

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Agrárias
Campus Regional Montes Claros**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NODULAÇÃO EM GRÃO-DE-
BICO INOCULADO COM RIZOBACTÉRIAS**

ILDO GUSTAVO FERREIRA SANTOS

**Montes Claros – MG
2024**

Ildo Gustavo Ferreira Santos

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E NODULAÇÃO EM GRÃO-DE-BICO
INOCULADO COM RIZOBACTÉRIAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Rodinei Facco Pegoraro

Montes Claros – MG
2024

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter me concedido força, paciência e persistência.

A toda a minha família em especial aos meus pais e a minha irmã, pelo apoio e força que me deram, agradeço todo o esforço e sacrifícios que fizeram e que me permitiram chegar até aqui.

A Karla Sabrina em especial pela motivação, ensinamentos, apoio e parceria.

Ao meu orientador, Dr. Rodinei Facco Pegoraro pela orientação e ensinamentos.

Ao laboratório de Geotecnologias e seus integrantes Karla, Aline, Maria, Silvana, Letícia, Renata, Rodinei, Lucas, Kaio, Iago por ter contribuído de alguma forma na conclusão desse trabalho.

A Fundação Universitária Mendes Pimentel – FUMP, pela assistência estudantil durante todo curso.

A Universidade Federal de Minas Gerais, pelo ensino gratuito e de qualidade.

Aos órgãos de fomento FAPEMIG e CNPq pelo auxílio financeiro na aquisição de materiais para execução do projeto.

A todos que contribuíram, de alguma forma direta ou indiretamente, fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O estudo dos microrganismos promotores do crescimento vegetal é crucial para o desenvolvimento de novas estratégias agrícolas destinadas a aumentar a produtividade e a adaptação do grão-de-bico em ambientes tropicais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de rizobactérias na promoção de crescimento vegetal em cultivares de grão-de-bico. O estudo foi conduzido em casa de vegetação, as unidades experimentais consistiram de mudas cultivadas em copos plásticos com substrato autoclavado. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, num esquema fatorial 2 x 7. Consistindo de duas cultivares, BRS Aleppo e BRS Cristalino. E o segundo fator com sete inoculantes com microrganismos: *Klebsiella variicola*, *Mesorhizobium* sp, *Rhizobium radiobacter*, *Bacillus cereus*, mix 1 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*, *Mesorhizobium* sp.), mix 2 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*) e testemunha (sem inoculação). As plantas foram colhidas aos 72 dias de cultivo para avaliação das seguintes características: comprimento da parte aérea e raiz, (CPA e CR), peso seco da parte aérea, radicular e total (PSPA, PSR e PST), número de nódulos (NN), relação entre matéria seca das raízes e parte aérea, conteúdo de nitrogênio da parte aérea, radicular e total. A cultivar Cristalino se destacou da cultivar Aleppo para comprimento da raiz, peso seco da parte aérea, número de nódulos e conteúdo de nitrogênio total. A inoculação com *Klebsiella variicola* apresentou maior CR: 15,725 cm e PSPA: 0,390g para a cultivar Cristalino. A inoculação com *Mesorhizobium* sp. propiciou maior PSPA: 0,377g, NN: 19 e NT: 1,37mg/pote também para a cultivar Cristalino. A cultivar Aleppo apresentou maior peso seco da raiz, peso seco total, relação raiz parte aérea, quando inoculados com: *Mesorhizobium* sp. (PSR: 0,74g), *Mesorhizobium* sp. (PST: 1,08g), *Mesorhizobium* sp. (R/PA: 2,22) e *Bacillus cereus* (R/PA: 2,33). Os resultados demonstram que a inoculação com microrganismos promove o crescimento de plantas de grão-de-bico, variando conforme a cultivar e o tipo de microrganismo utilizado. A alta afinidade de *Mesorhizobium* sp. com ambas as cultivares sugere seu potencial como inoculante universal.

Palavras-chave: *Cicer arietinum* L.; Microrganismos promotores do crescimento vegetal; Fixação biológica de nitrogênio.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVOS.....	7
2.1 Objetivo geral.....	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
6. CONCLUSÃO.....	18
7.REFERÊNCIAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) é uma das leguminosas mais cultivadas do mundo, devido sua importância nutricional e socioeconômica. Originário do Oriente Médio, mais precisamente na região sudoeste da Turquia. Vem sendo cultivada há milhares de anos e tem sido fonte valiosa de alimento para as populações ao longo da história (ARTIAGA et al., 2015). Nutricionalmente possui grande potencial a ser explorado, por apresentar altos teores de proteína e carboidratos (P, Mg, Fe, K, Co, Mn) (FERREIRA et al., 2006). A cultura se destaca devido ao seu baixo custo de produção, sua ampla adaptação climática, e principalmente pela alta eficiência na fixação de nitrogênio atmosférico (ARTIAGA et al., 2015).

As leguminosas têm a capacidade de realizar simbiose com bactérias que fixam nitrogênio atmosférico no solo, como *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, que consegue converter N_2 em NH_3 , forma assimilável pelas plantas (MURRAY., 2011). Além disso, muitos microrganismos têm a capacidade de se associar com leguminosas, a exemplo do grão-de-bico, gerando efeitos benéficos ao seu desenvolvimento e produção, devido ao efeito positivo das rizobactérias na produção de hormônios de crescimento e solubilização de nutrientes (VERMA et al., 2013, MOINUDDIN et al., 2014).

As práticas agrícolas intensivas, que alcançam alto rendimento, requerem o uso de fertilizantes químicos, principalmente o nitrogênio e o fósforo que são macronutrientes essenciais para o crescimento e o desenvolvimento das plantas (QUEIROGA et al., 2021). A extração de fertilizantes minerais gera grande impacto ambiental, além de serem caros, gerando alto custo de produção. Consequentemente, há interesse crescente em práticas agrícolas sustentáveis que atinjam altas produções e não agredem o meio ambiente (HANSEN et al., 2017).

O uso de inoculantes é alternativa de manejo considerada benéfica para as plantas, por reduzir a necessidade de fertilizantes químicos e, diminuir os efeitos ambientais adversos (ELKOCA et al., 2008). Além disso, os inoculantes microbianos podem contribuir para aumentar a eficiência agrônômica na fixação biológica de nitrogênio (FBN).

Segundo Morgante (2005), a inoculação de soja com *Bradyrhizobium japonicum* permitiu aos produtores brasileiros reduzirem cerca de 57,5% o valor monetário dos custos da sua produção, em virtude de não haver necessidade da utilização dos adubos nitrogenados. Dessa mesma forma é possível desenvolver inoculante a base de

microrganismos que realizam simbiose com o grão-de-bico. Logo, é preciso que seja realizado mais estudos para identificar quais os microrganismos realizam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e proporcionam maior produção de grão-de-bico em regiões tropicais.

Existem poucos estudos sobre a cultura principalmente relacionado com a atividade simbiótica fixadora de nitrogênio e com bactérias promotoras de crescimento vegetal em regiões tropicais. O uso de inoculantes biológicos, são de extrema importância, uma vez que é uma alternativa no enriquecimento do solo com alguns nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio que como consequência tem contribuído na redução do uso de fertilizantes minerais (QUEIROGA et al., 2021).

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar promoção de crescimento e nodulação em grão-de-bico inoculado com rizobactérias.

1.2 Objetivos específicos

- a) Verificar os efeitos isolados e associados de cada microrganismo utilizados no crescimento de plantas de grão-de-bico.
- b) Analisar quais são os microrganismos responsáveis pela formação de nódulos radiculares fixadores de nitrogênio.
- c) Verificar efeito da inoculação com rizobactérias na produção de raízes de grão-de-bico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) pertence à família das Fabaceae, é uma planta de ciclo anual, ereta, rasteira, diploide, autógama em que a polinização é completa antes da abertura das flores (cleistogamia). O grão-de-bico é a terceira leguminosa mais cultivada no mundo, devido a sua grande utilização na alimentação humana e animal (FONSECA et al., 2020) e por apresentar altos teores nutricionais em seus grãos. A produção mundial corresponde a 14,25 milhões de toneladas, com rendimento médio de

1,038 t ha⁻¹ (FAO, 2024). É uma planta de ciclo anual, com folhas verde-amarela, e que alcança até 70 cm de altura. Possui alto valor nutritivo, sendo constituído de 18% a 25% proteínas, 41% a 51% carboidratos, ácidos graxos insaturados, minerais, fibras e vitaminas, aminoácidos e diversas propriedades medicinais (AL-SNAFI, 2016).

Possui grande potencial produtivo e econômico, sendo utilizada em muitos países como a principal fonte de nutrientes na alimentação, principalmente pelo seu alto teor de proteína. É considerada uma planta de clima seco e frio, podendo se adaptar muito bem em regiões de clima tropical, como é o caso do Brasil. O grão-de-bico é uma leguminosa de elevada importância cultivada no mundo todo, sendo produzida em 56 países, com aproximadamente 12,3 milhões de hectares plantados, sendo que 98% de sua produção e seu consumo está concentrado nos países do Subcontinente Indiano, Oeste da Ásia, Norte da África, Sudoeste Europeu e Centro América (ICRISAT, 2013).

A cultura apresenta características favoráveis de alta rusticidade, tais como baixa incidência de pragas e doenças e tolerância ao déficit hídrico, adaptando-se bem em regiões de clima seco e ameno (QUEIROGA et al., 2021). Apesar de ser considerada uma leguminosa de clima frio, adapta muito bem a regiões de clima tropical, apresentando um bom desenvolvimento e uma boa produtividade no cerrado brasileiro, por exemplo. Para Queiroga et al. (2021), os maiores desafios da pesquisa brasileira para indicação de uma nova opção para cultivo em escala são: 1) Capacidade de adaptação da espécie aos sistemas de cultivos já existentes; 2) Produção equilibrada com sustentabilidade econômica e ambiental; e 3) Cultivares com alto valor nutritivo para consumo humano e a produção de ração animal.

O grão-de-bico é uma planta rústica, o que possibilita o seu cultivo em regiões com baixos índices de precipitação. Podendo ser, inclusive, cultivada em regiões semiáridas e em épocas do ano com menor volume de chuvas. Atualmente a Índia é o maior produtor e consumidor de grão-de-bico, contudo, ainda não consegue atender a demanda de consumo do país, necessitando importá-lo (QUEIROGA et al., 2021). O Brasil por sua vez, possui uma pequena produção, que é considerada insuficiente para atender a demanda do mercado interno necessitando também importar de outros países. Apesar de ser uma cultura muito cultivada em todo o mundo, o grão-de-bico ainda necessita ser muito estudado, pois ainda não se tem muitas informações de cultivo destinados a ambientes produtivos brasileiros, como controle de doenças e pragas, recomendações de adubação entre outros (NASCIMENTO et al., 2016). No Brasil, ainda não existe tradição em produzir essa hortaliça para fins comerciais, sendo sua produção,

quase que inexistente, portanto, insuficiente para atender a demanda do mercado interno, necessitando assim importar de outros países como Argentina e México (AVELAR et al., 2018).

As leguminosas têm uma grande relação com bactérias do tipo *Rhizobium* que resultam em formação de nódulos e conseqüentemente, fixação biológica de nitrogênio (KHATTAK et al. 2006). O grão-de-bico é capaz de viver em relação simbiótica com as bactérias fixando nitrogênio atmosférico que o incorporam na planta e no solo. Em solos com histórico de cultivo desta cultura, estabelecem-se as populações de *Rhizobium* introduzidas pela prática repetida de inoculação. A inoculação de sementes de leguminosas com rizóbio é frequentemente praticada, especialmente em solos sem *Rhizobium* nativos, para melhorar a nodulação, o crescimento e a produção de leguminosas (IMRAN et al. 2015).

Muitas bactérias têm importância significativa na promoção de crescimento vegetal, como é o caso da *klebsiella variicola* que ainda é pouco estudada, mas já foram apresentados por alguns estudos efeitos positivos na promoção do crescimento vegetal e na melhoria da fertilidade do solo. Segundo Balaban et al. (2017), a inoculação com *Klebsiella* sp. na cultura do trigo e milho aumentou os teores de nutrientes do solo. Foi relatado pelos autores que aumentou as concentrações de 18 microelementos diferentes no solo, devido à inoculação com *Klebsiella* sp. Nadeem et al. (2014), observaram mudanças significativas no teor de C, Zn, Fe, Mn e Cu do solo inoculado com *Klebsiella* sp. Isso mostra os efeitos da bactéria *Klebsiella* sp. na melhoria da fertilidade do solo, aumentando os teores de macro e micronutrientes.

Em trabalhos realizados por Khalifa e Aldayel (2022), observaram que a *Klebsiella* sp. pode produzir várias moléculas importantes com funções biológicas benéficas, como amônia, acetoína, H₂S, sendo a amônia fonte de nitrogênio para o crescimento das plantas de cevada. O H₂S é um gás multifuncional que regula muitos processos vitais dentro das células vegetais, incluindo o alívio dos efeitos nocivos de estressores bióticos, abióticos e regulação da germinação de sementes e desenvolvimento de raízes em plantas.

As bactérias rizosféricas promotoras do crescimento de plantas, colonizam as raízes que desempenham papel no aumento do crescimento da planta, controle biológico e indução do sistema de defesa do hospedeiro contra fitopatógenos (ANTIL et al., 2022). Espécies como *Bacillus subtilis*, *B. mycooides*, *Pseudomonas putida*, *Rhizobium etli*, já foram descritas pela sua capacidade de suprimirem nematóides das galhas no solo e já

conquistaram seu lugar no mercado, em produtos comercializados. A estimulação do crescimento vegetal usando cepas de *B. cereus* é medida por parâmetros como comprimento da parte aérea/raiz, biomassa fresca/seca e teor de clorofila. Ali et al. (2021) mostraram que *B. cereus* solubilizante de potássio foi capaz de aumentar a altura da planta e o peso seco da parte aérea, bem como aumentar o número de batatas em condições de campo.

Em estudos realizados por Ahmad et al. (2022), avaliando cepas de rizobactérias e aditivos orgânicos no crescimento do grão-de-bico, verificaram eficácia do *Mesorhizobium ciceri* em aumentar o teor de fósforo e nitrogênio no solo e otimizar os parâmetros agrônômicos com maior crescimento da parte aérea e da raiz na cultura do grão-de-bico.

Várias espécies de *Mesorhizobium* foram descritas em literatura por possuir as cepas de rizóbios originalmente isoladas de nódulos de raízes de grão-de-bico e relatados como potenciais simbioses de grão-de-bico (ZHANG et al., 2020). Esta bactéria também possui eficiência e capacidade em biossintetizar exometabólitos fito-hormonais de natureza citocinínica (Lohosha et al., 2023). A alta concentração de citocininas indica seu importante papel na formação e funcionamento dos nódulos, pois estimulam a proliferação dos tecidos radiculares e, dessa forma, têm efeito positivo na produtividade do grão-de-bico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

- **Área de estudo e condições experimentais**

O estudo foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal de Minas Gerais/Instituto de Ciências Agrárias, Campus Montes Claros (coordenadas latitude 16° 40' 57" S e longitude 43° 50' 25" W). O clima da região é classificado como Aw, megatérmico, com inverno seco e verão chuvoso (ALVARES et al., 2013).

- **Tratamentos e delineamento experimental**

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, num esquema fatorial 2 x 7, consistindo de duas cultivares, Aleppo e Cristalino, inoculadas com sete diferentes inoculantes com microrganismos: *Klebsiella variicola*, *Mesorhizobium* sp, *Rhizobium radiobacter*, *Bacillus cereus*, mix 1 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*, *Mesorhizobium* sp.), mix

2 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*) e testemunha (sem inoculação). A inoculação das sementes foi realizada em capela de fluxo laminar para evitar contaminação. A dose utilizada foi determinada com base na recomendação do inoculante comercial, sendo a dose de 100 mL para cada 60.000 sementes. Desta forma a cada cinco sementes foi aplicada a dose de 10µL, a concentração do inoculante foi de 1×10^7 UFC por mL.

Tabela 1: Microrganismos utilizados em cada tratamento.

Inoculante	Microrganismo
1	Sem microrganismo
2	<i>Klebsiella variicola</i>
3	<i>Mesorhizobium sp.</i>
4	<i>Rhizobium radiobacter</i>
5	<i>Bacillus cereus</i>
6	Mix 1: <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Mesorhizobium sp.</i>
7	Mix 2: <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> .

- **Montagem e condução do estudo**

A unidade experimental foi composta por um pote plástico de 500 mL, contendo 400 g de substrato. O substrato utilizado apresentava em sua composição bagaço de cana, turfa, casca de pinus, serragem de madeira e compostos orgânicos, e foi previamente autoclavado para eliminação de microrganismos que pudessem contaminar ou competir com os microrganismos utilizados neste estudo.

A semeadura foi realizada no dia 26 de outubro de 2023 de forma manual, colocando cinco sementes por pote. Após 10 dias da emergência das plântulas foi realizado o desbaste, deixando-se apenas duas plantas por pote, sendo cada pote considerado uma unidade experimental. A irrigação foi realizada de acordo com a necessidade de água exigida pela planta, utilizando água destilada. Foram feitas 10 aplicações de solução nutritiva contendo todos os micros e macros nutrientes com exceção do nitrogênio, iniciando no dia 30 de novembro de 2023 até o momento da colheita das plantas no dia 5 de janeiro de 2024. As aplicações foram feitas com intervalo de 4 dias entre cada aplicação colocando 20 mL da solução nutritiva de Hoagland e Arnon

(1950) para cada unidade experimental.

- **Caracterização do crescimento das plantas**

As plantas de grão-de-bico foram colhidas com 72 dias após a semeadura para determinação das seguintes características de crescimento: Comprimento da parte aérea (CPA), comprimento do sistema radicular (CR), peso seco da parte aérea (PSPA), radicular (PSR) e total (PST), número de nódulos (NN), relação entre matéria seca de raízes e parte aérea, conteúdo de nitrogênio da parte aérea, radicular e total. Foi retirado o excesso de substrato das raízes, em seguida as raízes foram lavadas utilizando um jato d'água proveniente de uma torneira. As raízes foram lavadas até estarem completamente limpas. Foi feita a medição da parte aérea e das raízes com o auxílio de uma régua de 30 cm e também realizado a contagem dos nódulos presentes nas raízes. Logo, a parte aérea e raízes foram separadas, identificadas, pesadas e secadas em estufa a 65°C, para análise de peso seco e acúmulo de nitrogênio.

- **Análise de nitrogênio**

Foi realizada a análise de acúmulo de nitrogênio (mg/pote) da parte aérea, raiz e total a fim de verificar os efeitos das bactérias. As amostras foram secas em estufa, maceradas no cadinho, posteriormente foram homogeneizadas e obtidas amostras para determinação dos teores de N segundo o método de Kjeldahl (EMBRAPA, 2011). O acúmulo de nitrogênio para os respectivos componentes das plantas foi quantificado por meio da expressão matemática descrita abaixo:

$$\text{Acumulo} = \text{Msxt}/100$$

Onde:

Acúmulo = Teor de N (mg/g) x massa seca (g) por pote = mg/pote

MS: matéria seca no compartimento das plantas (g/pote);

T: teor de nitrogênio no compartimento das plantas (mg/g).

- **Análises estatísticas**

Foi realizado o teste de normalidade por Shapiro-Wilk. Como a normalização por meio da raiz quadrada dos dados feita por meio de transformação não foi satisfatório, optou-se pela descrição gráfica por meio de análise descritiva com apresentação do erro padrão da média.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação com diferentes microrganismos e suas combinações causou distintas promoções de crescimento e desenvolvimento das cultivares de grão-de-bico Aleppo e Cristalino (Figura 1).

Para a cultivar Aleppo, a inoculação com microrganismos resultou em aumento significativo no comprimento da parte aérea (CPA) em comparação com a testemunha sem inoculação (Figura 1). No entanto, para a cultivar Cristalino, o CPA permaneceu semelhante entre plantas inoculadas e não inoculadas, com uma ligeira redução observada na inoculação com o mix 2.

Houve maior variação entre as plantas para o comprimento de raízes (CR) (Figura 1). As variações observadas no comprimento de raízes entre as diferentes inoculações destacam a importância dos microrganismos no desenvolvimento radicular. As inoculações com *Mesorhizobium sp.*, *Bacillus cereus* e mix 2 foram mais eficazes em promover o crescimento radicular de plantas da cultivar Aleppo. Em contradição, a inoculação com *Klebsiella variicola*, *Mesorhizobium sp.* e mix 1 promoveu maior crescimento radicular em plantas da cultivar Cristalino, equiparando-se às plantas sem inoculação. A afinidade do *Mesorhizobium sp.* com ambas as cultivares é particularmente interessante, sugerindo seu potencial uso universal em programas de inoculação de grão-de-bico.

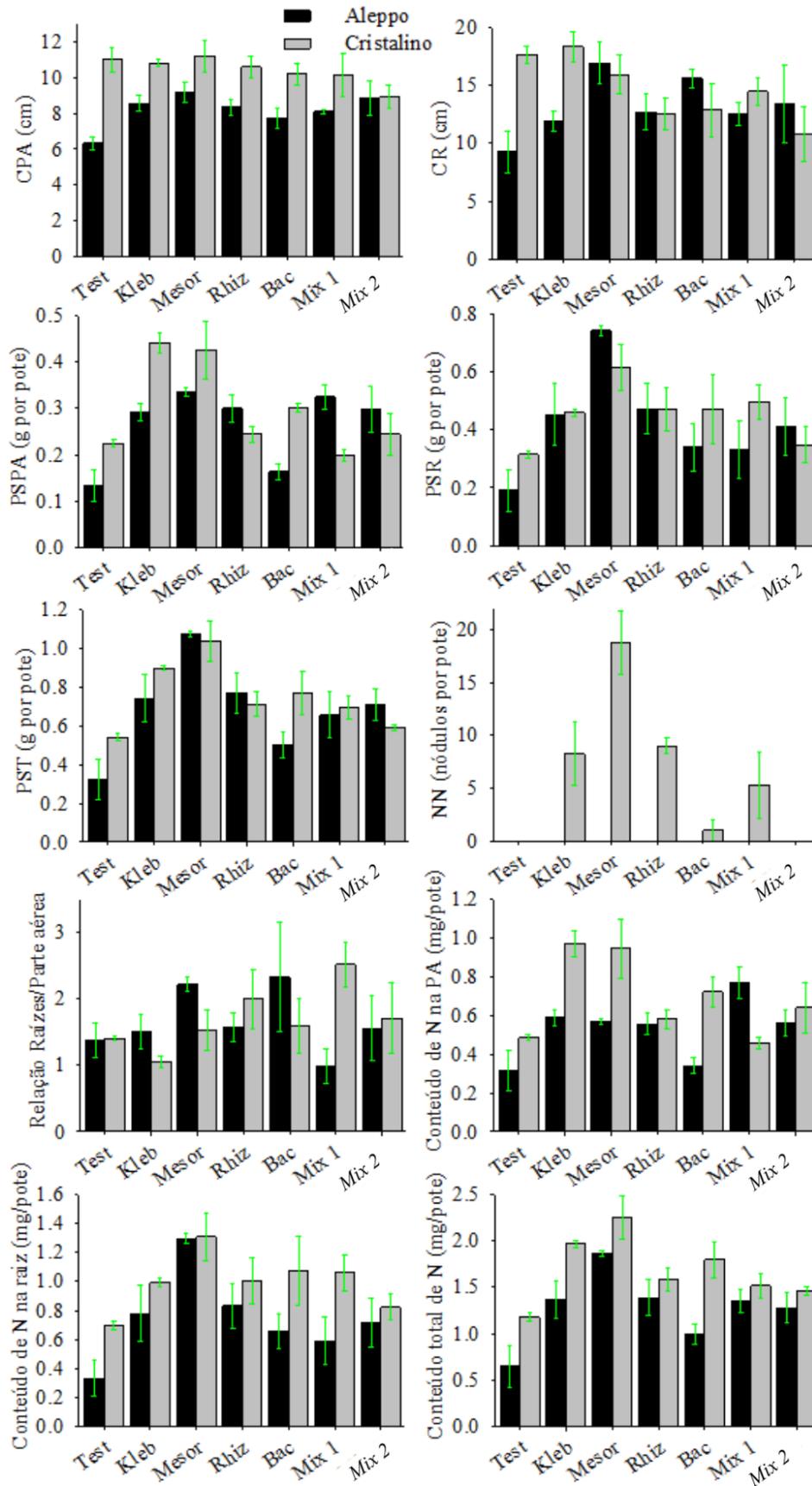


Figura 1. Comprimento da parte aérea (CPA), comprimento do sistema radicular (CR), peso seco da parte aérea (PSPA), radicular (PSR) e total (PST), número de nódulos (NN), relação entre matéria seca de raízes e parte aérea, conteúdo de nitrogênio da parte aérea, radicular e total das plantas de grão-de-bico inoculadas com *Klebsiella variicola* (Kleb), *Mesorhizobium* sp (Mesor), *Rhizobium radiobacter* (Rhiz), *Bacillus cereus* (Bac), Mix 1 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*, *Mesorhizobium* sp) e Mix 2 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*). Linhas verticais acima das colunas nos gráficos indicam erro padrão da média (n=4)

A inoculação com diferentes microrganismos e suas combinações promoveu ganhos em massa seca para as duas cultivares testadas (Figura 1). Todas as plantas das cultivares Aleppo e Cristalino apresentaram maior massa seca total, comparadas com a testemunha sem inoculação, com destaque para o microrganismo *Mesorhizobium* sp. que demonstrou um efeito benéfico notável. O ganho em massa seca total com a inoculação de microrganismos em ambas as cultivares evidência os benefícios da simbiose para o acúmulo de biomassa. Esse incremento na biomassa seca pode ser atribuído ao aumento da produção de fotoassimilados devido à fixação biológica de nitrogênio e outros efeitos benéficos dos microrganismos.

As plantas de grão-de-bico que não foram inoculadas, em ambas as cultivares, não apresentaram formação de nódulos (Figura 1). As plantas da cultivar Aleppo não apresentaram formação de nódulos em nenhuma das associações com os microrganismos testados. A ausência de nódulos na cultivar Aleppo sugere uma possível incompatibilidade entre esta cultivar e os microrganismos testados, ou ainda, a necessidade de ajustes nas condições de inoculação. A formação de nódulos foi observada apenas na cultivar Cristalino, com exceção da inoculação com mix 2. O destaque para *Mesorhizobium* sp. na cultivar Cristalino, com uma média de 19 nódulos por planta, ressalta sua alta afinidade e eficiência como fixador de nitrogênio, superando em mais de 50% os demais microrganismos. Estes achados enfatizam a importância da seleção adequada de microrganismos para maximizar os benefícios da inoculação e melhorar a produtividade dos cultivos de grão-de-bico.

As cultivares de grão-de-bico apresentaram ligeira diferença para a relação de raízes/parte aérea (Figura 1). Para a cultivar Aleppo, a inoculação com *Mesorhizobium* sp. resultou em uma relação superior, indicando um maior desenvolvimento radicular em comparação com a parte aérea. Em contrapartida, plantas da cultivar Cristalino foram superiores quando inoculadas com o mix 1 de microrganismos, mostrando-se semelhantes às plantas inoculadas com o mix 2 e *Rhizobium radiobacter*, demonstrando uma distribuição equilibrada de crescimento entre raízes e parte aérea.

A inoculação dos microrganismos mostrou-se satisfatória para a assimilação de

nitrogênio pelas plantas de grão-de-bico para ambas as cultivares (Figura 1). Para a cultivar Aleppo e Cristalino, houve incremento no conteúdo de N nas raízes, parte aérea e total, em comparação com as plantas que não receberam o inoculante. Foi possível visualizar a diferença entre as cultivares e os nódulos radiculares presentes nas raízes da cultivar BRS Cristalino (Figura 2). Tal resultado evidencia o efeito dos microrganismos como fixadores de nitrogênio, sendo o nutriente convertido em conteúdo de biomassa das plantas. Para a cultivar Aleppo, *Mesorhizobium* sp. destacou-se com valores superiores, reforçando sua eficácia na fixação de nitrogênio e sua contribuição para o acúmulo de biomassa. Na cultivar Cristalino, além de *Mesorhizobium* sp., *Klebsiella variicola* também se destacou, indicando uma potencial associação entre esses microrganismos e a cultivar para a fixação de nitrogênio.



Figura 2: (A) Planta no pote (B) raízes, (C) raízes de grão-de-bico inoculadas com *Mesorhizobium* sp. com nódulos radiculares. Das cultivares BRS Cristalino e BRS Aleppo para o tratamento com *Mesorhizobium* sp. com 72 dias.

Os resultados obtidos confirmam com os estudos de Ahmad et al. (2022), que verificaram a eficácia do *Mesorhizobium ciceri* no crescimento do grão-de-bico. Entre os diversos inoculantes testados, *Mesorhizobium ciceri* mostrou-se eficaz, sendo recomendado em aumentar o teor de fósforo e nitrogênio no solo e otimizar os parâmetros agrônômicos com maior crescimento da parte aérea e da raiz da cultura. Zhang et al. (2020) relataram várias espécies de *Mesorhizobium* como simbiontes potenciais de grão-de-bico, destacando a capacidade dessas cepas para formação de nódulos em raízes de grão-de-bico.

Além disso, Lohosha et al. (2023) destacaram a habilidade do *Mesorhizobium ciceri* em biossintetizar exometabólitos fitohormonais, especialmente citocininas, evidenciando alta atividade fixadora de nitrogênio e eficiência simbiótica. A síntese elevada de citocininas extracelulares por *Mesorhizobium ciceri* indica seu papel crucial

na formação e funcionamento dos nódulos, estimulando a proliferação de tecidos radiculares e impactando positivamente a produtividade do grão-de-bico. Esses achados explicam os resultados positivos observados no presente estudo, onde a inoculação com *Mesorhizobium* sp. promoveu um significativo aumento no desenvolvimento e na assimilação de nutrientes pelas plantas de grão-de-bico.

Zaheer et al. (2019) destacaram os efeitos positivos de *Bacillus* spp. isolados de nódulos e da rizosfera de plantas de grão-de-bico, observando um aumento na solubilização de fósforo, produção de ácido indolacético (AIA), ácidos orgânicos e sideróforos, todos essenciais para o crescimento vegetal. Wani e Khan (2010) também reportaram a eficácia de *Bacillus* spp. na inoculação do grão-de-bico, promovendo o crescimento da planta através da síntese de AIA, que estimula o alongamento e a divisão celular. Almeida Neta et al. (2024), avaliaram a inoculação de grão-de-bico com *Bacillus* spp., e observaram o aumento da biomassa seca total e do número de nódulos.

A inoculação com microrganismos do gênero *Rhizobium* pode ter promovido o crescimento e desenvolvimento do grão-de-bico ao estimular a atividade fotossintética das plantas. Moinuddin et al. (2014) relataram efeitos positivos na expansão e desenvolvimento dos órgãos fotossintéticos, bem como na taxa de acúmulo de fotoassimilados. Kaschuk et al. (2012) sugeriram que plantas nodulantes apresentam maior atividade fotossintética devido ao aumento da demanda por compostos de carbono consumidos pelas bactérias simbióticas para fixação de N₂. Esse aumento na atividade fotossintética pode, portanto, favorecer o crescimento das leguminosas. Almeida Neta et al. (2020) determinaram que a inoculação com *Rhizobium tropici* aumenta a biomassa da parte aérea e a produtividade do grão-de-bico.

Klebsiella variicola é habitualmente isolado de uma ampla gama de ecossistemas vegetais, onde desempenha um papel importante na fixação de nitrogênio e na promoção do crescimento das plantas (LIN et al., 2015). Diferentes trabalhos têm mostrado que *K. variicola* desempenha um papel como uma bactéria promotora do crescimento de plantas por meio de mecanismos diretos. A fixação de nitrogênio e a produção de fitohormônios, particularmente IAA, têm sido exploradas (WEI et al., 2014; REYNA-FLORES, et al. 2018; NACOON et al., 2020) . O isolado *K. variicola* D5A demonstrou atuar como uma rizobactéria promotora do crescimento de plantas. Foram identificados genes potenciais envolvidos na promoção do crescimento de plantas, como aqueles para biossíntese de IAA, solubilização de fosfato, produção de sideróforos, síntese de acetoína e 2,3-butanodiol, fixação de N₂ , atividade de quitinase, fenazina, 4-hidroxibenzoato e síntese

de H₂ S, que estão presentes em algumas outras rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (LIU et al., 2016). *K. variicola* promoveu a fixação biológica de nitrogênio e melhorou o crescimento em cana-de-açúcar (WEI et. al., 2014).

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a inoculação com microrganismos promove o crescimento de plantas de grão-de-bico, variando conforme a cultivar e o tipo de microrganismo utilizado.

Klebsiella variicola (Kleb), *Mesorhizobium* sp (Mesor), *Rhizobium radiobacter* (Rhiz), *Bacillus cereus* (Bac), mix 1 de bactérias (*Klebsiella variicola*, *Bacillus cereus*, *Rhizobium radiobacter*, *Mesorhizobium* sp) são responsáveis pela formação de nódulos radiculares fixadores de nitrogênio em plantas de grão-de-bico da cultivar Cristalino. Não há formação de nódulos em plantas da cultivar Aleppo.

A alta afinidade de *Mesorhizobium* sp. com ambas as cultivares sugere seu potencial como inoculante universal.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M. A.; Q. U. KHANA and H. SHAHZADB. Response of Rhizobacterial strains and organic amendments on chickpea growth. **Brazilian Journal of Biology**, 2022, vol. 82, e261908.

ALMEIDA NETA, M. N. et al. Does inoculation with *Rhizobium tropici* and nitrogen fertilization increase chickpea production? **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, p. e016520, 2020.

ALMEIDA NETA, M. N.; PEGORARO, R. F.; DUARTE, E. R.; SOARES, V. A. S. F.; NUNES, J. A. R.; SAMPAIO, R. A.; FERNANDES, L; A. Inoculation with *Bacillus* spp. combined with nitrogen fertilization increases growth and uptake of macronutrients in chickpea. **Contribuciones a las Ciencias Sociales**, v. 17, n. 1, p. 7055–7078, 2024.

AL-SNAFI, A. E. The medical Importance of *Cicer arietinum*-A review. **IOSR Journal of Pharmacy**, v.6, n.3, p.29-40, 2016.

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Golçalves JLM, Sparovek G (2013) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22(6):711-728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

ARTIAGA, O. P.; SPEHAR, C. R.; BOITEUX, L. S.; NASCIMENTO, W. M. Avaliação de genótipos de grão de bico em cultivo de sequeiro nas condições de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 10, núm. 1, 2015, pp. 102-109.

ANTIL, S.; KUMAR, R.; PATHAK, D. V.; KUMAR, A.; PANWAR, A.; KUMARI, A. Plant Growth- Promoting Rhizobacteria—*Bacillus cereus* KMT-5 and *B. Megaterium* KMT-8 Effectively Suppressed *Meloidogyne Javanica* Infection. **Appl. Soil Ecol.** 2022, 174, 104419.

BALABAN, N. P.; SULEIMANOVA, A. D.; VALEEVA, L. R.; CHASTUKHINA, I. B.; RUDAKOVA, N. L.; SHARIPOVA, Sr.; SHAKIROV, E. V. Fitases Microbianas e Fitato: Explorando Oportunidades para o Manejo Sustentável de Fósforo na Agricultura. **Sou. J. Mol. Biol.** 2017, 7, 11–29.

ELKOCA, E.; KANTAR, F.; SAHIN, F. Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, plant growth, and yield of chickpea. **Journal of Plant Nutrition**, 31(1), 157–171. <https://doi.org/10.1080/01904160701742097>. 2008.

FERREIRA, A. C. P.; BRAZACA, S. G. C.; ARTHUR, V. Alterações químicas e nutricionais do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) cru irradiado e submetido à cocção. **Cienc.Tecnol. Alim.**, Campinas, v.26, n.1, p.80-88, jan.-mar.2006.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations.** <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E/> 2019.

FONSECA, J. H. DOS. S.; NETA, M. A. A.; PEGORARO, R. F.; ALMEIDA, G. F. DE.; COSTA, C. A. DA.; ALMEIDA, E. S DE. Chickpea production in response to fertilization with zinc and doses of phosphorus. **Comunicata Scientiae**, e-ISSN: 2177-5133, published: 13 May 2020.

HANSEN, A. P.; CHOUDHARY, D. K.; AGRAWAL, P. K.; VARMA, A. **Rhizobium Biology and Biotechnology**. 2017.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

HYNES, R. K., LEUNG, G. C. Y.; HIRKALA, D. L. M.; NELSON, L. M. Isolation, selection, and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil, and chickpea grown in western Canada. **Canadian Journal of Microbiology**. 2008, Apr;54:248-58. doi:10.1139/W08-008.

IMRAN, A., M. S. MIRZA, T. M. SHAH, K. A.; MALIK, HAFEEZ, F. Y. Differential response of kabuli and desi chickpea genotypes toward inoculation with PGPR in different soils. **Frontiers in Microbiology** 6:859. doi:10.3389/fmicb.2015.00859. 2015.

ICRISAT—International crops research institute for the semi—Arid tropics. Chickpea. 2013.

KASCHUK, G. et al. Photosynthetic adaptation of soybean due to varying effectiveness of N₂ fixation by two distinct *Bradyrhizobium japonicum* strains. **Environmental and Experimental Botany**, 76:1-6, 2012.

KHALIFA, A. Y. Z.; Aldayel, M. F. Isolation and characterization of *Klebsiella oxytoca* from the rhizosphere of *Lotus corniculatus* and its biostimulating features. **Braz. J. Biol.** 82, 2022.

KHATTAK, S. G., KHAN, D. F.; SHAH, S. H.; MADANI, M. S.; KHAN, T. Role of rhizobial inoculation in the production of chickpea crop. **Soil and Environment** 25 (2):143-45, 2006.

LIN, L. et al. Complete genome sequence of endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E. **Standards in Genomic Sciences**, v. 10, n. 1, p. 22, 8 maio

2015.

LIU, W. et al. Whole genome analysis of halotolerant and alkalotolerant plant growth-promoting rhizobacterium *Klebsiella* sp. D5A. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 26710, 24 maio 2016.

LOHOSHA O. V., VOROBEL, YU. O., LEONOVA, N. O. Symbiotic Efficiency and Cytokinin Activity of New Mesorhizobium ciceri Strains. **Microbiological journal**. 2023 (1). P. 3—11.

MURRAY, J. D. Invasion by invitation: Rhizobial infection in legumes. **Molecular Plant- Microbe Interactions**, 24(6), 631–639. 2011.

MORGANTE, P. G. **Fixação biológica e assimilação de nitrogênio**. (2005). <http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisiVegGrad/MetNitro.htm>, consultado em 19-09-2009.

MOINUDDIN, D. T. A; HUSSAIN, S.; KHAN, M. M. A.; HASHMI, N.; IDREES, M.; NAEEM, M.; ALI, A. Use of N and P biofertilizers together with phosphorus fertilizer Improves growth and physiological attributes of chickpea. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 38, 47-54. 2014.

NACCOON, S. et al. Interaction between Phosphate Solubilizing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth Promotion and Tuber Inulin Content of *Helianthus tuberosus* L. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 4916, 18 mar. 2020.

NADEEM, SM; AHMAD, M.; ZAHIR, ZA; JAVAÍD, A.; ASHRAF, M. O papel das micorrizas e das rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) na melhoria da produtividade das culturas em ambientes estressantes. **Biotecnologia**. Av. 2014, 32, 429–448.

NASCIMENTO, W. M., SILVA, P., ARTIAGA, O., SUINAGA, F. A. **Grão-de-bico**. In: Nascimento, W. M. (ed) Hortaliças leguminosas. Embrapa Hortaliças, Brasília, Brazil. p. 89- 118. 2016.

REYNA-FLORES, F. et al. Draft Genome Sequences of Endophytic Isolates of *Klebsiella variicola* and *Klebsiella pneumoniae* Obtained from the Same Sugarcane Plant. **Genome Announcements**, v. 6, n. 12, p. e00147-18, 22 mar. 2018.

QUEIROGA, V. DE P.; GIRÃO, E. G.; ALBUQUERQUE, E. M. DE. **Grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.): Tecnologias de plantio e utilização**. 1ed. / Campina Grande: AREPB, 2021. 199 f. : il. color. ISBN 978-65-87070-03-2021.

VERMA J. P.; YADAV J.; TIWARI K. N.; KUMAR A. “Effect of indigenous Mesorhizobium spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture,” **Ecological Engineering** 51,282–286. 2013.

WANI, P. A.; KHAN, M. S. *Bacillus* species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. **Food and Chemical Toxicology**.48(11): 3262-3267, 2010.

WEI, C.-Y. et al. Endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E promotes sugarcane growth. **Biology and Fertility of Soils**, v. 50, n. 4, p. 657–666, 1 maio 2014.

ZAHEER, A.; MALIK, A.; SHER, A.; QAISRANI, M. M.; MEHMOOD, A.; KHAN, S. U.; RASOOL, M. Isolation, characterization and effect of phosphate-zinc-solubilizing bacterial strains on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth. **Saudi journal of biological sciences**. 26(5): 1061-1067, 2019.

ZHANG, J.; CHEN, W.; SHANG, Y., GUO, C.; PENG, S.; CHEN, W. **Biogeographic distribution of chickpea rhizobia in the world**. In: Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture. Academic press, 2020. p. 235-239.