



## Rizóbios promotores de crescimento de sorgo (*Sorghum bicolor*)

Machado, R.G.<sup>1</sup>; de Sá, E.L.S.<sup>2</sup>; Hahn, L.<sup>3</sup>; Oldra, S.<sup>4</sup>; Silva, W.R.<sup>4</sup>

### Introdução

Recentes estudos têm mostrado que a presença de leguminosas em sistemas de consórcio ou sucessão com gramíneas não está associada apenas ao aporte de nitrogênio (N) ao solo, mas também ao efeito direto ou indireto sobre o rendimento das gramíneas associadas (YANNI et al., 2001; HAHN et al., 2014). Em 1997, Reddy *et al.* verificaram que rizóbios também colonizam o tecido de gramíneas. De acordo com os autores, a principal forma de invasão de rizóbios em raízes de gramíneas é através de fissuras na epiderme e fissuras criadas durante a emergência de raízes laterais. Este processo de infecção é independente dos genes-nod, ou seja, não está relacionado ao processo simbiótico de nodulação e também não envolve a formação de cordão de infecção, sendo restrito ao espaço intercelular (REDDY et al., 1997). Com o uso de bactérias marcadas com o gene Gus, Osório Filho (2009) comprovou não só a infecção do tecido radicular, mas também de folhas de arroz por rizóbios.

Diversos trabalhos relatam o incremento no rendimento de espécies de gramíneas em decorrência da inoculação com rizóbios, mesmo sem estas bactérias serem capazes de fixar N em associação com gramíneas (YANNI et al., 2001; MISHRA et al., 2006; HAHN, 2013; MACHADO et al., 2013; OSORIO FILHO et al., 2014). Neste sentido, além de inserirem o N atmosférico no sistema solo-planta através da fixação simbiótica, os rizóbios simbiotes de leguminosas nativas e adaptados às condições edafoclimáticas do RS e SC podem estimular diretamente gramíneas cultivadas que venham a ser ofertadas aos animais em consórcio ou sucessão com estas leguminosas.

A busca por associações biológicas que possam beneficiar o desenvolvimento de plantas de interesse econômico e reduzir o uso ou aumentar o aproveitamento de fertilizantes minerais pode tornar a exploração de pastagens mais sustentável econômica e ecologicamente. Neste sentido, a exploração de sistemas pastoris de forma mais sustentável, com menor uso de insumos minerais sem prejuízos aos rendimentos, pode ser obtido com o uso de rizóbios fixadores de nitrogênio, cuja ação pode ser complementada por mecanismos diretos de promoção de crescimento de gramíneas cultivadas.

Neste sentido, é de grande importância a prospecção de rizóbios que já estão adaptados às condições edafoclimáticas dos estados do RS e SC e que se mantenham em rizosferas de plantas nativas em associações simbióticas eficientes. Sendo assim, é necessário o estudo destes rizóbios quando em interação com gramíneas forrageiras de importância para a pecuária dos estados do RS e SC, e que possam ser cultivadas em associação com leguminosas nativas.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de rizóbios isolados das leguminosas nativas adesmia e serradela sobre o rendimento do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. BRS810).

### Material e Métodos

Foram estudados quanto à capacidade de promoção de crescimento de sorgo os rizóbios de serradela UFRGS Om57, UFRGS Om59 e UFRGS Om148, obtidos da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFRGS, o isolado de adesmia EEL46210, cedido pela Epagri de Lages-SC e as estirpes SEMIA 929 e SEMIA 6437, liberadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para produção de inoculantes para serradela e adesmia, gentilmente cedidas pela coleção de estirpes SEMIA da FEPAGRO.

Foi utilizado substrato inerte composto pela mistura de vermiculita expandida e areia, na proporção 2:1 (v/v), disposto em copos plásticos de 300 mL. A areia foi previamente lavada em água corrente, para se excluir eventuais partículas coloidais ainda presentes na mesma. Após misturar homogêneo o substrato, o mesmo foi esterilizado em autoclave à temperatura de 120 °C e 1 atm por um período de 90 minutos. Após a esterilização e o esfriamento do substrato, o mesmo foi depositado nos copos plásticos, onde foi realizada a semeadura.

Foram utilizadas sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. BRS810) previamente desinfestadas e pré-germinadas. Após a germinação, seis plântulas cujas radículas apresentavam

<sup>1</sup> Professor, Faculdade de Agronomia, Instituto de Desenvolvimento Educacional de Passo Fundo e Emater-RS/ASCAR – Escritório Municipal de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, [rgoulartmachado@gmail.com](mailto:rgoulartmachado@gmail.com); <sup>2</sup> Pesquisador em Produtividade CNPq, Departamento de Solos, UFRGS; <sup>3</sup> Pesquisador, Epagri-SC; <sup>4</sup> Acadêmico de Agronomia, UFRGS, RS.



comprimento de 1 a 3 mm foram colocadas em cada vaso. Sete dias após o transplante, foi realizado o desbaste em todas as unidades experimentais, mantendo-se duas plantas por vaso.

A preparação dos inóculos dos rizóbios foi realizada em erlenmeyers, contendo 80 mL de meio de cultura Levedura Manitol (LM) líquido (VINCENT, 1970) colocados a incubar em agitador orbital a 28 °C, com agitação constante de 120 rpm por sete dias. Após o período de incubação, o caldo das culturas apresentou concentração celular mínima de  $1.10^8$  unidades formadoras de colônias (ufc) por mL, quantificada em câmara de Neubauer (MOURA et al., 1987). Foram aplicados 2 mL do caldo de cultura nos tratamentos inoculados, sete dias após sementeira. Em cada unidade experimental dos Controles não inoculados, foi aplicado o mesmo volume do meio de cultura LM líquido estéril (VINCENT, 1970).

O nitrogênio (N) foi aplicado aos sete dias após sementeira, em todas as unidades experimentais utilizando-se solução de nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ). Devido ao fato de que não ocorre a fixação simbiótica de N por rizóbios em gramíneas, todos os tratamentos inoculados receberam aplicação de N. Desta forma, nos tratamentos inoculados e no Controle N- foram aplicados o equivalente a  $50 \text{ kg N.ha}^{-1}$ , enquanto no N+ foram aplicados o equivalente a  $100 \text{ kg N.ha}^{-1}$ . Para suprir a necessidade dos outros nutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas de sorgo foi utilizada solução nutritiva Sarruge (1975), diluída a 25%. Cada tratamento foi composto por três repetições e o delineamento utilizado foi o delineado inteiramente ao acaso. Aos 15 e 30 dias após emergência, foram mensuradas as alturas das plantas, com o auxílio de uma régua graduada. Ao final de 45 dias, as plantas foram coletadas, as raízes e a parte aérea foram armazenadas em estufa a 65 °C para secagem até peso constante. Foram avaliados os parâmetros massa seca da parte aérea, massa seca de raiz, índice de eficiência relativa (IER%), adaptado de Brockwell (1966) por Machado *et al.* (2013) e altura de plantas.

A capacidade dos rizóbios em promover acúmulo de massa seca total nas plantas inoculadas em comparação com as dos tratamentos controle foi avaliada calculando-se o índice de eficiência relativa IER (%), segundo a fórmula a seguir:

$$\text{IER (\%)} = \frac{(\text{MS Inoculado} - \text{MS Controle N-})}{(\text{MS Controle N+} - \text{MS Controle N-})} * 100$$

onde:

IER (%) = Índice de Eficiência Relativa;

MS Inoculado = massa seca total do tratamento inoculado, com dose equivalente a  $50 \text{ Kg de N ha}^{-1}$ ;

MS Controle N- = massa seca total do tratamento Controle NI 50, não inoculado e com adição de nitrogênio equivalente a  $50 \text{ Kg de N ha}^{-1}$ ;

MS Controle N+ = massa seca total do tratamento Controle NI 100 não inoculado, com adição de nitrogênio equivalente a  $100 \text{ Kg de N ha}^{-1}$ .

## Resultados e discussão

Os resultados referentes à inoculação de rizóbios em plantas de sorgo são apresentados na tabela 1. Observou-se que a inoculação do rizóbio UFRGS Om57, de serradela, induziu aumento da massa seca da parte aérea de sorgo, sendo equivalente à produzida nas plantas não inoculadas e que receberam adição de nitrogênio equivalente a  $100 \text{ Kg de N ha}^{-1}$  (Controle N+), superando todos os demais tratamentos (Tabela 1). Este resultado mostra um potencial do rizóbio UFRGS Om57 que, se observado em experimentos a campo, possibilitaria o cultivo de sorgo forrageiro inoculado e com adição da metade da adubação nitrogenada mineral, sem prejuízo no rendimento da cultura.

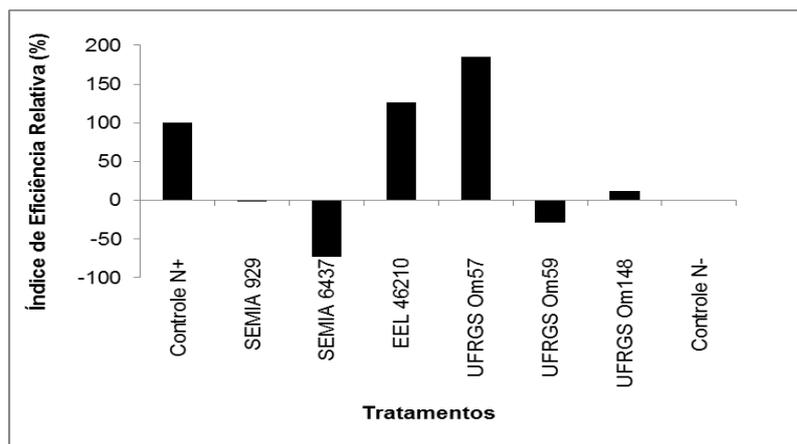
**Tabela 1.** Produção de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca radicular (MSR) e altura de plantas (A15d; A30d e A45d) de sorgo forrageiro inoculadas com rizóbios isolados de serradela e adesmia.

Tratamento	MSPA (mg)	MSR (mg)	A 15d (cm)	A 30d (cm)	A 45d (cm)
Controle N+	41 a	112 a	27,5 a	33,7 a	34,1 a
SEMIA929 ( <i>Ornithopus</i> )	35 b	68 b	23,6 b	28,4 b	28,1 b
SEMIA6437 ( <i>Adesmia</i> )	23 b	45 b	23,4 b	28,0 b	28,8 b
EEL46210	25 b	141 a	23,9 b	28,2 b	28,8 b
UFRGS Om57	48 a	147 a	23,3 b	28,1 b	29,5 b
UFRGS Om59	26 b	64 b	23,3 b	28,8 b	28,1 b
UFRGS Om148	31 b	79 b	24,3 b	28,7 b	29,3 b
Controle N-	32 b	72 b	22,8 b	27,8 b	30,2 b
CV (%)	32,4	53,3	8,1	6,7	6,2

A15d; A30d; A45d: altura de plantas aos 15, 30 e 45 dias após emergência; Controle N+: dose de N equivalente a 100 kg N.ha<sup>-1</sup>; Controle N-: dose de N equivalente a 50 kg N.ha<sup>-1</sup>; Mesmas letras na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott, a 15% de significância.

Os tratamentos EEL46210 e UFRGS Om57 induziram maior massa seca radicular, o que em condições de campo podem representar vantagens na busca por água e nutrientes. Não houve efeito das inoculações quanto à altura das plantas, aos 15, 30 ou 45 dias.

O Índice de Eficiência Relativa (IER%) da inoculação do UFRGS Om57 em sorgo foi de 179%, o maior de todo o estudo (Figura 1). A inoculação de sorgo com o isolado UFRGS Om57 induziu estímulo às raízes das plantas, sendo que após 45 dias, a massa seca radicular das plantas foi superior ao tratamento Controle N- e equivalente ao Controle N+. Estes resultados comprovam a grande eficiência do isolado UFRGS Os57 em promover o crescimento do sorgo forrageiro cv. BRS810 e o grande potencial desta interação para futuras explorações a campo. O isolado EEL46210 também estimulou o sorgo, tendo um IER (%) de 124%, enquanto que a IER (%) do isolado serradela UFRGS Os148 foi de 19%.



**Figura 1.** Índice de eficiência relativa (IER %) dos rizóbios quanto ao incremento da massa seca total de capim sudão, milho e sorgo forrageiro.

Com base nos presentes resultados, infere-se que assim como na interação entre rizóbios e leguminosas, a interação entre rizóbios e plantas de sorgo depende da afinidade entre bactérias e planta, podendo incrementar o rendimento da cultura. São necessários estudos de inoculação de sorgo com a estirpe UFRGS Om57 a campo, para se verificar a manutenção da interação benéfica em condições de campo.



Quanto aos possíveis mecanismos de promoção de crescimento de plantas, em se tratando da interação com gramíneas, um importante mecanismo pelo qual os rizóbios atuam é a síntese de auxinas (DOBBELAERE, et al. 2003). O ácido indol-acético (AIA), fito-hormônio do grupo das auxinas, é o mais comum e mais bem caracterizado fito-hormônio (HAYAT et al., 2010). De acordo com Patten & Glick (1996), 80% das bactérias isoladas da rizosfera são capazes de produzir AIA, o qual consiste-se em um dos mais importantes hormônios vegetais, pois regula muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas, desde a divisão, alongação e diferenciação celular até a formação das raízes, dominância apical, tropismo, florescência, maturação dos frutos e senescência.

### Conclusão

A inoculação do rizóbio UFRGS Om57 isolado de serradela estimula a massa seca da parte aérea de sorgo. Existe índice de eficiência relativa (IER %) superior a 100% com a inoculação dos isolados UFRGS Os57 e EEL46210 quando inoculados em sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. BRS810).

### Referências

- BROCKWELL, J.; HELY, F.W.; NEAL-SMITH, C.A. Some symbiotic characteristics of rhizobia responsible for spontaneous, effective field nodulation of *Lotus hispidus*. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Tamworth, v. 6, n. 23, p. 365-370, 1966.
- DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J. & OKON, Y. Plant-Growth-Promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 22, p. 107-149, 2003.
- HAHN, L. **Promoção de crescimento de plantas pela inoculação de rizóbios simbiotes em leguminosas e bactérias diazotróficas associativas**. 2013. 175 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- HAHN, L. et al. Growth promotion in maize with diazotrophic bacteria in succession with ryegrass and white clover. **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, Dubai, v. 14, p. 11-16, 2014.
- HAYAT, R. et al. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, Milan, v. 60, p. 579-598, 2010.
- MACHADO, R.G. et al. Indoleacetic acid producing *Rhizobia* promote growth of Tanzania grass (*Panicum maximum*) and Pensacola grass (*Paspalum saurauae*). **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, 2013.
- MISHRA, R. P. N. et al., Rhizobium-mediated induction of phenolics and plant growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.). **Current Microbiology**, New York, v. 52, p. 383–389. 2006.
- MOURA, R.A. et al. 1987. **Técnicas de laboratório**. Atheneu, Rio de Janeiro.
- OSORIO FILHO, B.D. **Rizóbios eficientes em Lotus em condições de estresse hídrico e promotores de crescimento em arroz irrigado**. 2009. 113p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- OSÓRIO FILHO, B.D. et al. Rhizobia enhance growth in rice plants under flooding conditions. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, Dubai, v. 14, p.707-718, 2014.
- PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, p.207–220, 1996.
- REDDY, P.M. et al. Rhizobial communication with rice roots: induction of phenotypic changes, mode of invasion and extent of colonization. **Plant and Soil**, The Hague, v.194, p. 81-98, 1997.
- SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phitopathologica**, Piracicaba, v.1, n.3, p.231-234, 1975.
- VINCENT, J.M. **Manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164p.



YANNI, Y.G. *et al.* The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* b.v. *trifolii* with rice roots. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 28, n.9, p. 845-870, 2001.