

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

ALANA PRADO

FORMA DE APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE E *Azospirillum brasilense* NO
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO

Uberlândia – MG

Julho, 2017

ALANA PRADO

FORMA DE APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTES E *Azospirillum brasilense* NO
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso
de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Dr^a Regina Maria Quintão Lana

Uberlândia – MG

Julho, 2017

ALANA PRADO

FORMA DE APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTES E *Azospirillum brasilense* NO
DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso
de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Dr^a Regina Maria Quintão Lana

Aprovado pela Banca Examinadora em 27 de julho de 2017.

Carolina Oliveira da Silva
Membro da Banca

Mara Lúcia Martins Magela
Membro da Banca

Prof. Dr^a. Regina Maria Quintão Lana
Orientadora

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 A cultura do feijão	7
2.2 <i>Azospirillum brasilense</i>	7
2.3 Biofertilizantes	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5. CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

O feijão, da família *Leguminosae* e da espécie *Phaseolus vulgaris*, tem uma grande importância na alimentação humana principalmente por conta das suas características proteicas e energéticas, contendo em seu grão proteínas, carboidratos, fibras, ferro e complexo B. O feijão é uma cultura cultivada por pequenos e grandes produtores em todas as regiões do Brasil, e dessa forma considerado como uma cultura de grande importância econômica, social nutricional e funcional (RIOS; ABREU; CORRÊA, 2003; FAO, 2013).

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, de acordo com estudos da Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério de Agronomia e Pecuária (MAPA), com uma produção média anual de 3,5 milhões de toneladas. Os dados mostram um estudo com projeção para o período de 2009/2010 a 2019/2020 de um crescimento anual da safra de 1,77%. O consumo também mostra uma taxa de crescimento de 1,22% ao ano. De acordo com essa projeção, a produção do feijão passará de 3,5 para 4,31 milhões de toneladas (MAPA, 2014). A produção da safra em 2015 está estimada em 43235 mil sacas beneficiadas de café (CONAB, 2015).

O feijoeiro possui um ciclo curto, em média de 90 dias. Em razão desse ciclo, o feijoeiro, que é uma planta muito exigente em nutrientes, necessita que esses estejam disponíveis nos momentos de maior demanda do ciclo, para não diminuir a produtividade dos grãos (SILVA; SILVEIRA, 2000).

Além da demanda correta dos nutrientes, os fatores climáticos como a temperatura e a quantidade de chuva influenciam na produtividade do feijoeiro. As altas temperaturas podem prejudicar o florescimento e a frutificação e as baixas temperaturas podem provocar a perda de flores (YAMAGUISHI, 2008).

Existem em média 40 tipos de feijão no mundo sendo que 79% do feijão consumido no Brasil é do tipo carioca. O feijão carioca está entre os cultivares do feijão comum, este correspondente a espécie mais cultivadas entre as demais espécies desse gênero. Dentro do feijoeiro comum, podemos encontrar além do carioca, também os feijões especiais e os feijões preto (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2015).

O cultivar madrepérola, do grupo do feijão carioca, é um híbrido desenvolvido pela Embrapa e com parceria com a Epamig, UFV, UFLA e UFU. A maior característica desse cultivar está na qualidade dos grãos, que faz com que eles mantenham uma coloração mais clara por maior período de tempo, característica determinante desse cultivar (EPAMIG, 2015).

A bactéria *Azospirillum brasilense* é uma bactéria promotora de crescimento de plantas pela sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio, além disso possui produção de hormônios, tais como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno. O *Azospirillum brasilense* aumenta a atividade de redutase do nitrato, reduzindo o nitrato em nitrito para que este seja novamente reduzido em amônia e assim ser absorvido pela planta. A combinação de todos esses mecanismos no processo de nitrificação faz com que a bactéria promotora de crescimento de plantas consiga de fato promover o crescimento das plantas (OKON E VANDERLEYDEN, 1997).

Existem vários benefícios associados ao uso do *Azospirillum brasilense* como o crescimento de raízes, melhoria na nutrição das plantas, melhoria no potencial hídrico, maior produção de biomassa e maior altura de plantas. Essas melhorias são resultadas da presença da bactéria, que estimula o aumento do sistema radicular das plantas, proporcionando maior absorção de água e minerais (IKEDA 2010). Dessa forma a inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* pode proporcionar redução nos custos de produção de feijão, além de ser uma tecnologia a ser utilizada em produção de feijão orgânico.

Outra alternativa aliada a semente de feijão, juntamente com um manejo adequado para aumentar a produtividade do feijoeiro é o uso de biofertilizantes, que são substâncias naturais ou sintéticas, que podem ser aplicadas em sementes, plantas e solo e provocam alterações dos processos vitais e estruturais, com finalidade de aumentar a qualidade das sementes (ÁVILA et al., 2008).

Os biofertilizantes podem ser designados como uma mistura de dois ou mais reguladores vegetais com outras substâncias de natureza bioquímica, como aminoácidos, hormônios de crescimento de plantas, vitaminas e outros elementos (VIEIRA, 2001).

Russo e Berlyn (1990) observaram que além de ser promotor do crescimento vegetal e possuir substâncias de controle hormonal, os biofertilizantes tem potencial também para diminuir o uso de fertilizantes, aumentar a resistência a estresses e aumentar a produtividade. Através dessas substâncias, pode interferir em diversos processos como crescimento vegetativo, florescimento, frutificação, senescência, abscisão e germinação (WEBER, 2010).

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o modo de aplicação e eficiência de biofertilizantes e *Azospirillum brasilense* no tratamento de semente e foliar e suas combinações na cultura do feijoeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do feijão

O feijão é uma cultura plantada em mais de 107 países e pode ser considerado como um dos alimentos mais antigos da história. No Brasil, o feijão está presente no prato de toda população, principalmente pelo seu preço acessível e por sua constituição nutricional. De acordo com estudos do NEPA (2006), em cada 100 gramas de feijão há aproximadamente 58% de carboidratos, 20% de proteínas e 20% de fibra alimentar.

O gênero *Phaseolus* compreende aproximadamente 55 espécies, e dentro dessas espécies, apenas cinco são cultivadas: o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), o feijão de lima (*P. lunatus*), o feijão ayocote (*P. coccineus*), o feijão tepari (*P. acutifolius*), e o feijão *P. polyanthus*. Dentre essas espécies, o feijoeiro comum é a espécie mais cultivada entre as demais espécies desse gênero (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2007).

O feijoeiro comum, *Phaseolus vulgaris* L., apresenta pouco desenvolvimento em seu sistema radicular, o tornando mais sensível aos fatores que afetam a produtividade, como chuvas irregulares, temperatura, fertilidade do solo, entre outros que podem interferir na produtividade do feijoeiro. Dessa forma o número de vagens por plantas, número de grãos por vagens, e massa de grãos podem ser afetados (COSTA et al., 1983; COIMBRA et al., 1999).

Dentre todos os tipos de feijão, o tipo carioca é aceito praticamente em todo o Brasil sendo equivalente por 52% da área cultivada em todo o Brasil (MAPA, 2014).

O feijão madrepérola é um cultivar do grão tipo carioca. Seus grãos permanecem claros por mais tempo do que os outros cultivares. Além disso, é um cultivar que possui alto potencial produtivo e com resistência moderada a antracnose e a mancha angular. Seu ciclo é de 75 a 85 dias e pode ser considerado uma planta semiprecoce (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2015).

2.2 *Azospirillum brasilense*

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias chamadas de bactérias promotoras do crescimento de plantas, correspondente a um grupo de microrganismos que tem capacidade de colonizar superfícies das raízes, rizosferas, filosfera e tecidos internos das

plantas, sendo microrganismos muito benéficos a plantas (DAVISON, 1988; KLOEPPER et al., 1989).

A pesquisadora da Embrapa na década de 1970 descobriu a capacidade da bactéria do gênero *Azospirillum* de fixar nitrogênio biologicamente quando as associavam com gramíneas. A partir desse momento, essa bactéria ganhou destaque mundial (DÖBEREINER & DAY, 1976; DOBEREINER et al., 1976).

Existem diversos estudos que demonstram uma resposta fisiológica positiva ao inocular *Azospirillum*. Essa resposta positiva pode acontecer em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila, melhoria no potencial hídrico, maior produção de biomassa, maior altura de plantas, entre outras (BARASSI et al. 2008). Em relação aos parâmetros fotossintéticos, Bashan et al. (2006) relataram aumento em pigmentos, tais com clorofila A e clorofila B, que resultam em plantas mais verdes e sem estresse hídrico.

As bactérias promotoras do crescimento de plantas podem ser uma alternativa na busca pela sustentabilidade, pois, auxiliam no crescimento das plantas de diversas maneiras, sendo as mais relevantes: a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (bactérias diazotróficas), aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas, produção hormonal como giberelinas, etileno, auxinas e citocininas e podem atuar também no controle de patógenos (DOBBELAERE et al., 2003; HUERGO et al., 2008).

Elas são chamadas de diazotróficas, pois conseguem aproveitar os gases atmosféricos que penetram entre os espaços porosos do solo, fixando o nitrogênio atmosférico através de uma enzima chamada desidrogenase, que rompe a tripla ligação do N₂ reduzindo-o à amônio (HUNGRIA et al., 2007).

2.3 Biofertilizantes

Os biofertilizantes são compostos bioativos, resíduo final da fermentação de compostos orgânicos, contendo células vivas ou latentes de microorganismos (bactérias, leveduras, algas e fungos filamentosos) e seus metabólitos, além de quelatos organominerais. Além disso tem sido atribuído aos biofertilizantes a ação indutora de resistência e propriedades fungicidas, bacteriostáticas, repelentes, inseticidas e acaricidas sobre diversos organismos alvos (MEDEIROS, 2000).

O biofertilizante representa a adição de macro e de micronutrientes, microrganismos e seus metabólitos, e de compostos orgânicos e inorgânicos com efeitos sobre a planta e sobre a comunidade microbiana da folha e do solo (REUVENI et al., 1995).

De acordo com Russo e Berlyn (1990), os biofertilizantes podem reduzir o uso de fertilizantes minerais e ao mesmo tempo aumentar a produção e a resistência aos estresses causados por temperaturas e déficit hídricos.

Através do uso dos biofertilizantes a germinação, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação, senescência e abscisão são processos que podem ser interferidos positivamente. Para exercer essa interferência, a substância pode ser aplicada tanto via sementes, via solo quanto via foliar. Apenas é necessário que os biofertilizantes sejam completamente absorvidos pela planta para que ele consiga exercer sua atividade (WEBER, 2010).

Os biofertilizantes, quando aplicados exogenamente, possuem ações similares aos grupos de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (CASTRO & VIEIRA, 2001). O adequado desenvolvimento de plantas depende da razão entre a citocinina e a auxina. Níveis altos de citocinina estão relacionados com o crescimento da parte aérea da planta, enquanto níveis altos de auxina estão relacionados com o crescimento da raiz. Já o ácido giberélico possui efeito no processo de germinação (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A forma de aplicação do biofertilizante pode alterar a forma de absorção e aproveitamento desses hormônios pela cultura. Quando a aplicação deste ocorre no tratamento de sementes ou no início do desenvolvimento, o crescimento radicular é maior, aumentando assim resistência a estresses biológicos e consequentemente aumento da produtividade (SANTOS & VIEIRA, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia em Minas Gerais (latitude: 18° 53' 10''S e longitude: 48° 15' 29''O), no período de 01 de julho de 2015 a 28 de setembro de 2015.

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições e 6 tratamentos, com parcelas constituídas de um vaso com duas plantas de feijão por parcela.

Para o tratamento das sementes de feijão carioca do cultivar madrepérola, utilizou-se o biofertilizante líquido Biozyme, que contém micronutrientes e outras moléculas biologicamente ativas, sendo registrado para diversas culturas. A bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* utilizada foi o AzzoFix, um composto biológico da empresa Microquímica composto por *Azospirillum brasilense*. Para tratamento foliar também foi utilizado o AzzoFix, conforme a Tabela 1.

No tratamento das sementes, utilizou-se sacos plásticos transparentes para facilitar o contato do produto com a semente a ser tratada. Foram pesadas 50 g de sementes para cada tratamento, colocadas dentro do saco plástico para ser adicionado a dose de cada produto de acordo com cada tratamento. Em todos os sacos plásticos foram adicionados, com auxílio de uma seringa, 50 mL de água para dar maior homogeneidade. Após todos os sacos plásticos receberem as devidas doses do biofertilizantes e da *Azospirillum*, esses foram lacrados e agitados para maior contato com a semente.

No tratamento foliar, foram diluídos a mesma dose de *Azospirillum brasilienses* em 500 mL de água. O tratamento foliar foi realizado no estágio V4, (terceira folha trifoliada está plenamente desdobrada). Utilizou-se a diluição do AzzoFix + água e aplicou-se nas plantas através de um pulverizador manual.

Tabela 1. Modo e dose de biofertilizante e *Azospirillum brasilense* no tratamento de semente e adubação foliar.

Tratamento de semente	Dose utilizada no tratamento de semente	Aplicação foliar em V4	Doses utilizada na aplicação foliar
Biozyme	0,06 mL	-	-
<i>Azospirillum brasilenses</i>	0,31 mL	-	-
Biozyme + <i>Azospirillum brasilenses</i>	0,06 mL + 0,31 mL	-	-
-	-	<i>Azospirillum brasilenses</i>	0,625 mL
<i>Azospirillum brasilenses</i>	0,31 mL	<i>Azospirillum brasilenses</i>	0,625 mL

As doses usadas para os tratamentos de semente e foliar foram seguidas de acordo com o recomendado para a cultura do feijoeiro.

O solo arenoso utilizado foi retirado da fazenda da Universidade Federal de Uberlândia quimicamente caracterizado na Tabela 2. Foi realizada a correção do solo de acordo com a exigência da cultura do feijoeiro, considerando a saturação de bases igual a 65.

Tabela 2. Caracterização química do solo, Uberlândia – MG (2015).

pH H ₂ O	P me ^h -1	P rem.	P resina	Na ⁺	K ⁺	S-SO ₄	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al
1 – 2,5	mg dm ⁻³						cmolc dm ⁻³				
5	2,4	ns	ns	ns	16	5	0,04	0,5	0,3	0,2	1,5
M.O	C.O	B	Cu	Fe	Mn	Zn	SB	t	T	V	M
dag kg ⁻¹	mg dm ⁻³						%				
0,6	0,4	0,03	0,7	7	6	0,4	0,84	1,04	2,34	36	19

ns = Não Solicitado / SB = Soma de Bases / t = CTC efetiva / T = CTC a pH 7,0 V = Sat. Base / m = Sat. Alumínio
P, K, Na = [HCl 0,05 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹] S-SO₄ = [Fosfato Monobásico Cálcio 0,01 mol L⁻¹]
Ca, Mg, Al = [KCL 1 mol L⁻¹] / H + Al = [Solução Tampão SMP a pH 7,5] M.O. = Método Colorimétrico
B = [BaCl₂ . 2H₂O 0,0125% à quente] Cu, Fe, Mn, Zn = [DTPA 0,005 mol L⁻¹ + TEA 0,1 mol L⁻¹ + CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ a pH 7,3] cmolc dm⁻³ x 10 = mmolc dm⁻³ / mg dm⁻³ = ppm / dag kg⁻¹ = %

Tabela 3. Relação entre as bases do solo, Uberlândia – MG (2015).

Relação entre as bases:				Relação entre as bases e T (%):						
Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca+Mg/K	Ca/T	Mg/T	Na/T	K/T	H+Al/T	Ca+Mg/T	Ca+Mg+Na+K/T
1,7	12,5	7,5	20	21	13	ns	2	64	34	36

Foram adicionados em cada um dos 24 vasos, 5 quilogramas de solo, já devidamente corrigido. Em relação a adubação, foram adicionados 0,866 gramas de superfosfato simples e 0,171 g de cloreto de potássio em cada vaso.

Foram semeadas 4 sementes por vaso. Após a semeadura, na fase vegetativa V3 foi realizado o desbaste, deixando apenas 2 plantas por vaso.

A irrigação do experimento foi diária, aplicando aproximadamente 70% de água da capacidade de campo do solo. Na primeira irrigação, contou quantos segundos foram gastos para encher um vaso com 70% capacidade de campo com a mangueira da casa de vegetação. Nas irrigações seguintes, adicionou por vaso a água durante aquela quantidade de tempo necessário para completar a capacidade de campo, por ser inviável medir vaso por vaso todos os dias.

Avaliou-se as variáveis de produtividade, biomassa, clorofila a, b e total e qualidades nutricionais da semente.

O diâmetro de colmo foi avaliado através do paquímetro. As alturas das plantas foram medidas por uma régua. Foram feitas contagens de número de grãos e de vagens. As avaliações nutricionais e proteína bruta foram feitas através de análise dos grãos moídos no laboratório de análises de solos da Universidade Federal de Uberlândia. As avaliações de clorofila a, b e a+b foram medidas por um clorofilômetro portátil, no terceiro trifólio da folha, no início do florescimento (no estágio R6). O clorofilômetro, por meio de sensores analisa as três faixas de frequência de luz e através de relações de absorção de diferentes frequências, fornece medições dos teores de clorofilas a, b e total (a+b).

Foi feito o quadro de ANAVA e rodado os dados, para realizar teste de médias por Tukey ($p < 0,05$) e contrastes, através do programa de análises estatísticas SISVAR.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 4 são apresentados os dados de diâmetro de colmo, altura de planta, número de vagens, número de grãos, massa de grãos e proteína bruta.

Tabela 4. Valores de diâmetro de colmo (DC), altura de planta (HP), número de vagens (NV), número de grãos (NG), massa de grãos (MAG), proteína bruta (PB) para tratamento de semente e aplicação foliar.

TRATAMENTO	DC (mm)	HP (cm)	NV	NG	MAG (g)	PB (g kg ⁻¹)
Biozyme	3,51	9,15	6,75	25,25	5,15	213,12 b
Azospirillum	3,16	9,30	6,33	24,00	5,96	241,67 a
Biozyme + Azosp.	2,98	7,80	7,00	16,67	4,23	264,79 a
Sem TS + 1 AF	3,86	9,00	7,33	21,00	4,42	198,13 b
Azosp + 1 AF	2,84	8,57	6,00	22,25	5,15	201,57 b
MÉDIA	3,14	8,78	6,35	20,92	4,88	227,13
CV (%)	27,75	12,97	36,83	44,58	45,23	5,24

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TS: tratamento de semente; AF: aplicação foliar

Em relação aos fatores diâmetro de colmo, altura de planta, número de vagens, número de grãos e massa de grãos, as diferenças entre os tratamentos para cada um desses fatores não foram significativas. (Tabela 4)

Em relação ao teor de proteína bruta, o tratamento de sementes com apenas *Azospirillum* e o tratamento com Biozyme+*Azospirillum* exibiram diferenças significantes quando comparados com os outros tratamentos.

Quando comparados separadamente, pode-se ver um aumento de 13% da proteína bruta do grão do tratamento com *Azospirillum* em relação ao tratamento com apenas o biofertilizante. Ao comparar o tratamento Biozyme+*Azospirillum* com o tratamento que possui apenas aplicação foliar de *Azospirillum* e sem tratamento de sementes, percebe-se que o tratamento que associa Biozyme+*Azospirillum* teve um aumento de 33% em relação ao outro na proteína bruta do feijoeiro.

O essencial para uma produção de feijão é o alto índice de proteína bruta pois o grão deve possuir de 20 a 35% dela na sua constituição, dependendo do cultivar e do trato cultural (SGARBIERI, 1996). Portanto, esse aumento da proteína bruta justifica o uso de um dos dois tratamentos de sementes que se destacaram como os melhores em relação aos outros.

Em 2014, Corsini comparou a inoculação de sementes de feijão com a bactéria *Azospirillum brasilense* e com *Rhizobium tropici*, e observou que os grãos que foram inoculados com *A. brasilense* obtiveram um aumento de 14% no teor de proteína bruta em relação aos grãos inoculados com *R. tropici*, aumento que também aconteceu no presente trabalho quando comparamos *A. brasilense* com Biozyme.

Já comparando diferentes doses de *A. brasilense* em pastagens de Tifton 85 em 2012, Ficagna e Gai relataram que essas doses não tiveram diferenças significativas em relação a proteína bruta dos grãos quando comparados aos tratamentos que foram utilizados fertilizantes químicos.

De acordo com a Tabela 5, os teores de clorofila a e a+b não obtiveram diferenças significativas pelo teste de médias, ao contrário do que aconteceu com os teores de clorofila b. O tratamento Biozyme+*Azospirillum* se destacou em relação aos demais tratamentos. Ao comparar este tratamento com o sem tratamento de sementes, pode-se observar um aumento de 71% no teor de clorofila b.

Tabela 5. Teores de clorofila a (CA), clorofila b (CB), clorofila a+b (CAB) para tratamento de semente e aplicação foliar.

TRATAMENTO	CA	CB	CAB
		ICF	
Biozyme	28,44	7,83 b	36,26
<i>Azospirillum</i>	26,97	8,02 b	34,98
Biozyme + Azosp.	34,17	11,52 a	45,68
Sem TS + 1 AF	27,73	6,72 b	34,45
Azosp + 1 AF	27,90	6,41 b	34,31
MÉDIA	28,70	7,84	36,54
CV (%)	13,13	17,93	13,66

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.
TS: tratamento de semente; AF: aplicação foliar

Como a clorofila b auxilia a planta na absorção de luz e na transferência de energia, e se aumenta essa absorção de luz, o índice de fotossíntese se eleva e conseqüentemente aumenta a produtividade. Dessa forma pode-se concluir que o aumento da clorofila b é importante para a maior produção e para grãos melhores.

Como o nitrogênio é constituinte da molécula de clorofila, geralmente existe correlação entre seu teor e a clorofila nas folhas (FURLANI JUNIOR et al., 1996). E como a bactéria é fixadora de nitrogênio no solo, esse aumento pode ser devido a inoculação com *A. brasilense*.

Na cultura do trigo, verificaram-se que houve um aumento significativo nos teores de clorofila a e b e de outros diversos pigmentos fotossintéticos ao associar ao trigo a bactéria *Azospirillum brasilense* (BASHAN et al. 2006).

De acordo com a tabela 6, pode-se observar que todos os macronutrientes não tiveram diferenças significativas, com exceção do nitrogênio, onde os tratamentos com *Azospirillum* e Biozyme+*Azospirillum* se destacaram positivamente em relação a todos os outros tratamentos.

Tabela 6. Teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) para tratamento de semente e aplicação foliar.

TRATAMENTO	N	P	K	Ca	Mg	S
Biozyme	34,10 bc	2,10	9,75	8,10	2,37	0,83
<i>Azospirillum</i>	38,67 ab	2,17	8,50	8,23	2,30	0,67
Biozyme + <i>Azosp.</i>	42,37 a	2,10	9,50	8,43	2,27	0,60
Sem TS + 1 AF	28,49 c	2,27	8,83	7,83	2,37	0,83
<i>Azosp</i> + 1 AF	32,25 c	2,42	9,00	7,65	2,50	0,88
MÉDIA	38,81	2,29	8,90	8,05	2,32	0,83
CV (%)	7,22	16,12	12,14	6,72	9,21	25,36

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TS: tratamento de semente; AF: aplicação foliar

Ao comparar o tratamento com Biozyme+*Azospirillum* com o tratamento que possui apenas aplicação foliar, pode-se observar um aumento de 48% no teor de nitrogênio no feijoeiro quando se utiliza a combinação de biofertilizante mais a bactéria.

O nitrogênio por participar da composição de aminoácidos tem relação direta com o teor de proteínas dos grãos de feijão (MALAVOLTA et al., 1997). Existem estudos que comprovam que plantas que recebem maiores doses de nitrogênio via solo apresentam maior teor de proteínas dos grãos, melhorando a qualidade nutricional dos mesmos (SORATTO et al., 2005; GOMES JÚNIOR et al., 2005; GOMES JÚNIOR E SÁ, 2010).

O nitrogênio é constituinte de muitos componentes da célula vegetal, como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos e sua deficiência rapidamente inibe o crescimento vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O aumento do nitrogênio tem grande importância na cultura por ser muito relacionado com a proteína bruta, onde pode-se associar o aumento da proteína bruta com esse aumento de nitrogênio. Dessa forma o aumento do nitrogênio justifica o tratamento da semente com biofertilizante e bactéria diazotrófica juntos.

Em 2014, Corsini também observou esse aumento de nitrogênio nas sementes de feijão inoculadas com a bactéria *A. brasilense* quando comparadas com sementes de feijão inoculadas com *R. tropici*.

Observa-se na Tabela 7 que entre os micronutrientes avaliados, apenas o manganês obteve diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 7. Teores de ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn) para tratamento de semente e aplicação foliar.

TRATAMENTO	Fe (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
Biozyme	100,62	27,97 b	7,97	33,55
Azospirillum	79,27	48,53 b	9,27	31,73
Biozyme + Azosp.	43,87	95,00 a	8,67	29,23
Sem TS + 1 AF	96,87	30,10 b	9,00	34,90
Azosp + 1 AF	96,55	38,95 b	8,85	37,50
MÉDIA	89,20	47,38	8,85	34,14
CV (%)	41,15	35,37	10,10	12,31

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TS: tratamento de semente; AF: aplicação foliar

O manganês tem importância no metabolismo das plantas, atuando em processos de ativação de diferentes enzimas, síntese de clorofila e fotossíntese (FAGERIA, 2001). O manganês é essencial na síntese da clorofila por participar da reação de liberação fotoquímica do O₂ na reação de Hill. Esse aumento de manganês que se observa após a inoculação de Biozyme+*Azospirillum* pode ser justificado pela participação nas reações de fotossíntese e também na síntese de clorofila. Dessa forma, como o teor de nitrogênio aumentou, os valores de Mn podem ter aumentado consequentemente.

Discordando dos resultados do presente trabalho, ao avaliar *A. brasilense* inoculado em milho, Pires (2012) não observou diferença significativa entre os tratamentos avaliados.

Na tabela 8, pode-se observar os contrastes realizados, os grupos contrastados e seus devidos objetivos. Foram realizados contrastes para todas as variáveis que apresentaram diferenças significativas nos testes de Tukey a 5% de significância. Essas variáveis foram: nitrogênio, proteína bruta, manganês e teores de clorofila b.

Tabela 8. Contrastes para os tratamentos.

CONTRASTE			OBJETIVO
CONTR.	Grupo 1	Grupo 2	
1	A.b -- B.+A.b -- A.b+A.b.f	B. -- sTS+Abf	Avaliar o efeito de <i>Azospirillum brasilense</i> no tratamento de sementes.
2	B. -- B.+A.b	A.b -- sTs+A.b.f -- A.b+A.b.f	Avaliar aplicação de biofertilizante no tratamento de sementes.
3	A.b+A.b.f -- sTS+A.b.f	A.b -- B. -- B.+A.b	Verificar efeito de aplicação foliar de <i>Azospirillum brasilense</i> .
4	B. -- A.b -- B.+A.b -- A.b+A.b.f	sTS+A.b.f	Avaliar se tratamento de sementes é mais eficiente do que adubação foliar.

Ab = *Azospirillum brasilense*; B = Biofertilizante; B+Ab = Biofertilizante + *Azospirillum brasilense*; Ab+Abf = *Azospirillum brasilense* + *Azospirillum brasilense* foliar; sTS+Abf = Sem TS + *Azospirillum brasilense* foliar

No primeiro contraste, foi contrastado todos os tratamentos que receberam tratamento de sementes com *Azospirillum* daqueles que não receberam tratamento de sementes com essa bactéria para poder avaliar o efeito do *A. brasilense*. Já o segundo contraste, foi avaliado o efeito do biofertilizante, dessa forma realizou o contraste entre todos os tratamentos que receberam Biozyme no tratamento de semente e os que não receberam. Já o terceiro, teve como objetivo avaliar apenas a aplicação foliar da bactéria diazotrófica, então contrastou os tratamentos que receberam aplicação foliar com aqueles outros que receberam apenas tratamento de sementes. O quarto, e último contraste, teve como objetivo avaliar todos os tratamentos que tiveram tratamento de sementes daquele que não teve, para descobrir se o tratamento de semente é mais eficiente do que o foliar.

Tabela 9. Contrastes para estudos de teores de N

Contrastes	Médias		Prob.
	Grupo 1	Grupo 2	
C D F vs B E	37,7610	31,2944	0,003
B D vs C E F	38,2333	33,1351	0,021
E F vs B C D	30,3694	38,3777	0,000
B C D F vs E	36,8458	28,4889	0,002

Tabela 10. Contrastes para estudo de teores de PB (proteína bruta) nos tratamentos.

Contrastes	Médias		Prob.
	Grupo 1	Grupo 2	
C D F vs B E	236,0072	205,6241	0,002
B D vs C E F	238,9566	213,7855	0,013
E F vs B C D	199,8450	239,8599	0,000
B C D F vs E	230,2862	198,1250	0,009

De acordo com as tabelas 9 e 10 acima, pode-se observar que ao realizar o contrastes para os teores de N e de PB, os 4 contrastes realizados exibiram diferenças significativas (probabilidade menor que 1%). No primeiro contraste tem a confirmação que as sementes tratadas com *A. brasilense* tiveram eficiência significativa quando comparada com o outro grupo de tratamento sem a bactéria. No segundo, observa-se que os tratamentos de sementes realizados com bioestimulantes também são eficazes para os teores de nitrogênio e proteína bruta. O terceiro contraste realizado, pode-se comprovar que a aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* não obteve efeitos significante para aumentar os teores de N e PB. Já o quarto contraste, confirma que o tratamento de sementes tem eficácia superior à aplicação foliar.

A inoculação de *Azospirillum brasilense* em sementes de trigo aumenta a produção de grãos e da sua proteína bruta quando comparado com a testemunha sem inoculação com a bactéria (DIDONET, 1996), da mesma forma como acontece no presente trabalho.

Tabela 11. Contrastes para estudos de teores de Mn (manganês).

Contrastes	Médias		Prob.
	Grupo 1	Grupo 2	
C D F vs B E	60,8277	29,0375	0,028
B D vs C E F	61,4875	39,1944	0,195
E F vs B C D	34,525	57,1694	0,183
B C D F vs E	52,6145	30,1000	0,375

Na tabela 11 estão os resultados dos contrastes para o teor de manganês. Pode-se observar então que apenas o primeiro contraste realizado teve diferença significante. Neste contraste, checkou e comprovou que a bactéria *A. brasilense* no tratamento de semente foi o que contribuiu para o aumento dos teores de manganês nos grãos avaliados.

Na inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* e reguladores vegetais, os teores de manganês aumentaram quando comparados com o controle e não havendo diferença quando a inoculação aconteceu via sulco (KLUGE, 2016), conforme também aconteceu no presente trabalho.

Tabela 12. Contrastes para estudos de teores de CB (clorofila b).

Contrastes	Médias		Prob.
	Grupo 1	Grupo 2	
C D F vs B E	8,6485	7,2708	0,493
B D vs C E F	9,6708	7,0485	0,032
E F vs B C D	6,5664	9,1194	0,038
B C D F vs E	8,4426	6,7166	0,469

Na tabela 12, tem-se os resultados do contraste para teores de clorofila b. Dessa forma pode-se observar que apenas o segundo e terceiro contraste teve diferenças significativas. No segundo contraste, observa-se que a aplicação de biofertilizantes no tratamento de sementes contribuiu de forma eficaz para os aumentos dos teores de clorofila b. O terceiro contraste comprovou que a aplicação foliar não foi relevante para esse aumento de clorofila b.

Em estudos recentes, Barassi (2008) relatou a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática quando inoculados com *Azospirillum brasilense* e com biofertilizantes, em comparação a testemunha. Da mesma forma, Bashan (2006) relata incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a, b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares que resultam em plantas mais verdes e sem estresse hídrico.

5. CONCLUSÕES

Há resposta positiva do tratamento de sementes com *Azospirillum brasilense* e do tratamento de sementes com bioestimulante+*Azospirillum brasilense*.

A aplicação de *A. brasilense* no tratamento de semente é superior ao tratamento foliar para: teores de proteína bruta, nitrogênio, clorofila b e manganês.

A aplicação associada de biofertilizantes e *Azospirillum brasilense* aumenta os teores de proteína bruta, nitrogênio, clorofila b e manganês na cultura do feijão.

REFERÊNCIAS

ÁVILA, M. R. ; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ALBRECHT, L. P.; TONIN, T. A.; STÜLP, M. Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 6, p. 604-612, 2008.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de Azospirillum en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) **Azospirillum sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.49-59

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. How the plant growth promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth – a critical assessment. *Advances in Agronomy*, v.108, (Issue null), p.77-136, 2010. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211310080028>

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J.J.; LEYVA, L.A.; HERNANDEZ, J.-P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by Azospirillum brasilense. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.279-285, 2006.

CASTRO, P. R. C; VIEIRA, E. L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 222- 228, 2001.

COIMBRA, J. L. M. et al. Análise de Trilha I: Análise do Rendimento de Grãos e seus Componentes. **Ciência Rural**, v. 29, n. 02, p. 213-218, 1999.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Café**. 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_12_17_09_02_47_boletim_cafe_d_ezembro_2015_2.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2017.

CORSINI, D. C. D. C. **Inoculação de sementes com Azospirillum brasilense e Rhizobium tropici e adubação nitrogenada em cobertura em feijoeiro-comum de inverno irrigado em**

sistema de plantio direto. 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área Sistemas de Produção). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, São Paulo, 2014.

COSTA, J.G.C.; KOHASHI-SHIBATA, J.; COLIN, S.M. **Plasticidade no feijoeiro comum. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF., v.18, p.159-167, 1983.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, v.6, p.282-286, 1988

DIDONET, Agostinho; RODRIGUES, Osmar; KENNER, Marcia. **Acumulo de nitrogênio e massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense***. Brasília, DF., v.31, n.9, set. 1996.

DÖBEREINER, J.; DAY, J.M. **Associative symbiosis in tropical grasses**: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON W.E.; NYMAN, C.T. (Ed.) **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION**, vol. 2, Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. p.518-538.

DOBBELAERE, S. **Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere**. Critical Review in Plant Science, Boca Raton, v. 22, n. 2, p.107-149, 2003.

EMBRAPA Arroz e Feijão. Origem e História do Feijão. 2007. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/historia.htm>> Acessado em Abril de 2017.

EMBRAPA Arroz e Feijão. Catálogo de Cultivares de Feijão Comum, 2014-2015. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao>> Acessado em Junho de 2017.

EPAMIG. **Novas cultivares de feijão**. 2015. Disponível em: <http://www.epamig.br/index.php?option=com_content&task=view&id=1272>. Acesso em: 21 jun. 2017.

FAGERIA, V.D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.24, n.6, p.1269-1290, 2001.

FICAGNA, T.; GAI, T. Adubação nitrogenada e inoculante de gramínea em tifton 85. **Cultivando o Saber**, v.5, n.2, p.113-119, 2012.

FURLANI JUNIOR, E.; NAKAGAWA, J.; BULHÕES, L.J.; MOREIRA, J.A.A.; GRASSI FILHO, H. Correlação entre leituras de clorofila e níveis de nitrogênio aplicados em feijoeiro. **Bragantia**, v.55, p.171-175, 1996.

GOMES JUNIOR, F.G.; LIMA, E.R.; LEAL, A.J.F.; MATOS, F.A.; SÁ, M.E. & HAGA, K.I. Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura **nitrogenada**. *Acta Sci. Agron.*, 27:455-459, 2005.

GOMES JUNIOR, F.G. & SÁ, M.E. **Proteína e qualidade de sementes de feijão** (*Phaseolus vulgaris* L.) em função da adubação nitrogenada em plantio direto. *R. Bras. Sementes*, 32:34-44, 2010.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense***. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

IKEDA, A. C. **Caracterização morfofisiológica e genética de bactérias Endofíticas isoladas de raízes de diferentes genótipos de milho (*Zea mays* L.)**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

KLUGE, FABIÉLI TEIXEIRA DA ROSA. **Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à reguladores vegetais em milho, utilizando diferentes doses de nitrogênio**. 2016. 75 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava - PR

KLOEPPER J. W., LIFSHITZ R., ZABLOTOWICZ R. M. **Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity**. Trends in Biotechnology 7, 39-43, 1989.

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

MEDEIROS, M.B.; ALVES, S.B; BERZAGHI, L.M.; GARCIA, M.O. Efeito de biofertilizante líquido na oviposição de *Brevipalpus phoenicis*. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 8., Piracicaba, 2000a. Resumos em **CD-Rom**. Piracicaba: USP, 2000.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao>. Acesso em: 20 maio. 2017.

NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**: TACO. Universidade Estadual de Campinas. Versão 2. 2 ed. 2006.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v.6, n.7, p.366-370, 1997.

PIRES, A. H. M., SIQUEIRA, T. P., VASCONCELOS, A. C. P, LANA, R. M. Q., FARIA, M. V. **Teor de manganês foliar em milho inoculado com *Azospirillum brasilense* e com diferentes doses de nitrogênio**. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama. Uberlândia, Minas Gerais, ANAIS DO IX CISAGRO CICLO DE SEMINÁRIOS DA AGRONOMIA 2012.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar sprays of phosphate and potassium salts. **Plant Pathology**, v.44, p.31-39, 1995.

RIOS, A. O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 39-45, 2003.

RUSSO, R.O.; BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Agronomy for Sustainable Development**, Versailles, v.1, n.2, p.19-42, 1990.

SANTOS, C. M. G.; VIEIRA, E. L. Efeito de bioestimulante na germinação de grãos, vigor de plântulas e crescimento inicial de algodoeiro. **Magistra**, Bahia, v. 17, p. 124-130, 2005.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. p.184-229.

SILVA, C. C. DA; SILVEIRA, P. M. da. Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 86-96, 2000.

SORATTO, R.P.; CRUSCIOL, C.A.C.; SILVA, L.M. & LEMOS, L.B. **Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em plantio direto**. *Bragantia*, 64:211-218, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja, feijoeiro e arroz**. 122 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2001.

WEBER, H.; SREENIVASULU, N.; WESCHKE, W. Molecular physiology of seed maturation and seed storage protein biosynthesis. In: PUA, E.C.; DAVEY, M.R. (Eds.) **Plant Developmental Biology**: Biotechnological Perspectives. Berlin, Heidelberg: Springer, v. 2, p. 83-104, 2010.

YAMAGUISHI, C. T. **Processo biotecnológico para a produção de feijão desidratado com baixo teor de oligossacarídeos da família rafinose**. 2008. 148 f. Dissertação (Mestrado em

Processos Biotecnológicos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.