR, 2016).

A dificuldade para aquisição de sementes certificadas sem nenhum tipo de tratamento químico foi um fator limitante para a escolha do cultivar.

3.8 TRATOS CULTURAIS

Durante o ciclo da cultura foram realizados controle de plantas daninhas manualmente e aplicações de fungicidas e inseticidas a fim de evitar danos por pragas e doença.

No dia 18 de janeiro de 2020 foi registrado a presença da Vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e para o seu controle foi realizada a aplicação do inseticida do grupo piretróide e no dia 13 de março de 2020 foi aplicado fungicida Mancozebe para controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) que foi observado na área do experimento como mostra a figura 5.

Figura 5 - Folha de feijoeiro com sintoma de antracnose



Fonte: Autor

3.9 PARÂMEROS AVALIATIVOS

Na fase de florescimento do feijão (44 DAE) em que cerca de 50% das flores estavam abertas, foram coletadas cinco plantas e colocada em sacos de papel. Em seguida foram fechados, para serem conduzidas ao laboratório de microbiologia.

3.9.1 Massas da raiz e parte aérea – úmida e seca

No laboratório de microbiologia as plantas foram divididas em duas partes: parte aérea e raiz. Desses foram mensurados o peso úmido, com auxílio de uma balança semi-analítica. Após, o material foi levado para estufa de ventilação forçada a 50°C, por aproximadamente uma semana, até peso constante. Posteriormente, foi feita pesagem para determinação da massa seca.

3.9.2 Massa total de nódulos – ativos e inativos

Antes da verificação da massa da raiz foram retirados os nódulos e separados para a quantificação da massa dos nódulos ativos e inativos. Os ativos foram os que apresentaram coloração avermelhada em seu interior, típico de atividade da leghemoglobina (STRALIOTTO; TEIXEIRA; MERCANTE, 2002). As massas úmidas e secas dos nódulos foram determinadas como descrito acima para a parte aérea e raízes.

A eficiência da nodulação foi calculada dividindo a massa dos nódulos ativos úmidos com a massa total de nódulos úmidos.

3.9.3 Nitrogênio total da parte aérea

Foi realizada a moagem da parte aérea seca, para a análise do teor de nitrogênio, pelo método Kjeldahl descrito por Tedesco (1995).

O acúmulo de N foi calculado multiplicando o teor do nitrogênio total da parte aérea com a massa seca da parte aérea.

3.9.4 Produtividade de grãos

No dia 24 de março de 2020 foram colhidas 22 plantas por parcela e colocadas em sacos de papel. Em seguida foram conduzidas ao laboratório da área experimental da UFSC – Curitibanos (Figura 6), onde ficaram por aproximadamente uma semana até que a umidade chegasse próxima a 13%, parâmetro para armazenagem.

Figura 6 – Plantas colhidas ao final do experimento.



Fonte: Autor

Com a umidade a 13% foi feita a pesagem dos grãos e determinada a produção da área útil da parcela, posteriormente feita uma conversão para kg/ha.

3.9.5 Teor de nitrogênio do grão

Foi realizada a moagem dos grãos, para a análise de nitrogênio, pelo método Kjeldahl descrito por Tedesco (1995).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A comparação de médias constatou que houve diferença significativa entre os tratamentos para o parâmetro massa da parte aérea, como mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Efeito na inoculação de rizóbios na massa da parte aérea do feijão cultivar tuiuiú, Curitiba (SC), 2019.

Tratamentos	Massa da Parte aérea úmida (g)	Massa da Parte aérea seca (g)
RBZ14	25,10 c	4,37 c
RBZ15	27,16 c	4,68 c
CIAT899	22,75 d	3,95 d
Nitrogênio 100%	39,15 a	6,80 a
Nitrogênio 50%	31,21 b	5,39 b
Testemunha	20,63 d	3,53 d
Cv (%)	22,59	22,81

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

Os tratamentos com isolados RBZ14 e RBZ15 se diferenciaram estatisticamente da CIAT899 e da testemunha (Tabela 2), em ambos os parâmetros, sugerindo melhor desenvolvimento vegetal. Segundo Faquin (2005), o nitrogênio é um dos nutrientes exigidos em maior quantidade pelas plantas, constituindo de 2 a 5% da matéria seca dessas, pois está diretamente ligado à composição de aminoácidos e proteínas, constituinte de macromoléculas e enzimas. O nitrogênio é o mineral que mais limita o crescimento vegetativo e a produção de biomassa na maioria das culturas (SANTOS; FREITAS; FREITAS, 2020).

A estirpe CIAT899 pode apresentar bons resultados na Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), como mostrado por Wibbelt (2019). Porém, a espécie *Rhizobium tropici* utilizada no inoculante padrão (estirpe CIAT899) foi isolada em condições edafoclimáticas diferentes, principalmente com relação a temperatura. (GRAHAM, 1992; HUNGRIA *et al.*, 2000; FERREIRA, 2010). O presente trabalho foi realizado em campo na cidade de Curitiba - SC cujas condições ambientais são características de clima serrano, com temperaturas

amenas e chuvas bem distribuídas (CLIMATE-DATA, 2019). Esse fator pode ter interferido na FBN da CIAT899 e por esse motivo, igualou se estatisticamente à testemunha.

Como os isolados RBZ14 e RBZ15 foram isolados por Lisot (2017) em solos do Planalto Catarinense da microrregião de Curitiba, e estão ambientados as condições climáticas da microrregião, podendo ser essa uma possível explicação para os isolados sobressaírem em relação a estirpe CIAT899.

Tabela 3 – Efeito na inoculação de rizóbios na massa da raiz do feijão cultivar tuiuiú.

Tratamentos	Raiz úmida (g)	Raiz seca (g)
RBZ14	2,90 b	0,88 b
RBZ15	3,23 b	0,99 b
CIAT899	2,89 b	0,89 b
Nitrogênio 100%	3,91 a	1,20 a
Nitrogênio 50%	3,62 a	1,11 a
Testemunha	3,05 b	0,94 b
Cv (%)	19,08	18,89

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

Os tratamentos que receberam 100% e 50% da dose recomendada de nitrogênio se diferenciaram estatisticamente dos tratamentos com inoculação e a testemunha. Esses resultados sugeriram que os tratamentos que não receberam a dose de N tiveram em alguma parte do seu ciclo, um período de insuficiência de N (HUNGRIA *et al.*, 1998). Brito (2015) testou a nodulação e a efetividade de fixação dos nódulos em condições de solução nutritiva com N e com isolados sem adubação de N, com cinco cultivares de feijão, sendo essas Radiante, Jalo precoce, Ouro negro, Pontal e Valente. Os resultados obtidos foram similares aos do presente trabalho que apresentaram maior massa de parte radicular para as plantas que receberam adubação nitrogenada.

Não houve diferença significativa entre a testemunha e os isolados RBZ14, RBZ15 e CIAT899 para massa da raiz úmida e seca da cultivar IPR

Tuiuiú. Porém, o trabalho realizado por Wibbert (2019) com a cultivar Dama apresentou diferença estatística para massa da raiz úmida quando coinoculada com a CIAT899 + RBZ14, sugerindo que a cultivar do feijoeiro influencia na nodulação.

Tabela 4 – Efeito na inoculação de rizóbios na massa dos nódulos ativo do feijão cultivar tuiuiú.

Tratamentos	Nódulo ativo úmido (cg)	Nódulo ativo seco (cg)
RBZ14	0,927 b	0,319 a
RBZ15	1,062 b	0,368 a
CIAT899	1,185 a	0,375 a
Nitrogênio 100%	0,011 c	0,004 b
Nitrogênio 50%	0 c	0 b
Testemunha	1,214 a	0,386 a
Cv (%)	41,35	41,23

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

O CV foi alto para os parâmetros avaliativos massa de nódulos ativos (úmido e seco) e massa de nódulos inativos (úmido e seco), o que é normal para essas avaliações. O mesmo aconteceu no trabalho de Wibbert (2019) que para massa de nódulos obteve CV de 42,38%. Isso aconteceu, pois, os dados coletados foram muitos discrepantes dentro do mesmo tratamento.

A testemunha e a CIAT899 apresentaram as maiores médias de nódulos ativos (úmidos). A média da testemunha se deu possivelmente, devido à existência de comunidade de rizóbios estabelecida no solo, podendo ocorrer a nodulação (DIALLO *et al.*, 2004; JOHNSTON; LI; OGILVIE, 2005). Além disso, o feijão comum é conhecido pela sua grande capacidade de nodulação com diversas espécies de rizóbios (BRITO *et al.*, (2015). Como não houve inoculação na testemunha, a comunidade de rizóbios do solo, possivelmente, não encontrou competição por sítios de nodulação. Fato semelhante pode ter ocorrido no tratamento inoculado com a CIAT899, devido a sua dificuldade de sobrevivência nos solos da região.

Apesar da CIAT899 e a testemunha terem as maiores médias de massa de nódulos ativos não se mostraram tão eficientes, pois essa maior massa de nódulos ativos não resultou em maior matéria seca da parte aérea e teor de N foliar, quando comparados com os isolados RBZ14 e RBZ15, que tiveram menor massa de nódulos ativos quando comparados a testemunha e a CIAT899. Porém, tiveram maior massa da matéria seca da parte aérea e maior teor de N da matéria seca da parte aérea. Para a FBN eficiente, os nódulos devem ser grandes e de coloração intensa avermelhada, devido à presença e quantidade de leghemoglobina (Meyer *et al.*, 2015). Os nódulos ativos da CIAT899 e da testemunha não tinham coloração tão intensa quando comparados aos nódulos ativos dos isolados. Essa baixa eficiência na FBN pode ser evidenciada, observado a massa da parte aérea e a produtividade, pois esses foram os tratamentos que tiveram as maiores médias de massa de nódulos ativos, mas as menores médias de massa da parte aérea (tabelas 2 e 4).

Os tratamentos que tiveram adubação nitrogenada obtiveram as menores médias para massa de nódulos ativos e inativo (tabelas 4 e 5). A planta quando tem N disponível, não faz o investimento energético para a formação dos nódulos. Para as plantas que não tem essa disponibilidade de N, esse gasto inicial, é recuperado logo no início do ciclo vegetativo, trazendo grande retorno as plantas que não tem N disponível (HUNGRIA; CAMPO; MENDES; 2001).

Tabela 5 – Efeito na inoculação de rizóbios na massa dos nódulos inativos úmido e na eficiência da nodulação para o feijão cultivar tuiuiú.

Tratamentos	Nódulo inativo úmido (cg)	Nódulo inativo seco (cg)	Eficiência na nodulação (%)
RBZ14	2,478 b	0,809 b	27,3 a
RBZ15	2,549 b	0,842 b	29,4 a
CIAT899	4,711 a	1,539 a	20,01 b
Nitrogênio 100%	0,206 c	0,031 c	5,15 c
Nitrogênio 50%	0,412 c	0,056 c	0 c
Testemunha	2,538 b	0,823 b	32,03 a
Cv (%)	36,6	38,5	37,44

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

A CIAT899 se diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos, para o parâmetro avaliativo massa dos nódulos inativos (tabela 5). Observando a tabela 5, notou-se que a eficiência a nodulação da CIAT899 corresponde a 20%, valor inferior aos dos isolados que foram em média de 28%. Isso aconteceu, possivelmente, pois a CIAT899 foi isolada de condições edafoclimáticas diferentes, principalmente com relação a temperaturas. Essa estirpe é mais resistente a condições de temperatura altas e solos mais ácidos (FERREIRA, 2010; GRAHAM, 1992; HUNGRIA *et al.*, 2000).

Os tratamentos com os isolados e CIAT899 obteve maior massa de nódulos inativos que ativos na fase de florescimento, época em que aconteceu a coleta para avaliação. Esse comportamento não é comum, pois nessa época, a maioria dos nódulos deveria estar ativa. Porém, isso é o que, normalmente, acontece quando se tem algum fator limitante a FBN, como o ciclo curto da cultura (URQUIAGA; ZAPATA, 2000). Pois existe um curto período vegetativo destinado à nodulação e a FBN, e com o ciclo curto esse período não é o suficiente para ativação desses nódulos (FRANCO *et al.*, 1978).

Tabela 6 – Efeito na produtividade do feijão cultivar tuiuiú da inoculação de isolados de rizóbio

Tratamentos	Produtividade (Kg/ha)
RBZ14	1413,6 b
RBZ15	1484,6 b
CIAT899	1278,0 b
Nitrogênio 100%	1741,0 a
Nitrogênio 50%	1608,5 a
Testemunha	1239,4 b
Cv (%)	14,14

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

Ocorreu variação significativa entre os tratamentos para a produtividade. A amplitude de variação foi de 1.239,4 a 1.741,0 Kg/ha (Tabela 6). A testemunha apresentou a menor média com 1.239,4kg/ha. Esse resultado foi maior que o esperado, pois esse tratamento não recebeu adubação nitrogenada e não foi

inoculada. Isto pode ter ocorrido, pois, o tratamento testemunha pode ter sido beneficiado pela presença da comunidade de rizóbios presente no solo.

Os tratamentos com a inoculação dos isolados não se diferenciaram estatisticamente da CIAT899 e da testemunha. Porém, houve acréscimo de 120kg/ha (dois sacos) com a inoculação do RBZ14 em relação à CIAT899. O isolado RBZ15 alcançou média mais significativa, com 205kg/ha (3,4 sacos) a mais que a CIAT899. Essa diferença se deu, possivelmente, pelo fato que a CIAT899 devido à reduzida adaptação da estirpe, influenciando em sua efetividade, já que em Curitiba a temperatura média anual de 17°C (BARETTA *et al.*, 2005; KÖPPEN; GEIGER, 1928). Essas condições podem ter dificultado a sua sobrevivência, frente aos mais adaptados.

Os tratamentos que receberam adubação nitrogenada se diferenciaram estatisticamente dos demais tratamentos. Porém resultado obtidos por Soares *et al.* (2006) que em experimento com a cultivar Talismã testaram a inoculação de feijão com isolados, estirpe padrão (CIAT899) e usando a adubação nitrogenada no município de paredões – MG, e obtiveram resultados em que os isolados se igualaram estatisticamente com a CIAT899 e à adubação nitrogenada para a produtividade.

O trabalho realizado por BRITO *et al.*, (2015) em que compararam diferentes fontes de N para a cultura de feijão, com as cultivares Carioca e Ouro Negro no município de Valença – RJ, observaram que com a inoculação da estirpe BR 923 de rizóbio chegou a mais de 2000kg/ha para a cultivar Ouro negro e quase 2000kg/ha para a cultivar carioca. Resultados como de SOARES *et al.*, (2006) e BRITO *et al.*, (2015) mostraram que a FBN no feijoeiro, futuramente, pode substituir a adubação nitrogenada como aconteceu para a soja (HUNGRIA *et al.*, 2001). Em alguns casos, com determinadas cultivares e condições favoráveis já se obtém resultados parecidos com os da adubação nitrogenada, evidenciando que estudos nessa área devem continuar para melhor compreensão da associação da planta com bactérias fixadoras de N, com isso diminuindo custo para produção do feijoeiro e impactos ambientais (RESENDE, 2002).

Tabela 7 – Efeito no teor de nitrogênio da parte aérea total e o acúmulo de N no feijão cultivar tuiuiú

Tratamentos	Nitrogênio parte aérea total (g/kg)	Acúmulo de N no feijoeiro
RBZ14	16,09 d	70,4 c
RBZ15	17,16 c	80,3 c
CIAT899	11,92 e	47,2 d
Nitrogênio 100%	23,81 a	161,7 a
Nitrogênio 50%	22,11 b	120,2 b
Testemunha	11,09 e	39,2 d
Cv (%)	8,12	25,71

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

Para o parâmetro avaliativo teor de nitrogênio da parte aérea total houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 7). Para uma planta de feijão estar adequadamente nutrida com N, essa deve possuir de 30 – 50 g de N/kg de parte aérea (MALAVOLTA; MORAES, 2006). Entretanto, todos os tratamentos atingiram teores inferiores a 30g de N/kg de parte aérea, sem sintomas de clorose, como mostra a Figura 7, inclusive nas folhas mais velhas o que seria um indicador de deficiência de nitrogênio (MIRANDA *et al.*, 2010). A deficiência de nitrogênio é percebida nas folhas mais velhas, por se tratar de um nutriente móvel dentro da planta que é facilmente translocado para as folhas mais jovens (SILVA, *et al.*, 2006).

Figura 7 – Plantas de feijão sem sintomas de clorose



Fonte: Autor

Alguns trabalhos como de ARONI (2020), também obtiveram valores inferiores a 30 g de N/kg em todos os tratamentos adubados com nitrogênio e os inoculados também não se diferenciaram.

Os tratamentos com a CIAT899 e a testemunha tiveram valores inferiores aos isolados (Tabela 7). Tais resultados sugerem que os isolados podem ter favorecido a translocação do N para a parte aérea. Porém, estatisticamente não se diferenciaram. Para ter certeza do que realmente aconteceu seriam necessários testes fisiológicos na planta e repetir mais vezes o experimento para verificar se tais resultados condizem. O CV foi de 8,12% demonstrando que os dados analisados tinham uma pequena variância dentro do mesmo tratamento.

O tratamento com a CIAT899 obteve valores inferiores aos isolados. Isto pode indicar que provavelmente houve dificuldade de adaptação da bactéria padrão frente às condições de solos e clima da região. As temperaturas noturnas de Curitiba – SC são muitas baixas quando comparados ao local de isolamento da estirpe CIAT899 (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001). Esse fator pode ter sido o impeditivo. Ficando evidente que os isolados podem ser uma boa alternativa na inoculação do feijoeiro comum na microrregião de Curitiba.

Tabela 8 – efeito no teor de nitrogênio do grão do feijão cultivar tuiuiú

Tratamentos	Nitrogênio grão (g/kg)
RBZ14	16,97 a
RBZ15	17,47 a
CIAT899	16,96 a
Nitrogênio 100%	18,56 a
Nitrogênio 50%	17,68 a
Testemunha	15,83 a
Cv (%)	9,91

Médias seguidas de mesma letra, não diferem pelo método de Skott-Knott a 5% de significância. T1 – Isolado RBZ 14; T2 – Isolado RBZ 15; T3 – Estirpe CIAT899; T4 100% da dose recomendada de N (120kg/ha); T5 – 50% da dose recomendada de N (60kg/ha); T6 – testemunha.

Para o parâmetro avaliativo teor de nitrogênio do grão não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 8). Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos como do Pelegrin *et al.*, (2009) e Aroni (2020) quando compararam a eficiência da nodulação do feijão com a dose recomendada de nitrogênio, e os tratamentos não se diferenciaram entre si.

Em treze cultivares testadas por Fidelis *et al.*, (2019), mesmo em condições em que o nitrogênio se encontrava em quantidade suficiente para o crescimento e desenvolvimento do feijoeiro, não foram observados acúmulos de N nos grãos, independente da dose de nitrogênio aplicada.

Como no presente trabalho e os citados acima, a disponibilidade de N que a cultura teve durante seu ciclo não alterou o teor de N no grão (PESSOA, 1998). O feijão cultivado em solos com alta doses de N aplicadas, podem ter baixas quantidade de nitrogênio no grão, devido ao acúmulo do elemento nos tecidos (SILVA *et al.*, 2006). Entretanto por participar da composição de aminoácidos, o N tem relação direta com o teor de proteínas nos grãos (MALAVOLTA; VITI; OLIVEIRA, 1997). Existe relação direta entre diminuição de N do grão com a diminuição do valor protéico do grão (SILVA *et al.*, 2006).

5 CONCLUSÃO

Os isolados RBZ14 e RBZ15 foram mais eficientes que a estirpe recomendada CIAT899, no acúmulo de massa da parte aérea e no teor de N a parte aérea total. Os isolados não se diferenciaram da CIAT899 com relação à produtividade. Entretanto, houve incremento de 120kg/ha, com a inoculação de RBZ14 e de 205kg/ha, com o RBZ15 quando comparados com a estirpe recomendada. Esses resultados sugeriram que os isolados possuem capacidade de estímulo ao desenvolvimento do feijoeiro nas condições edafoclimáticas de Curitiba, sendo necessários mais estudos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. J. B. *et al.* Resposta do feijoeiro as ás adubações nitrogenadas e molibdica e a inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, 4, p. 930 – 940, Jul., 2001.

ARAÚJO, F. F. DE; MUNHOZ, R. E. V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, p.435-443, 1996.

ARONI, M. **Avaliação de nodulação eficiência de rizóbios isolados em solos do município de Curitiba - Santa Catarina 2020**. 40 p. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2020.

BARETTA, D.; SANTOS, J. C. P.; FIGUEIREDO, S. R.; KLAUBERG, F. O. **Efeito do monocultivo de Pinus e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no Planalto Sul Catarinense**. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* [online]. 2005, vol.29, n.5, pp.715-724. ISSN 1806-9657. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832005000500007>.

BRITO, L. F. **Iniciação da nodulação em cultivares de feijoeiro**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, UFRJ, Seropédica, 2013. Disponível em: [http://www.ia.ufrj.br/cpacs/arquivos/teses_dissert/383_\(ME-2013\)_Luciana_Fernandes_de_Brito.pdf](http://www.ia.ufrj.br/cpacs/arquivos/teses_dissert/383_(ME-2013)_Luciana_Fernandes_de_Brito.pdf). Acesso em: 02 nov. 2020.

BRITO, Luciana Fernandes de *et al.* Resposta do Feijoeiro Comum à Inoculação com Rizóbio e Suplementação com Nitrogênio Mineral em Dois Biomas Brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 4, p. 1-43, ago. 2015.

CABALLERO, U. *et al* **Utilização do fertilizante nitrogenado aplicado a uma cultura de feijão**. 1985. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/16178/10352>> Acesso em 18 Abr: 2019.

CARVALHO A. R. REIN T. A. **Eficiência de uso de nitrogênio em sistemas agrícolas no cerrado**. Pelotas: Cultivar, 21 abr. 2019. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/eficiencia-de-uso-de-nitrogenio-em-sistemas-agricolas-no-cerrado>>. Acesso em: 21 abr. 2019.

CLIMATE-DATA.ORG. **Climograma Curitiba-SC**. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/santa-catarina/curitiba-28590/>. Acesso em: 30/10/2020.

CONAB. Monitoramento Agrícola, Volume 6 – Safra 2018/2019 **companhia nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira : V.6-safra 2018/2019**. 5. ed. Brasília: Conab, 2018. 56-70 p.

de **Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 6, p.567-573, jan. 2014.

DENARDIN, N. D. **seleção de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phsaoli* tolerantes a fatores de acidez e resistente a antibióticos**. 1991. 89f. Dissertação (Mestrado em solos e nutrição de plantas) – Escola superior de agricultura luiz de queiroz, piracicaba, 1991.

DIALLO, M.D. *et al.* Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the N₂ -fixing bacterial diversity in soil under *Acacia tortilis* ssp. *Raddiana* and *Balanites aegyptiaca* in the dryland part of Senegal. *Environmental Microbiology*, Washington, v. 6, p. 400–415, 2004.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Cerrados. **Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)**, 2016.

EPAGRI, **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina**. V.1 N. 203. Santa Catarina 2017.

FAO. Iniciativa regional da FAO aponta agricultura familiar como promotora do desenvolvimento rural sustentável e a agenda 2030. **Organização da Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura**, n.10, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1043666/> Acesso em: 24/10/2019.

FAOSTAT. Crops. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 21 nov. 2020.

FAQUIN, V. NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” a Distância: Solos e Meio Ambiente, Universidade Federal de Lavras, 2005.

FERREIRA, P. A. A. Eficiência Simbiótica de Estirpes de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio em Feijoeiro e Sua Tolerância a Acidez e Alumínio “In Vitro”. Dissertação, **UFLA**, Lavras- Minas Gerais, 2010.

FIDELIS, R. R. *et al.* Determinação do teor de proteína em genótipos de feijão comum cultivados em diferentes níveis de nitrogênio. **Ambiência**, Guarapuava, v. 15, n. 1, p. 161-172, abr. 2019.

FRANCO, A. A.; PEREIRA, J.C.; NEYRA, C. A. seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*, v63, p.421-424, 1979.

FONSECA, G. G. **Resposta de cultivares de feijoeiro comum a inoculação das sementes estirpes de rizóbios de Minas Gerais**. 2011. 166 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1785/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_R

esposta%20de%20cultivares%20de%20feijoeiro-comum%20%C3%A0%20inocula%C3%A7%C3%A3o%20das%20sementes%20com%20estirpes%20de%20riz%C3%B3bio%20em%20Minas%20Gerais.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2019.

FUSCALDI, K. C.; PRADO, G. R. **Análise econômica da cultura do feijão**. v. 14. N. 14. 2004.

GRAHAM, P. H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 475-484, 1992.

HAAG. *Et al.* **CONHEÇA AS MELHORES PRÁTICAS DE ADUBO PARA FEIJÃO**. 1967. Disponível em: <https://blog.aegro.com.br/adubo-para-feijao/#:~:text=Diferente%20da%20soja%2C%20no%20feij%C3%A3o,de%20tecnologia%20e%20produtividade%20esperada..> Acesso em: 04 nov. 2020.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGIAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology e Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 11/12, p. 1515-1528, 2000.

Hungria, M.; BODDDEY, L. H.; SANTOS, M. A.; VARGAS, M. A. T. nitrogen fixation capacity and nodule occupancy by bradyrhizobium japonicum and *B. elkanii* strains. **BIOLOGY AND FERTILITY OF SOILS, Berlin V. 27, p. 393-399, 1998.**

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**: 2001 Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/459673/1/circTec35.pdf>>. Acesso em: 17 ago, 2019.

Hungria, M.; VARGAS, M.A.T.; ARAUJO, R.S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro in: VARGAS, M.A.T., HUNGRIA, M. (Eds). *Biologia dos solos dos cerrados*. EMBRAPA-CPAC, p 1-295, 1997.

IAPAR. Principais características das cultivares de feijão com sementes 2016 disponíveis no mercado. Disponível em. Acesso em: 22 out 2020.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios**: Rio de Janeiro, 2018.

JOHNSTON, A.W.B.; LI YOUGUO; L. O. Metagenomic marine nitrogen fixation: feast or famine? *Trends in Microbiology*, Amsterdam, v. 13, n. 9, p. 416–420, 2005.

JUNIOR, M. J. V. *et al.* **Inoculação de genótipos de feijão carioca com bactérias diazotróficas**. Goiás. v. n. 1. 2011.

JUNIOR, P. I. V.; REIS, V.M. **Algumas limitações para fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica. V. n. 40. 2008.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928. Wall-map 150cmx200cm.

LISOT, J. **caracterização e seleção de rizóbios isolados do planalto catarinense para inoculação em feijoeiro - comum (*phaseolus vulgaris* L.)**. 2017. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017.

LOLLATO, M. A., SEPULCRI, O., DEMARCHI, M. **Cadeias produtivas do feijão**. IAPAR- Instituto agrônomo do Paraná Londrina-PR.2001 Disponível em :< http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/doc25.pdf>. Acesso em 25 Mar. 2019.

MALAVOLTA, E.; MORAES, F. M. **O nitrogênio na agricultura brasileira**. São Paulo, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações*. Piracicaba, Potafós, 1997. 308p.

MARTINS N.M., *et al.* **Eficiência simbiótica de isolados de rizóbios nativos de Mato Grosso do Sul**, inoculados em guandu. 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/68495/1/053-Eficiencia-simbiotica-de-isolados-de-rizobios-nativos.pdf>. Acesso em: 25 Mar. 2019.

MATOSO, S. C. G.; KUSDRA, J. F. Nodulação e crescimento do feijoeiro em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizóbio. **Revista Brasileira** MENDES, C. V. *et al.* **Inoculação do feijoeiro em unai, MG**. Brasília. v. N. 16. 2007.

MENDES, I. C. *et al.* Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. **Revista Brasileira de ciência do solo**, viçosa, MG. v18, P 415- 435, 1995.

MERCANTE, F. M. *et al* *Leucaena leucocephala* as a trap – host for *Rhizobium tropici* strains from the brasilian “Cerrado” region **Revista de microbiologia**, São Paulo, v. 29, p. 49-58, 1998.

MERCANTE, F. M. *et al.* **a inoculação do feijoeiro-comum com rizóbio**. Seropedia EMBRAPA-CNPBS, 1992 8p.

MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.. Expressão dos genes nod de *Rhizobium tropici*, R. etli e R. leguminosarum bv. phaseoli e estabelecimento da nodulação do feijoeiro na presença de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 1-43, jun. 2000. Disponível em:

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-0683200000200007&script=sci_arttext. Acesso em: 15 jul. 2019.

MEYER, E.; CANEI, A. D.; ARMAS, R. D.; SOARES, C. R. F. S. Eficiência simbiótica de rizóbios isolados de áreas de restinga em *Phaseolus vulgaris* cv. Tangará. **Repositório Institucional UFSC**, 2015.

MIRANDA, R. D. S. *et al.* Deficiência nutricional em plântulas de feijão-de-corda decorrente da omissão de macro e micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 1-43, 2010.

PEIXOTO, R. **Fixação biológica de nitrogênio é alternativa para a cultura do feijão**. EMBRAPA- Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2235924/fixacao-biologica-de-nitrogenio-e-alternativa-para-a-cultura-do-feijao>> Acesso em 21 Mar 2019.

PELEGRIN, R. de *et al.* Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p.1-1, abr. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832009000100023>. Acesso em: 15 abr. 2019.

PEREIRA, E. G.; **Diversidade de rizóbio em diferentes sistemas de uso da terra da Amazônia**. 2000. 93p. Tese doutorado em agronomia – universidade federal de lavras, lavras, 2009.

PESSOA, A. C. S. **Atividade de nitrogenase e redutase do nitrato e produtividade do feijoeiro em resposta a adubação com molibdênio e fósforo**. Tese (Doutorado em solos e nutrição de plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RATZ, J.R.; *et al.* Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **ENGEVISTA**, v. 9, n. 4, p. 890-905, 2017. Disponível em:<<http://www.uff.br/engevista/seer/index.php/engevista/article/view/894>>. Acesso em: 21 mar. 2019.

RESENDE, A.V. **Agricultura e qualidade da água: Contaminação da Água Por Nitrato**. Embrapa Cerrados, Planaltina, n.57, p.29, 2002. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/546464/1/doc57.pdf>>. Acesso em: 30 mar, 2019.

SALVADOR, C. A. **Feijão-analise da conjuntura agropecuária**. SEAB-Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Nov. 2017 Disponível em :<

http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/_feijao_2017_18.pdf>. Acesso em 25 Mar. 2019.

SANTOS, A. T.; FREITAS, T. S.; FREITAS, T. S. **Impactos do uso de nitrogênio nas plantas e suas fontes**. 2020. Elaborada por ilsa. Disponível em: <https://ilsabrasil.com.br/impactos-do-uso-de-nitrogenio-nas-plantas-e-suas-fontes/#:~:text=O%20excesso%20de%20nitrog%C3%AAnio%20nos%20vegetais&text=Por%20estar%20diretamente%20relacionado%20%C3%A0,desenvolvimento%20reprodutivo%20lento%20e%20minimizado>. Acesso em: 26 out. 2020.

SILVA, T. R. B.; LEMOS, L. B.; TAVARES, C. A. **Produtividade e característica tecnológica de grãos em feijoeiro adubado com nitrogênio e molibdênio**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.41, n. 5, p.739-745, 2006.

SOARES, A.L.L. et al. Eficiência Agronômica de Rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, MG. II- Feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.30, n.5, p.803-811, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832006000500006&lng=pt&nrm=iso.

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

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G., MERCANTE, F.M. **Fixação biológica de nitrogênio**. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J., STONE, L.F. **Produção de feijoeiro comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2002. p.122-153.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A. *et al.* **Análise do solo, planta e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de solos, 1995. 174p.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. **Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe**. Porto Alegre: Gênese, 2000. 110p.

WIBBELT, C. K. **Eficiência na FBN de isolados de rizóbios de solos da região de Curitiba em feijoeiro**. 2019. 36 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2019.

XAVIER, G. R. *et al.* Especificidade Simbiótica Entre Rizóbios e Acessos de Feijão-Caupi de Diferentes Nacionalidades. **Revista Caatinga, Mossoró**, v. 19, n. 1, p.25-33, mar. 2006