

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**Maria Nilfa Almeida Neta**

**Inoculação com rizobactérias e adubação nitrogenada no crescimento, produção e acúmulo  
de nutrientes em grão-de-bico**

**Montes Claros**

**2021**

**Maria Nilfa Almeida Neta**

**Inoculação com rizobactérias e adubação nitrogenada no crescimento, produção e acúmulo de nutrientes em grão-de-bico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

**Orientador:** Rodinei Facco Pegoraro

Montes Claros  
Fevereiro de 2021

Almeida Neta, Maria Nilfa.

A447i  
2021 Inoculação com rizobactérias e adubação nitrogenada no crescimento, produção e acúmulo de nutrientes em grão-de-bico [manuscrito] / Maria Nilfa Almeida Neta. Montes Claros, 2021.  
100 f.: il.

Tese (doutorado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Rodinei Facco Pegoraro

Banca examinadora: Cândido Alves da Costa, Luiz Arnaldo Fernandes, Eduardo Robson Duarte, Rogério Faria Vieira, Warley Marcos Nascimento.

Inclui referências: f. 21-24; 41-44; 61-65; 81-86.

1. Grão de bico -- Teses. 2. Bactérias gran-negativas -- Teses. 3. Bactérias promotoras de crescimento -- Teses. 4. Fertilizantes nitrogenados -- Teses. I. Pegoraro, Rodinei Facco. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 631.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DOUTORADO EM PRODUÇÃO VEGETAL

### ATA DE DEFESA DE TESE

Aos 26 dias do mês de fevereiro de 2021, às 08:00 horas, sob a Presidência do Professor Rodinei Facco Pegoraro, D. Sc. (Orientador - ICA/UFMG) e com a participação dos Professores Cândido Alves da Costa, D. Sc. (ICA/UFMG), Luiz Arnaldo Fernandes, D. Sc. (ICA/UFMG), Eduardo Robson Duarte, D. Sc. (ICA/UFMG), Rogério Faria Vieira, D. Sc. (Embrapa/Epamig) e Warley Marcos Nascimento, D. SC. (Embrapa Hortaliças), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de tese de **Maria Nilfa de Almeida Neta**, aluna do Curso de Doutorado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de tese intitulada: **“Inoculação com rizobactérias e adubação nitrogenada no crescimento, produção e acúmulo de nutrientes em grão-de-bico”**, sendo a aluna considerada **Aprovada**. E, para constar, eu, Professor Rodinei Facco Pegoraro, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do **ARTIGO 68** do regulamento do Curso de Doutorado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

**Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.**

Montes Claros, 26 de fevereiro de 2021

Rodinei Facco Pegoraro  
Orientador

Cândido Alves da Costa  
Membro

Luiz Arnaldo Fernandes  
Membro

Eduardo Robson Duarte  
Membro

Rogério Faria Vieira  
Membro

Warley Marcos Nascimento  
Membro



Documento assinado eletronicamente por **Rodinei Facco Pegoraro, Professor do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 22:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Arnaldo Fernandes, Membro de comissão**, em 27/02/2021, às 07:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Candido Alves da Costa, Professor do Magistério Superior**, em 27/02/2021, às 10:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rogério Faria Vieira, Usuário Externo**, em 01/03/2021, às 11:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **warley marcos nascimento, Usuário Externo**, em 02/03/2021, às 15:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Robson Duarte, Membro**, em 02/03/2021, às 21:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0591558** e o código CRC **069DAA0B**.

**Maria Nilfa Almeida Neta**

**Inoculação com rizobactérias e adubação nitrogenada no crescimento, produção e acúmulo  
de nutrientes em grão-de-bico**

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Cândido Alves da Costa  
ICA/UFMG

Prof. Luiz Arnaldo Fernandes  
ICA/UFMG

Prof. Eduardo Robson Duarte  
ICA/UFMG

Prof. Rogério Faria Vieira  
Embrapa/Epamig

Pesquisador Warley Marcos Nascimento  
Embrapa Hortaliças



---

Prof. Rodinei Facco Pegoraro  
Orientador - ICA/UFMG

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por conduzir os meus passos e ser minha força e proteção;

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG) pela oportunidade, infraestrutura e realização do trabalho;

Ao Prof. Rodinei Facco Pegoraro, pela orientação, paciência, ensinamentos e amizade construída durante o percurso;

Aos Professores Cândido Alves da Costa, Luiz Arnaldo Fernandes, Eduardo Robson Duarte, Rogério Faria Vieira e o Pesquisador Warley Marcos Nascimento pela colaboração e disponibilidade;

Aos órgãos de fomento: FAPEMIG, CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro e bolsas que possibilitaram a realização deste trabalho;

Aos funcionários da Fazenda Experimental Professor Hamilton de Abreu Navarro – FEHAN, em especial ao Ramom, Reginaldo e o Gilson, pelo apoio na condução do experimento de campo;

A todos do grupo GENESIR (Grupo de Pesquisa em Nutrição de Plantas, Sustentabilidade e Inovação), que foram fundamentais durante a condução dos trabalhos e o período de convivência;

Aos laboratoristas e amigos Márcio Neves e Katiuce pela colaboração e amizade;

Aos funcionários Grazi, Fernanda, Elisângela, Edivaldo, Clara, Zuba, Luiz Henrique, Luiz e os demais funcionários da biblioteca, segurança e limpeza pela prontidão e amizade aos serviços prestados;

Aos professores que tive a oportunidade de cursar disciplinas e conviver nos laboratórios, pelos conhecimentos compartilhados;

Aos colegas de pesquisa e disciplinas pelo auxílio e disponibilidade, em especial aos que estiveram mais próximos;

Aos amigos Elaine, Márcio Neves, Jessica Nunes, Jessica Mendes, Márcio Vena, Bruna, Iago, Verônica, Rafael, Aniele, Jorge e Frederic pela amizade construída durante o doutorado;

Aos meus queridos pais, Helton e Rosângela e irmãos Brenner e Selton pelo apoio, amor e incentivo constantes. E ao meu avô, José Antônio, e avós (em memória), que sempre impulsionaram meus sonhos;

A todos que de alguma forma contribuíram direta e indiretamente na condução do projeto e que por falta minha não foram citados anteriormente. Sem ajuda de todos, jamais teria chegado até aqui.

**Muito obrigada!**

**Meri, você sabe nadar?**  
**Não, mas eu sei aprender.**  
**Meri, 2 anos**  
**@frasesdecrianças**



## INOCULAÇÃO COM RIZOBACTÉRIAS E ADUBAÇÃO NITROGENADA NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO E ACÚMULO DE NUTRIENTES EM GRÃO-DE-BICO

### RESUMO

A atividade biológica de bactérias fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento são importantes nos cultivos de leguminosas, pois reduzem o uso de fertilizantes e aumentam a produção agrícola. Contudo, essas informações no cultivo de grão-de-bico são consideradas escassas em regiões tropicais. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação do *Rhizobium tropici*, *Bacillus* sp. e da adubação nitrogenada no crescimento, produção e absorção de nutrientes em grão-de-bico. Foram realizados três experimentos com delineamento em blocos ao acaso, e quatro repetições. O primeiro experimento consistiu em esquema fatorial 2 x 6, consistindo da presença e ausência da inoculação do *Rhizobium tropici* e seis doses de N: 0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup>, na forma de ureia. O estudo foi realizado em duas áreas com distintos teores de matéria orgânica do solo (MOS) e tempos de cultivos com espécie agrícolas. O segundo e terceiro estudos foram conduzidos no esquema fatorial 2 x 6, consistindo de ausência ou presença de *Bacillus* spp. (concentração de 1 x 10<sup>7</sup> UFC por mL) de isolados radiculares, e seis doses de N como descritas para o primeiro estudo. O segundo estudo avaliou as características de produção e produtividade do grão-de-bico e o terceiro caracterizou a biomassa de matéria seca e a absorção de macronutrientes na fase de florescimento. As respostas em produção e acúmulo de nutrientes diferiram entre os fatores estudados. Na área com menor teor de MOS, no primeiro estudo, a inoculação com *Rhizobium tropici* ou a aplicação de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N aumentaram a produção de grão-de-bico e os teores foliares de N, P, K e Mg, incrementando em 65% a produtividade, comparado ao tratamento testemunha. No entanto, maior disponibilidade natural de N do solo com maior teor de MOS supriu a demanda da planta para obtenção de máxima produtividade, indicando apenas a resposta de inoculação com *Rhizobium tropici* para os componentes de produção (massa de grãos por plantas, número de vagens com um grão, massa seca de folhas, total e índice de clorofila). No segundo e terceiro estudos, a inoculação de sementes com *Bacillus* spp. aumentou a produtividade, a nodulação com rizóbios e favoreceu a absorção K, Ca e Na, contribuindo para a produção superior a 4 t ha<sup>-1</sup> de grãos, na área com menor teor de MOS (maior tempo de cultivo). No segundo estudo, a aplicação 25 kg ha<sup>-1</sup> mostrou-se suficiente para obtenção de maiores produtividade no grão-de-bico, com ausência de resposta na área com menor ter de MOS. A ordem decrescente de acúmulo de nutrientes na parte aérea do grão-de-bico foi a seguinte: nitrogênio (109,71 kg ha<sup>-1</sup>)>potássio (68,94 kg ha<sup>-1</sup>)> cálcio (25,28 kg ha<sup>-1</sup>)> magnésio (10,17 kg ha<sup>-1</sup>)> fósforo (4,98 kg ha<sup>-1</sup>) > sódio (2,23 kg ha<sup>-1</sup>). A adição de mix de *Bacillus* spp. como prática de manejo nos cultivos de grão-de-bico é recomendada pois aumenta a nodulação, biomassa seca e absorção de nutrientes. A recomendação de adubação nitrogenada no grão-de-bico é dependente da condição natural de MOS nos solos e tempo de cultivo.

**Palavras-chave:** *Cicer arietinum* L. Bactérias simbiotes. Bactérias promotoras de crescimento. Doses de N. Matéria orgânica. Acúmulo de nutrientes.

## INOCULATION WITH RHIZOBACTERIA AND NITROGEN FERTILIZATION IN THE GROWTH, PRODUCTION AND ACCUMULATION OF NUTRIENTS IN CHICKPEAS

### ABSTRACT

The biological activity of nitrogen-fixing and growth-promoting bacteria is important in legume crops, as they reduce the use of fertilizers and increase agricultural production. However, this information in the cultivation of chickpeas is considered scarce in tropical regions. In this context, the objective was to evaluate the effect of inoculation of *Rhizobium tropici*, *Bacillus* spp. and nitrogen fertilization in the growth, production and absorption of nutrients in chickpeas. For this, three studies were carried out, all with the same randomized block design, with four replications. The first experiment consisted of a 2 x 6 factorial scheme, consisting of the presence and absence of *Rhizobium tropici* inoculation and six doses of N: 0, 25, 50, 75, 100 and 125 kg ha<sup>-1</sup>, in the form of urea. The study was carried out in two areas with different levels of soil organic matter (MOS) and cultivation time. The second and third studies were conducted in a 2 x 6 factorial scheme, consisting of the absence or presence of *Bacillus* spp. (concentration of 1 x 10<sup>7</sup> CFU per mL) of root isolates, and six doses of N identical to those of the first study. The second study evaluated the characteristics of production and productivity of chickpeas and the third study characterized the dry matter biomass and the absorption of macronutrients in the flowering phase. The responses in nutrient production and accumulation differed between the factors studied. In the area with the lowest MOS content, in the first study, inoculation with *Rhizobium tropici* or the application of 125 kg ha<sup>-1</sup> of N increased the production of chickpeas and the leaf contents of N, P, K and Mg, increasing productivity by 65% when compared to the control treatment. However, the greater natural availability of N from the soil with a higher MOS content supplied the plant's demand for maximum productivity, indicating only the inoculation response with *Rhizobium tropici* for some production components (mass of grains per plant, number of pods with a grain, dry leaf mass, total and chlorophyll index). In the second and third studies, seed inoculation with *Bacillus* spp. increased productivity, nodulation with rhizobia and favored K, Ca and Na absorption, contributing to the production of more than 4 t ha<sup>-1</sup> of grains, especially in the area with lower MOS content (longer cultivation time). In the second study, the application of 25 kg ha<sup>-1</sup> proved to be sufficient to obtain greater productivity in the chickpeas, with no response in the area with the highest MOS. The decreasing order of nutrient accumulation in the aerial part of the chickpeas was as follows: nitrogen (109.71 kg ha<sup>-1</sup>) > potassium (68.94 kg ha<sup>-1</sup>) > calcium (25.28 kg ha<sup>-1</sup>) > magnesium (10.17 kg ha<sup>-1</sup>) > phosphorus (4.98 kg ha<sup>-1</sup>) > sodium (2.23 kg ha<sup>-1</sup>). The addition of *Bacillus* spp. as a management practice in chickpea crops it is recommended because it increases nodulation, dry biomass and nutrient absorption. The recommendation of nitrogen fertilization in chickpeas is dependent on the natural condition of MOS in soils and cultivation time.

**Keywords:** *Cicer arietinum* L. Symbiont bacteria. Growth-promoting bacteria. N doses. Organic matter. Nutrient accumulation.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
3.1 Aspectos gerais da cultura do grão-de-bico.....	14
3.2 Fixação biológica de nitrogênio no cultivo de grão-de-bico.....	15
3.3 Bactérias promotoras de crescimento no cultivo de grão-de-bico.....	18
3.4 Adubação nitrogenada no cultivo de grão-de-bico.....	19
3.5 Referências.....	21
<b>4 ARTIGOS.....</b>	<b>24</b>
4.1 Artigo 1 – Inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> e adubação nitrogenada aumentam a produção de grão-de-bico?.....	25
4.2 Artigo 2 – Produção de grão-de-bico inoculado com <i>Bacillus</i> sp. e doses de N.....	45
4.3 Artigo 3 – A inoculação com <i>Bacillus</i> sp. em conjunto com adubação nitrogenada aumentam o crescimento e a absorção de macronutrientes no grão-de-bico.....	66
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é a terceira leguminosa mais cultivada no mundo. Em 2018, produziram-se 17,19 milhões de toneladas dessa leguminosa, com produtividade média de 965 kg ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2020). Os grãos apresentam elevado teor de proteína digerível (17 a 31,5 %), alta quantidade de aminoácidos essenciais (JUKANTI *et al.*, 2012) e baixo índice glicêmico (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002), características que aumentam o seu valor nutracêutico. A Índia detém 70% da produção de grão-de-bico mundial, sendo também a maior consumidora (ICRISAT, 2017).

No Brasil, o cultivo é incipiente. Por isso, a necessidade da importação do grão. O desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas às condições climáticas locais têm permitido o aumento da produção. A região do cerrado brasileiro, se destaca com estudos em sequeiro (ARTIAGA *et al.*, 2015), adubação fosfatada (PEGORARO *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2020), diferentes locais de cultivo (AVELAR *et al.*, 2018; HOSKEN *et al.*, 2018), e produtividades em sistemas irrigados têm sido obtidas (5000 kg ha<sup>-1</sup>).

Com a obtenção de altas produtividades há maior demanda nutricional das plantas, especialmente do macronutriente nitrogênio (N), elemento relacionado à produção de biomassa e grãos. O N é o principal componente das proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, coenzimas, fitohormônios e metabolitos secundários (MARSCHNER, 2012; ANDREWS; RAVEN; LEA, 2013; TAIZ *et al.*, 2017). Devido à dinâmica do N no solo, a adubação com N tem sido estudado práticas de manejo para maximizar a eficiência do uso de N, de modo a reduzir perdas por lixiviação e volatilização, e aumentem a eficiência de sua utilização pelas plantas (ANDREWS; RAVEN; LEA, 2013; TAIZ *et al.*, 2017; DEMIRBAS *et al.*, 2018; JOSHI *et al.*, 2019).

O rendimento das plantas em resposta à adubação nitrogenada depende da presença de matéria orgânica do solo (MOS) e do potencial produtivo da cultivar, dentre outros. Solos com elevado teor MOS possuem maior capacidade de fornecimento de N para as plantas (LIU *et al.*, 2019; CAMARGO *et al.*, 2008), diminuindo a demanda das plantas pelo N da adubação nitrogenada e da fixação biológica de nitrogênio (FBN). Romanya e Casals (2019) destacaram que solos com alta fertilidade aumentam a aquisição de N atmosférico pelo grão-de-bico. Mas os autores não verificaram aumento na FBN em solos com menor teor de MOS.

Em leguminosas cultivadas, a FBN pode contribuir substancialmente para a redução do consumo de fertilizante mineral. O grão-de-bico pode acumular na parte aérea de 80 a 120 kg ha<sup>-1</sup> do N via bactérias diazotróficas (LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2016; SINGH; SINGH, 2018; ZHANG *et al.*, 2020). Nesse processo natural o N<sub>2</sub> atmosférico é convertido, em temperatura ambiente e pressão subatmosférica para formas minerais disponíveis para plantas (MARSCHNER, 2012; LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014; SINGH; SINGH, 2018; JENSEN; CARLSSON; HAUGGAARD-NIELSEN, 2020; ZHANG *et al.*, 2020). Já o processo industrial para produção de fertilizantes nitrogenados ocorre liberação de gases do efeito estufa, por demandarem grande quantidade de energia fóssil não renovável (MARSCHNER, 2012; JENSEN; CARLSSON; HAUGGAARD-NIELSEN, 2020). A eficiência da simbiose de *Rhizobium* sp. e o grão-de-bico pode ser aumentada com a adição de bactérias promotoras de crescimento (ELKOCA; KANTAR; SAHIN, 2008).

O uso de rizobactérias promotoras de crescimento também é opção de biofertilizantes no cultivo de grão-de-bico (SHARMA *et al.*, 2018; VERMA *et al.*, 2020). Bactérias do gênero *Bacillus* sp sintetizam de fitormônios como AIA (MONDAL *et al.*, 2019; BALBINOT; RODRIGUES; BOTELHO, 2020), secretam exopolissacarídeos, sideróforos e flavonoides que inibem o movimento de íons tóxicos (WANI; KHAN, 2010), controlam populações patogênicas (SIVARAMAIAH; MALAK; SINDHU, 2007), propiciam o equilíbrio iônico (HASHEM; TABASSUM; ABD-ALLA, 2019), promovem a solubilização de fósforo (YADAV; VERMA, 2014; HASHEM; TABASSUM; ABD-ALLA, 2019), aumentam a FBN e nodulação (SIVARAMAIAH; MALAK; SINDHU, 2007; ELKOCA; KANTAR; SAHIN, 2008; QURESHI *et al.*, 2009) e a produção de grãos (WANI; KHAN, 2010).

A aquisição de N pelas plantas via processo simbiótico ou associativo, em substituição à adubação mineral, e ao uso racional do N inorgânico em solos com distintas condições físico-químicas são práticas capazes de aumentar a eficiência de uso do N na agricultura. No entanto, esses manejos ainda são escassos em cultivares produtivas de grão-de-bico em região tropical brasileira essas informações de manejo ainda são consideradas escassas.

Estudos sobre a capacidade do grão-de-bico na utilização do N atmosférico e adubação nitrogenada são necessários para adequação do manejo dessa leguminosa em regiões tropicais brasileiras.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a eficiência da inoculação com bactérias (*Rhizobium tropici* e mix de *Bacillus* spp.) no cultivo de grão-de-bico irrigado em região tropical brasileira.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os componentes de produção e produtividade de grão-de-bico inoculado com *Rhizobium tropici* e adubado com N em solos com teores de MOS contrastantes;
- Avaliar os componentes de produção e a produtividade de grão-de-bico sob inoculação com *Bacillus* spp. e doses de N em duas áreas de cultivo;
- Avaliar o crescimento e o acúmulo de nutrientes no grão-de-bico sob inoculação com *Bacillus* spp. e doses de N.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Aspectos gerais da cultura do grão-de-bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é originário no sudeste da Turquia e da Síria e centro secundário na Europa, Índia e Nordeste da África (VAN DER MAESEN, 1987). O processo de domesticação seguiu, com a seleção artificial que nesse caso, favoreceu as sementes maiores e palatáveis, menor deiscência, perda de dormência, maturação uniforme e precocidade, além de diversos formatos de grãos (SCHWANITZ, 1966).

É uma leguminosa, autógama, com cleistogamia, em que a polinização é completada antes da abertura das flores. Pertence a família Fabaceae, subfamília Papilionoideae e da tribo Cicereae (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Don (1882) e Duschak (1871) sugerem que o nome *Cicer* é derivado de uma tribo do norte da Grécia, que faz alusão a forma das sementes, semelhantes a cabeça de carneiro. Dentro do gênero *Cicer*, apenas o grão-de-bico possui interesse econômico (VAN DER MAESEN, 1987).

A germinação é hipógea. A raiz primária é comprida e ramificada. Seus ramos são classificados em primários, secundários e terciários. Possui cinco tipos de crescimento baseados na inclinação das hastes: ereto, semiereto, semi-inclinado, inclinado e prostado. Os eretos e semieretos são adaptados para à colheita mecanizada. Possui ainda tricomas glandulares e não glandulares (NASCIMENTO *et al.*, 2016). As folhas podem ser alternadas, imparipinadas, compostas por 9 a 19 folíolos, sésseis, ovalados ou oblongos. As flores permitem diferenciar dois tipos de grão-de-bico: flor com cor púrpura característica do grupo desi e flor de cor branca, do grupo kabuli. As vagens podem conter uma ou duas sementes. Os formatos de sementes são angular, cilíndrico e arredondado, com superfície enrugada ou áspera (desi) ou lisa (kabuli). O peso de cem sementes varia de 8 a 75 g (VAN DER MAESEN, 1987; NASCIMENTO *et al.*, 2016).

O grão-de-bico possui rusticidade, tem baixo custo de produção e tem capacidade de fixar nitrogênio atmosférico o que contribui para a sustentabilidade agrícola (CANCI; TOKER, 2009; LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014; ARTIAGA *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2016). É uma leguminosa que exige temperatura amena e clima seco, e pode ser cultivado em sequeiro, no final do período chuvoso, ou com irrigação (NASCIMENTO *et al.*, 2016).

Essa leguminosa possui alto teor de proteínas (JUKANTI *et al.*, 2012), variando de 17 a 31 % e baixo índice glicêmico (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002), composição balanceada de aminoácidos (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina), além de cálcio, fósforo, ferro e vitaminas A, B e B2. Os grãos podem ser consumidos verdes, secos, fritos, torrados e cozidos. Podem ser moídos e a farinha é utilizada em sopas, pastas e no preparo de pães (LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2016; BIDYARANI *et al.*, 2016).

A produção e o consumo dessa leguminosa concentram-se na Índia, Oeste da Ásia, Norte e Leste da África. Em 2018, produziram-se 17,1 milhões toneladas em 17,8 milhões de hectares. A Índia tem a maior área plantada (11 milhões de hectares) e produtividade de 956 kg ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2020) e é o maior consumidor mundial do grão. O manejo dessa cultura no país é tradicional, sem o uso de tecnologia específica, o que resulta em uma produção insuficiente, sendo necessário importar o grão.

Por outro lado, na Austrália o cultivo é incentivado como leguminosa para rotação de cultura com o sorgo (ELIAS; HERRIDGE, 2014).

No Brasil, há crescente demanda por esse grão (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Foi introduzido no país por imigrantes espanhóis e do oriente médio, constituindo até hoje de grande parte dos consumidores desse grão. Segundo a Embrapa hortaliças (2018), o segmento da população que não consome carne, os celíacos e os adeptos da alimentação saudável pode contribuir para o aumento do consumo dessa leguminosa no país.

De acordo com Avelar *et al.* (2018), até 2010 não havia registro de áreas com produção do grão-de-bico no Brasil, levando o país a importar. Em 2011, o Brasil importou-se 4 mil toneladas, em 2013 esse volume passou de 7 mil toneladas do grão, com valor de aproximadamente 6,8 milhões de dólares. O grão-de-bico foi, importado da Argentina e do México (ARTIAGA *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2016).

Pesquisas no sul do Brasil com o cultivo de grão-de-bico eram realizadas desde a primeira guerra mundial com grãos de origem europeia. Em 1979 o IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) iniciou testes com linhagens do norte da África, e selecionou a cultivar 'IAC Marrocos', do grupo kabuli, com peso de mil grãos de 260 g, ciclo de vida de 125 a 140 dias, para plantio no estado de São Paulo (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Em 1994 a Embrapa hortaliças, na região do Cerrado brasileiro, selecionou a cultivar 'Cícero', selecionada de linhagens do México, para consumo *in natura*. A Cícero tem, peso de mil sementes de 640 g, ciclo de vida de 100 dias e grãos de cor creme claro (GIORDANO *et al.*, 1998). Em 1999, no estado de Minas Gerais, a Epamig lançou a cultivar 'Leopoldina'. Essa cultivar tem ciclo de vida de 125 a 135 dias, peso de mil sementes de 320 g. Em média essa cultivar apresentou rendimento entre 20 e 42% superior à do cultivar IAC Marrocos (VIEIRA; RESENDE; CASTRO, 1999).

Entre 2000 e 2015, somente pesquisas pontuais continuaram a ser realizadas pela Embrapa hortaliças para a obtenção de sementes básicas da cultivar 'Cícero'. Em 2015, a Embrapa hortaliças disponibilizou aos produtores do Planalto Central, a cultivar 'BRS Aleppo', selecionada a partir de linhagem do ICRISAT (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) em parceria com a UnB (Universidade de Brasília). Essa cultivar é recomendada para áreas irrigadas, com alto potencial produtivo, permite a realização de colheita mecanizada, tolerante a *Fusarium* spp. e maior adaptabilidade climática. Com aptidão para o consumo *in natura* e para processamento, e produtividade de 2.200 kg ha<sup>-1</sup> (NASCIMENTO *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2016; AVELAR *et al.*, 2018). Em 2017, de acordo com a Embrapa hortaliças (2018) o Brasil apresentava 860 ha plantados com o grão-de-bico, já em 2018 essa área passou a ser de 12.000 ha, um crescimento de aproximadamente 1.400%.

A região semiárida brasileira é indicada para cultivo desta leguminosa (ARTIAGA *et al.*, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2016), pois foram verificadas produtividades de 797 kg ha<sup>-1</sup> em sequeiro (ARTIAGA *et al.*, 2015), e superiores a 2.700 kg ha<sup>-1</sup> em sistemas irrigados (HOSKEM *et al.*, 2017; AVELAR *et al.*, 2018; PEGORARO *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2020; ALMEIDA NETA *et al.*, 2020), o que garante retorno econômico do cultivo.

### 3.2 Fixação biológica de nitrogênio no cultivo de grão-de-bico



A FBN é importante fonte de N, tanto da vegetação nativa quanto das plantas de interesse econômico (MARSCHNER, 2012). A capacidade de fixar  $N_2$  atmosférico em  $NH_3$  é restrita a pequeno grupo de organismos procariontes, que podem ser simbióticos, associativos ou de vida livre (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MARSCHNER, 2012). Ao contrário da obtenção de N industrial pelo processo Haber-Bosch, que necessita de altas temperaturas ( $350-550^\circ C$ ) e pressão de (150-350 atm), os organismos procariontes possuem a enzima nitrogenase que reduz o  $N_2$  a  $NH_3$  em temperatura e pressão ambiente e em troca, as bactérias diazotróficas aproveitam os compostos derivados da fotossíntese (MARSCHNER, 2012).

A fotossíntese realizada pela planta hospedeira gera força redutora e ATP para o funcionamento da nitrogenase, e constituir energia para o substrato de crescimento e manutenção das células microbianas. O  $N_2$  fixado pelas bactérias diazotróficas é reduzido à amônia e convertida em formas orgânicas, antes de ser transportada via xilema para a parte aérea. Os compostos orgânicos nitrogenados variam com a origem da seiva do xilema, se de origem temperada são exportadas amidas e para os de origem tropical são exportadas ureidas e, posteriormente catabolizados em amônio na parte aérea (TAIZ *et al.*, 2017).

A simbiose com leguminosas é confirmada pela formação de estruturas hipertróficas, nódulos, embora nem todas as leguminosas formem nódulos. A formação de nódulos inicia por meio de sinalização molecular complexa, envolvendo fatores Nod, que são sintetizados pelas bactérias e flavonoides liberados pelas raízes de leguminosas. A associação entre os rizóbios e as leguminosas, pode ser específica com estirpe de *Rhizobium* sp. nodulando leguminosa especificamente, como ocorre com a soja. Ou podem ser promiscúo com nodulação com várias estirpes do gênero *Rhizobium* spp. como acontece com o feijão-comum (PERRET *et al.*, 2000; LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014).

Dessa forma, uma estirpe de *Rhizobium* sp. só será considerada eficaz se fixar o  $N_2$  nos nódulos da leguminosa, essa eficácia pode ser determinada pela promoção do crescimento da parte aérea da planta (LARANJO; ALEXANDRE; OLIVEIRA, 2014). Dentre as leguminosas de importância agrícola estão a soja, feijão, ervilhas, grão-de-bico e outras (SPRENT, 2009). Alguns gêneros de bactérias que estabelecem simbiose com as leguminosas são *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Sinorhizobium* sp., *Mesorhizobium* sp., *Azorhizobium* sp. e *Allorhizobium* sp. No entanto, para simplificar todas as bactérias que formam nódulos são referidas como rizóbios (MARSCHNER, 2012).

O grão-de-bico realiza simbiose com *Mesorhizobium ciceri* e *M. mediterraneum* (BRÍGIDO *et al.*, 2007). O *Mesorhizobium* spp. é um dos rizóbios menos estudados, apesar de possuir ampla dispersão geográfica, organização de diversos genes e número crescente de genomas disponíveis. Esse gênero foi descrito em 1997 (JARVIS *et al.*, 1997). Ele pode estabelecer simbiose com espécies de clima temperado, tropical, subtropical e árticas (CHEN *et al.*, 2005). Ademais, pode ainda estabelecer associação endofítica com o grão-de-bico (WEI *et al.*, 2007).

Alguns autores relataram efeitos positivos da inoculação das sementes de grão-de-bico com o *Mesorhizobium* sp. na produtividade e nodulação das raízes. Verma *et al.* (2013), na Índia, estudaram o efeito da inoculação do *Mesorhizobium* sp, associado ou não a bactérias solubilizadoras de fosfato *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus megaterium* e *Azotobacter chroococcum*, na nodulação e no crescimento e rendimento do grão-de-bico. Esses autores verificaram que quando a inoculação é realizado com todos os microrganismos houve aumento do número de nódulos em 86% comparado ao

tratamento controle sem inoculação. Esses autores relataram ainda que essa associação aumenta a fixação de N e a solubilização de P, o que pode indicar que os microrganismos têm potencial de ser usados como biofertilizantes. Na Tunísia, Ben Romdhane (2007) avaliou duas estirpes de *M. ciceri* (nativa e comercial) em três cultivares de grão-de-bico. Observou-se maior competitividade do *M. ciceri* nativo da região em comparação ao comercial. O rizóbio nativo proporcionou maior nodulação (30 nódulos por plantas) e aumento da parte aérea seca das três cultivares. Rizvi; Mahmood; Ansari (2018) verificaram efeito na supressão do *Meloidogyne incognita* no grão-de-bico, quando realizaram inoculação com o *M. ciceri*, e adubação com resíduos orgânicos e aplicação de fungos antagonísticos (*Trichoderma harzianum*), na Índia.

No Irã, Maleki *et al.* (2014) relataram maior absorção de N pelo grão-de-bico quando se usou irrigação e inoculação com *Mesorhizobium* sp. em comparação ao tratamento não inoculado. Segundo os autores, estes resultados são de grande importância, já que os produtores da região utilizam o fertilizante nitrogenado em excesso nos cultivos. Na Etiópia, Wolde-meskel *et al.* (2018) reportaram que os cultivos do grão-de-bico são realizados sem aplicação de fertilizantes e há alta variabilidade no efeito da inoculação de sementes. Os autores avaliaram doses de P (0 e 23 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação com duas estirpes de *Mesorhizobium* (CP-41 e CP-19) em distintas regiões. Verificaram aumento no rendimento de grãos, quando a dose de P foi associada com a inoculação, chegando a produtividade de 3,09 t ha<sup>-1</sup>, absorção de N (94,8 kg ha<sup>-1</sup>) e 22 a 48 nódulos por plantas, apesar de em alguns locais não foi verificado nodulação. Os autores destacam ainda a importância da inoculação de sementes para os produtores, que com rendimentos acima de mil quilos podem ter maior renda com um meio de produção sustentável.

Na Europa Central, Neugschwandtner; Wagentristsl; Kaul (2015) estudaram a viabilidade de aveia, cevada e grão-de-bico em cultivo de sequeiro. Verificaram que o grão-de-bico, quando inoculado com o *M. ciceri*, possui relativamente maior eficiência na utilização do N, o que resulta no alto rendimento e proteínas. Elias; Herridge (2014) avaliaram a influência do N orgânico e da eficiência em fixar o N<sub>2</sub> pelo grão-de-bico em diferentes locais de cultivo. Verificaram que em locais onde a dose de nitrato (53 kg ha<sup>-1</sup> de N) era alta houve maior nodulação e 51% do N foi fixado da atmosfera, apesar de não ser esperado os autores concluem que o N derivado do solo e o fixado se complementam. Observaram ainda que a inoculação das sementes é prática comum na cultura, com maior eficácia quando o inoculante é turfoso, desde que a inoculação da semente e o plantio sejam realizados dentro de 24 horas.

Abdiev *et al.* (2019) avaliaram a inoculação de *Rhizobium* e *Azotobacter* em duas cultivares de grão-de-bico. Verificaram maior efeito da inoculação quando essa foi realizada em conjunto, com maior nodulação (79 nódulos por planta), maior parte aérea seca (30%) e teor de N nas raízes (10%). Além disso, houve maior concentração de N, P e K nas folhas e raízes e redução do Na nas plantas quando as sementes foram co-inoculadas. Abd-ala *et al.* (2019) reforçam que o uso combinado de *Rhizobium*, fungos arbusculares e *Stenotrophomonas maltophilia* possuem ação simbiótica em plantas de grão-de-bico, com aumento da nodulação, fixação de N atmosférico e crescimento de plantas em solos salinos. Romana; Casals (2019) avaliaram o cultivo de grão-de-bico em áreas com baixa e alta fertilidade do solo. Verificaram maior fixação de N em solos com maior fertilidade e a fixação do N foi reduzida quando se usou adubos orgânicos.

De acordo com Laranjo; Alexandre; Oliveira (2014) o grão-de-bico estabelece simbiose com estirpes de *M. ciceri* e *M. mediterraneum*. Essa associação é específica e difícil de ser entendida,

provavelmente está relacionada a variedade de indutores do gene Nod com flavonoides liberados pela leguminosa e também com diferentes fatores Nod liberados pelo rizóbio.

Alguns autores como Elias; Herridge (2014) na Austrália, e Wolde-meskel et al. (2018) na Etiópia, relataram a dificuldade de se obter eficiência na fixação do N<sub>2</sub> nos plantios de grão-de-bico. Isso porque, segundo os autores os rizóbios nativos não se associavam as raízes de grão-de-bico e constituíam alta competição com estirpes de *Mesorhizobium* spp. e *Rhizobium* spp. introduzidas nos cultivos com inoculação de sementes.

### 3.3 Bactérias promotoras de crescimento no cultivo de grão-de-bico

A rizosfera de plantas de grão-de-bico possui características que proporcionam efeitos positivos, negativos e neutros entre as raízes e microrganismos. Essa interação influencia tanto o crescimento das plantas, quanto a atividade microbiana (BIDYARANI *et al.*, 2016; JOSHI *et al.*, 2019). Marschner (2012), segundo os autores, o aumento do crescimento de plantas por bactérias não pode ser atribuído somente à FBN, fatores como a produção de fitormônios ou a disponibilidade de nutrientes também podem estar envolvidos. Como é o caso de microrganismos promotores de crescimento (PGPR).

O uso de rizobactérias promotoras de crescimento destaca-se como opção de biofertilizantes (SHARMA *et al.*, 2019; VERMA *et al.*, 2020). Rizobactérias do gênero *Bacillus* sp. possuem capacidade de solubilização de fosfato natural (SINGH *et al.*, 2018), produção de IAA, uréides (BALBINOT; RODRIGUES; BOTELHO, 2020), aumentam a nodulação de leguminosas quando associados à rizóbios (ELKOCA; KANTAR; SAHIN, 2008; QURESHI *et al.*, 2009) e conseqüentemente, aumentam o crescimento e rendimento das plantas (YADAV e VERMA, 2014; VERMA *et al.*, 2020). O maior acúmulo e absorção de N, P, K e S também é relatado em plantas inoculadas com bactérias promotoras de crescimento, pelo maior crescimento de raízes (ABD-ALLAH *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2018; MUKHERJEE; SINGH; VERMA, 2020; VERMA *et al.*, 2020). Hashem; Tabassum; Abd-allah (2019) em revisão bibliográfica descreveram que espécies de *Bacillus* sp. são capazes de formar esporos de longa duração, tolerantes ao estresse e produzir metabólitos secretores que estimulam o crescimento das plantas e previnem a infecção por patógenos, além de formarem biofilmes nas raízes dos hospedeiros (RADHAKRISHNAN; HASHEM; ABD-ALLAH, 2017).

Mukherjee; Singh; Verma (2020) ao avaliar microrganismos endofíticos em sementes de grão-de-bico. Nesse estudo, foram isoladas 29 cepas bacterianas, com análise filogenética baseada em 16S rDNA e foram identificadas as bactérias pertencentes a *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Pantoea* sp. e *Mixta* sp. Os isolados produziram quantidade significativa de Indol-3-ácido acético (IAA) (*Enterobacter hormaechei* BHUJPCS-15), fosfato solubilizado, K e NH<sub>3</sub> (*Bacillus subtilis* BHUJPCS) e também inibiram o crescimento do *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (*Pseudomonas aeruginosa* BHUJPCS-7) em laboratório. Os autores destacaram o potencial desses microrganismos endofíticos como bioinoculantes, por contribuírem para o aumento sustentável do rendimento agrícola e supressão de doenças. A inibição de patógenos como *Alternaria* sp., *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani* por cepas de *Bacillus* CBS127 e CBS155 são descritos por Sivaramaiah; Malak; Sindhu (2007).

Yadav; Verma (2014) sugeriram o uso de rizobactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus megaterium* nos cultivos de grão-de-bico, pois há promoção de crescimento da planta e absorção de nutrientes, o que resulta em maiores rendimentos. Elkoca; Turan; Donmez (2010) destacaram o uso de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de feijoeiro comum Elkoca-05, em especial as do gênero *Bacillus* sp., devido a características como síntese de hormônio de crescimento e solubilização de fosfato e aumento da absorção de N, P, K, Ca, Mn, Zn e Fe (ORHAN *et al.*, 2006; ÇAKMAKCI; DONMEZ; ERDOĞAN, 2007).

Elkoca; Turan; Donmez (2010) destacaram ainda a facilidade de adaptação das cepas do gênero *Bacillus* sp. Contudo, os autores observaram que quando usado em conjunto as bactérias *Rhizobium*, *Bacillus subtilis* OSU-142 e *Bacillus megaterium* M-3 não houve aumento do rendimento de grãos (3.098 kg ha<sup>-1</sup>), esse efeito pode ter ocorrido pela competição/interação entre as espécies nativas na rizosfera por fontes de carbono, fato esse que determina a qualidade do inoculante.

### 3.4 Adubação nitrogenada no cultivo de grão-de-bico

O N é o principal componente das proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, coenzimas, fitohormônios e metabólitos secundários. É decisivo para o crescimento das plantas, logo as quantidades requeridas desse macronutriente sobrepõe aos demais nutrientes na maioria das plantas (MASCHNER, 2012; TAIZ *et al.*, 2017). Em muitos casos a baixa disponibilidade do N limita o crescimento e desenvolvimento das culturas (TAIZ *et al.*, 2017).

O uso eficiente do N é imprescindível para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Para tanto, é necessário a adoção de técnicas de cultivo que reduzam as perdas de N por volatilização e lixiviação no solo (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000; TAIZ *et al.*, 2017). A MOS é a principal fonte de N para as plantas. Todavia com o aumento das produtividades e demanda de N pelas plantas, a matéria orgânica não supre totalmente a necessidade de N pelos cultivos agrícolas (RAIJ, 2011). Por isso, é necessário a complementação com adubação mineral. Durante o processo de fabricação desse fertilizante, gases do efeito estufa são liberados para a atmosfera, o que torna o processo poluente. Outro fator é a menor eficiência e aproveitamento das formas de N liberadas no solo após a adubação com ureia, que também pode resultar na liberação de gases do efeito estufa (MARSCHNER, 2012; DEMIRBAS *et al.*, 2018).

A adubação nitrogenada no grão-de-bico é pouco utilizada ou inexistente em países como a Índia, pois nesse país os agricultores acreditam que por ser uma leguminosa não exige reposição nutricional via solo, conseqüentemente a produtividade é comprometida, conforme foi descrito por Rani; Krishna (2016). Esses autores estudaram o comportamento de variedades do grão-de-bico sob quatro doses de N (0, 20, 30 e 40 kg ha<sup>-1</sup>) e concluíram que o rendimento de sementes (1.399, 1.596, 1.667 e 1.686 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) foi semelhante entre as doses utilizadas. Pal; Singh; Dhaliwal (2019) avaliaram a aplicação de N foliar, na forma de ureia, e verificaram maior conteúdo de proteínas em grão-de-bico, que indica quantidade de N é adequada e aumenta a fotossíntese e, conseqüentemente, maior crescimento das plantas.

No Brasil os trabalhos com o grão-de-bico descrevem o uso do N para garantia da produtividade. Hoskem *et al.* (2017) utilizando 600 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 4-30-16, com cultivo irrigado do grão-de-bico no Norte de Minas Gerais, obteve produtividade de 2,5 t ha<sup>-1</sup>. Avelar *et al.* (2018) estudando diferentes

épocas de semeadura obtiveram a máxima produtividade de 5,26 t ha<sup>-1</sup> após a semeadura no mês de maio e aplicação de 400 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 4-30-10e 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura. E, Fonseca *et al.* (2020) obtiveram o rendimento médio de 2.558 kg ha<sup>-1</sup> de grão-de-bico após a aplicação de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia, sendo metade aplicado antes do plantio e o restante após trinta dias da semeadura.

Soares *et al.* (2016) estudaram o feijoeiro comum ('BRSMG Majestoso') em relação a inoculação com *Rhizobium tropici* cepa CIAT899. Verificaram que a dose de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia e inoculação com o *R. tropici* cepa CIAT899 favoreceu o crescimento radicular o que provavelmente aumentou os pontos de infecção do *R. tropici*. Os autores ainda observaram que o alto teor de matéria orgânica influenciou no maior acúmulo de N, que acarretou em maior período vegetativo da planta, assim os autores concluem que a quantidade de N indicada, depende de cada região. Brito *et al.* (2011) também com o feijoeiro relataram efeito positivo no teor de N com aplicação de 15 mg kg<sup>-1</sup> de N no solo na semeadura. Por outro lado, Florentino *et al.* (2018) também com o feijoeiro comum, verificaram que quando as sementes foram inoculadas com o *R. tropici* CIAT899 em conjunto com 60 kg ha<sup>-1</sup> de N na cobertura, a inoculação obteve maior número de nódulos por planta (31), diferindo dos tratamentos somente com inoculação e inoculação com N em semeadura. Joshi *et al.* (2019) também verificaram maior efeito quando utilizaram adubação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N associado a *Pseudomonas jeneri* e *Rhodococcus qingshengii* (bactérias promotoras de crescimento) propiciaram a produtividade de 2.698 kg ha<sup>-1</sup> de grão-de-bico, sendo 33% superior àquela obtida no tratamento controle, sem aplicação de fertilizante e inoculantes. Os autores ainda concluem que fertilizantes químicos quando fornecidos em quantidade adequada, pode ser benéfico não só para as plantas e ao solo, mas à população microbiana nativa.

No Irã, Maleki *et al.* (2014) estudaram a aplicação de 0, 75 e 150 kg ha<sup>-1</sup> de N. Observaram maior absorção de N, P, K, Fe, Zn e Mn na dose de 150 kg ha<sup>-1</sup> N aplicada. Salvagiotti *et al.* (2008) enfatizaram que uma deficiência de N no crescimento inicial da cultura da soja pode atrasar o seu desenvolvimento e resultar em sistema de nodulação ineficiente, o que também é reforçado por Romanya; Casais (2019). Na Austrália, Elias; Herridge (2014), recomendaram a inoculação de sementes de grão-de-bico. Isso porque metade do N no grão-de-bico foi proveniente da simbiose com rizóbio e a outra metade pelo N disponível no solo.

Demirbas *et al.* (2018) estudaram a inoculação de *Rhizobium* sp. em sementes de grão-de-bico na forma de turfa e cinco doses de N (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha<sup>-1</sup> de N). Observaram que a maior produção de parte aérea seca (15,92 g por planta) foi obtida em 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e na presença do *Rhizobium* sp. Os autores ainda observaram que o incremento da dose de N aumentou a matéria seca quando comparados a dose zero de N. Aumento na absorção de N, P, K, Ca e Fe também foi observado com o incremento de doses de N e inoculação.

### 3.5 Referências

- ABD-ALLA, M. H. *et al.* Mitigation of effect of salt stress on the nodulation, nitrogen fixation and growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by triple microbial inoculation. **Rhizosphere**, v. 10, p. 100148, 2019.
- ABDIEV, A. *et al.* Growth, nutrient uptake and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) enhance by *Rhizobium* and *Azotobacter* inoculations in saline soil. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 20, p. 2703-2714, 2019.
- ALMEIDA NETA, M. N. *et al.* Does inoculation with *Rhizobium tropici* and nitrogen fertilization increase chickpea production? **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, n. 24, p. 1-13, 2020.
- ANDREWS, M.; RAVEN, J. A.; LEA, P. J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. **Annals of applied biology**, v. 163, n. 2, p. 174-199, 2013.
- ARTIAGA, O. P. *et al.* Avaliação de genótipos de grão de bico em cultivo de sequeiro nas condições de Cerrado. **Revista Brasileira Ciências Agrária**. v. 10, n. 1, p. 102-109, 2015.
- AVELAR, R. I. S. *et al.* Production and quality of chickpea seeds in different sowing and harvest periods. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 2, p.155-164, 2018.
- BALBINOT, W. G.; RODRIGUES, S.; BOTELHO, G. R. Isolates of *Bacillus* sp. from garlic: effect on corn development and plant growth-promoting mechanisms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 44, p. e0200043, 2020.
- BEN ROMDHANE, S. *et al.* Competition for nodule formation between introduced strains of *Mesorhizobium ciceri* and the native populations of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) in Tunisia. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 9, p. 1195-1201, 2007.
- BIDYARANI, N. *et al.* Enhancement of plant growth and yields in chickpea (*Cicer arietinum* L.) through novel cyanobacterial and biofilmed inoculants. **Microbiological Research**, v.188, p. 97-105, 2016.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, 2000.
- BRÍGIDO, C. *et al.* Moderately acidophilic mesorhizobia isolated from chickpea. **Lett Appl Microbiology**, v. 44, p. 168–174, 2007.
- BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. Contribution of nitrogen from biological nitrogen fixation, nitrogen fertilizer and soil nitrogen on the growth of the common bean and cowpea. **Bragantia**, v. 70, p. 206-15, 2011.
- CAKMAKCI, R.; DONMEZ, M. F.; ERDOGAN, U. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 31, p. 189–199, 2007.
- CANCI, H.; TOKER, C. Evaluation of yield criteria for drought and heat resistance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, p.47-54, 2009.
- CHEN, W. X. *et al.* *Mesorhizobium*. **Bergeys manual of systematic bacteriology**. Vol. 2 (The Proteobacteria). New York: Springer. p. 403–8408, 2005.
- DEMIRBAS, A. *et al.* Yield and nutrient uptake improvement of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by dressing fertilization and nitrogen doses. **Agriculture for Life, Life for Agriculture Conference Proceedings**. v. 1, n. 1, p. 51-57. 2018.
- DON, G. **General history of dichlamydeous plants** ed. 2, 1882, 311p.
- DUSCHAK, M. **Zur Botanik des Talmud**. ed. 1. Neuer, Pest, 1871. 105-106p.
- ELIAS, N. V.; HERRIDGE, D. F. Crop-available water and agronomic management, rather than nitrogen supply, primarily determine grain yield of commercial chickpea in northern New South Wales. **Crop and Pasture Science**, v. 65, n. 5, p. 442-452, 2014.

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**, v. 31, n. 1, p. 157-171, 2007.

EMBRAPA hortaliças. Cultivo de grão-de-bico é testado no sistema orgânico e ampliado no MT. Transferência de tecnologia. SAC, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/37465005/cultivo-de-grao-de-bico-e-testado-no-sistema-organico-e-ampliado-no-mt>>. Acesso em: 15 fev 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. FAOSTAT. **Food and agriculture data**. 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 24 Jul. 2020.

FONSECA, J. H. S. *et al.* Chickpea production in response to fertilization with zinc and doses of phosphorus. **Comunicata Scientiae**, v. 11, p. e3106-e3106, 2020.

FOSTER-POWELL, K.; HOLT, S. H. A.; BRAND-MILLER, J. C. Tabela internacional do índice glicêmico e dos valores da carga glicêmica: 2002. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n.1, p.5-56, 2002.

GIORDANO, L. B. Botânica e cultivares. In. NASCIMENTO W. M. PESSOA N. A. ASLAM, A.; BANO, A e RAJA, P. **Chickpea: Rhizobium Management and instruções técnicas** Embrapa Hortaliças, v. 14, 1998, 3p.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD\_ALLAH, E. F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.

HOSKEM, B. C. S. *et al.* Productivity and quality of chickpea seeds in Northern Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 261-268, 2017.

JARVIS, B. D. W. *et al.* Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*, and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriol**, v. 47, p. 895–898, 1997.

JENSEN, E. S.; CARLSSON, G.; HAUGGAARD-NIELSEN, H. Intercropping of grain legumes and cereals improves the use of soil N resources and reduces the requirement for synthetic fertilizer N: A global-scale analysis. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 40, n. 1, p. 1-9, 2020.

JOSHI, D. *et al.* Impacts of bioinoculants *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Rhodococcus qingshengii* S10107 on chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield and soil nitrogen status. **Pedosphere**, v. 29, n. 3, p. 388-399, 2019.

JUKANTI, A. K. *et al.* Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. **British Journal of Nutrition**. V. 108, n.1, p.11-26, 2012.

LARANJO, M.; ALEXANDRE, A.; OLIVEIRA, S. Legume growth-promoting rhizobia: an overview on the *Mesorhizobium* genus. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p.2-17, 2014.

LIU, L. *et al.* A side-by-side comparison of biological nitrogen fixation and yield of four legume crops. **Plant and Soil**, v. 442, n. 1, p. 169-182, 2019.

MALEKI, A. *et al.* The effect of supplemental irrigation, nitrogen levels and inoculation with *Rhizobium* bacteria on seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under rainfed conditions. **International Journal Current Microbiology Applied Sciences**, v. 3, n. 6, p. 902-909, 2014.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Amsterdã, Holanda. 3.ed. Academic press. v.89. 2012, 649p.

MONDAL, M. *et al.* A wastewater bacterium *Bacillus* sp. KUJM2 acts as an agent for remediation of potentially toxic elements and promoter of plant (*Lens culinaris*) growth. **Chemosphere**.v. 232, p. 439-452, 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico. In. MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, p. 449-542, 2006.

- NASCIMENTO, W. M. *et al.* BRS **Aleppo: grão-de-bico. Maior tolerância a fungos de solo**. Brasília; Anápolis: Embrapa Hortaliças, Boletim Técnico. 4p. 2014.
- NASCIMENTO, W. M. *et al.* Grão-de-bico. **Hortaliças Leguminosas**. Brasília, DF. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, p. 89-118, 2016.
- MUKHERJEE, A.; SINGH, B.; VERMA, J. P. Aproveitamento de endófitos de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) para melhorar os atributos de crescimento das plantas e bio-controle contra *Fusarium* sp. **Microbiological Research**, p. 126469, 2020.
- NEUGSCHWANDTNER, R. W.; WAGENTRISTL, H.; KAUL, H. P. Nitrogen yield and nitrogen use of chickpea compared to pea, barley and oat in Central Europe. **International Journal of Plant Production**, v. 9, n. 2, p. 291-304, 2015.
- ORHAN, E. *et al.* Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 38–43, 2006.
- PAL, V.; SINGH, G.; DHALIWAL, S. S. Symbiotic parameters, growth, productivity and profitability of chickpea as influenced by zinc sulphate and urea application. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, p. 1-13, 2019.
- PEGORARO, R. F. *et al.* Chickpea production and soil chemical attributes after phosphorus and molybdenum fertilization. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 5, p. 474-483, 2018.
- PERRET, X., STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W. J. Molecular basis of symbiotic promiscuity. **Microbiology Molecular Biology Review**. v. 64, p. 180–201, 2000.
- RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD\_ALLAH, E.F. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Front Physiol**. v. 8,p. 667, 2017.
- RAIJ, B. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**.Piracicaba: International Plant Nutrition Institute. 420 p, 2011.
- RANI, B. S.; KRISHNA, T. G. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties to nitrogen on a calcareous vertisols. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 3, p. 278-281, 2016.
- RIZVI, R.; MAHMOOD, I.; ANSARI, S. Interaction between plant symbionts, bio-organic waste and antagonistic fungi in the management of *Meloidogyne incognita* infecting chickpea. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 4, p. 424-434, 2018.
- ROMANYA, J.; CASALS, P. Biological nitrogen fixation response to soil fertility is species-dependent in annual legumes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, p.1-11, 2019.
- SALVAGIOTTI, F. *et al.* Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, n. 1, p. 1-13, 2008.
- SHARMA, V. *et al.* Synergistic effect of bio-inoculants on yield, nodulation and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under rainfed conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n.4, p. 374-383, 2019.
- SCHWANITZ, F. **The origin of cultivated plants**. Harvard University Press, Massachusetts, 1966, 175 p.
- SINGH, R. *et al.* Effect of different levels of phosphorus, sulphur and biofertilizers inoculation on nutrient content and uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **International Journal Chemistry Studied**, v. 6, p. 2574-2579, 2018.
- SIVARAMAIAH, N.; MALIK, D. K.; SINDHU, S. S. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum*) by coinoculation of *Bacillus* strains with *Mesorhizobium* sp. Cicer. **Indian journal of microbiology**, v. 47, n.1, p. 51-56, 2007.
- SOARES, B. L. *et al.* Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with rhizobia and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40:e0150235, 2016.
- SPRENT, J. I. **Legume Nodulation: A Global Perspective**. Wiley- Blackwell, Chichester, UK, 2009.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre, Artmed Editora, 2017. 858p.
- VAN DER MAESEN, L. J. G. Origin, history and taxonomy of chickpea. In **The chickpea**, 1987, p. 11-34.



VERMA, G. et al. Impact of fertility levels and biofertilizers on root architecture, yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) Crop. **International Journal Current Microbiology Applied Sciences**, v. 9, n. 2, p. 2018-2024, 2020.

VERMA, J. P. *et al.* 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**, v. 51, p. 282-286, 2013.

VIEIRA, R. F.; RESENDE, M. A. V.; CASTRO, M. C. S. Comportamento de cultivares de grão-de-bico na Zona da Mata e Norte de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 166-170, 1999.

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

WEI, G. H. *et al.* Rhizobialide: a new stearylactone produced by *Mesorhizobium* sp. CCNWGX022, a rhizobial endo-phyte from *Glycyrrhiza uralensis*. **Chem Biodivers**, v. 4, p. 893–898, 2007.

WOLDE-MESKEL, E. *et al.* Additive yield response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to *Rhizobium* inoculation and phosphorus fertilizer across small holder farms in Ethiopia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 261, p. 144-152, 2018.

YADAV, J; VERMA, J. P. Effect of seed inoculation with indigenous *Rhizobium* and plant growth promoting rhizobacteria on nutrients uptake and yields of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **European journal of soil biology**, v. 63, p. 70-77, 2014.

ZHANG, J. *et al.* Biogeographic distribution of chickpea rhizobia in the world. In. ZHANG, J. et al. **Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture**, Amsterdã, Holanda, Academic press, 2020, p. 235-239.

#### 4 ARTIGOS

##### **4.1 Artigo 1 - Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada aumentam a produção de grão-de-bico?**

Este artigo foi elaborado e publicado na Revista Ciência e Agrotecnologia.

## RESUMO

Estudos relacionados à adubação nitrogenada e fixação biológica de nitrogênio no aumento da produção de grão-de-bico são escassos em regiões tropicais brasileiras. Objetivou-se avaliar a inoculação do *Rhizobium tropici* e doses de N sob condições irrigadas em região tropical brasileira nos componentes de produção e desenvolvimento do grão-de-bico, em solos com maior e menor teor de matéria orgânica (MOS). O delineamento foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, esquema fatorial 2 x 6: presença ou ausência da inoculação do *R. tropici* e doses de N (0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup>) na forma de ureia. O estudo foi conduzido em duas áreas com teores de matéria orgânica do solo (MOS) contrastantes. Na área com menor teor de MOS (3,55 dag kg<sup>-1</sup>), a inoculação com *R. tropici* ou a adubação com 125 kg ha<sup>-1</sup> de N aumentaram os teores de nutrientes (N, K, Mg e P) nas folhas e a massa de grãos por planta, massa de 100 grãos, número de vagens com dois grãos, massa de folhas e ramos secos, índice de clorofila e eficiência agrônômica relativa. A produtividade foi incrementada em 65%, em comparação ao tratamento testemunha, recomendando-se a aplicação de 100 a 125 kg ha<sup>-1</sup> de N com ou sem *R. tropici*. Na área com maior teor de MOS, a inoculação com *R. tropici* aumentou massa de grãos por plantas, número de vagens com um grão, massa seca de folhas, total e índice de clorofila; a adubação nitrogenada aumentou o teor foliar de N e o índice de clorofila, mas ambos não interferiram na produtividade, não sendo recomendadas. Esses resultados indicam a dependência do manejo da adubação nitrogenada e inoculação com *Rhizobium* à disponibilidade natural de N na MOS em cultivo de grão-de-bico.

**Termos para indexação:** *Cicer arietinum* L.; *Rhizobium tropici* SEMIA 4077; doses de N; matéria orgânica do solo.

## ABSTRACT

Studies related to nitrogen fertilization and biological nitrogen fixation in the increase of chickpea production are considered scarce in tropical regions. This work aimed to evaluate the inoculation with *Rhizobium tropici*, and nitrogen fertilization, under irrigated tropical conditions, on the development of chickpea in low and high content of soil organic matter (SOM). The experimental design was in randomized blocks, with four replications, in a 2 x 6 factorial scheme. Treatments, consisted of the presence and absence of inoculation with *R. tropici*, and six N doses (0, 25, 50, 75, 100, and 125 kg ha<sup>-1</sup>) in the form of urea. The study was divided into two areas with distinct contents of SOM. In the area with the lowest content of SOM (3.55 dag kg<sup>-1</sup>), the inoculation with *R. tropici* or the fertilization with 125 kg ha<sup>-1</sup> of N increased the leaf content of nutrients (N, K, Mg, and P) and grain mass per plant, 100-grain mass, number of pods with two grains, dry mass of leaves, branches, chlorophyll index, and relative agronomic efficiency. Thus, the yield was increased in 65%, compared to the control treatment, recommending the application of 100 to 125 kg ha<sup>-1</sup> of N with or without *R. tropici*. In the area with the highest content of SOM (7.37 dag kg<sup>-1</sup>), the inoculation with *R. tropici* provided a higher grain mass per plants, number of pods with one gain, dry mass of leaves, total dry mass, and chlorophyll index; nitrogen fertilization increased the leaf content of N and the chlorophyll index, although neither factor interfered with the yield, and are not recommended. Such results indicate the dependence of the nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium* on the natural availability of N in the MOS.

**Index terms:** *Cicer arietinum* L.; *Rhizobium tropici* SEMIA 4077; doses of N; soil organic matter.

## INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é a terceira leguminosa mais cultivada no mundo, com produção de 14,5 milhões de toneladas e rendimento médio de grãos de 0,96 t ha<sup>-1</sup> (FAO, 2017). A Índia detém 70% da produção mundial de grão de bico, sendo a maior consumidora desta cultura (Icrisat, 2017). No Brasil, o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e adaptadas têm permitido o aumento da produção de grão-de-bico. O semiárido brasileiro tem potencial para obter rendimentos de grãos superiores a 1.000 quilos por hectare (Pegoraro et al., 2018; Avelar et al., 2018; Artiaga et al., 2015). Nessa condição, o grão-de-bico apresenta maior demanda nutricional, principalmente por elementos relacionados à produção de biomassa e grãos, como o nitrogênio.

O nitrogênio (N) é o principal componente de proteínas, ácidos nucléicos, clorofila, coenzimas, fitohormônios e metabólitos secundários, sendo decisivo para o crescimento das plantas (Marschner, 2012; Taiz et al., 2017). Dada a sua importância no desenvolvimento das plantas e alta mobilidade no solo, este elemento tem sido estudado, visando maximizar a eficiência de uso por meio de práticas de manejo que reduzam as perdas e aumentem sua eficiência de uso pelas plantas.

A aquisição de N pelas plantas via processo simbiótico, seja em substituição à fertilização mineral ou em associação, podem ser citadas como práticas que podem aumentar a eficiência do uso do N na agricultura. No entanto, para maiores produtividades de grão-de-bico, esse manejo nutricional ainda são escassos. Nesta cultura, a fixação biológica do N (FBN) pode contribuir substancialmente para reduzir o consumo de fertilizantes minerais. O grão-de-bico pode acumular de 80 a 120 kg ha<sup>-1</sup> de N via simbiose ou associação com bactérias diazotróficas (Laranjo; Alexandre; Oliveira, 2014; Nascimento et al., 2016; Singh; Singh, 2018; Zhang et al., 2020).

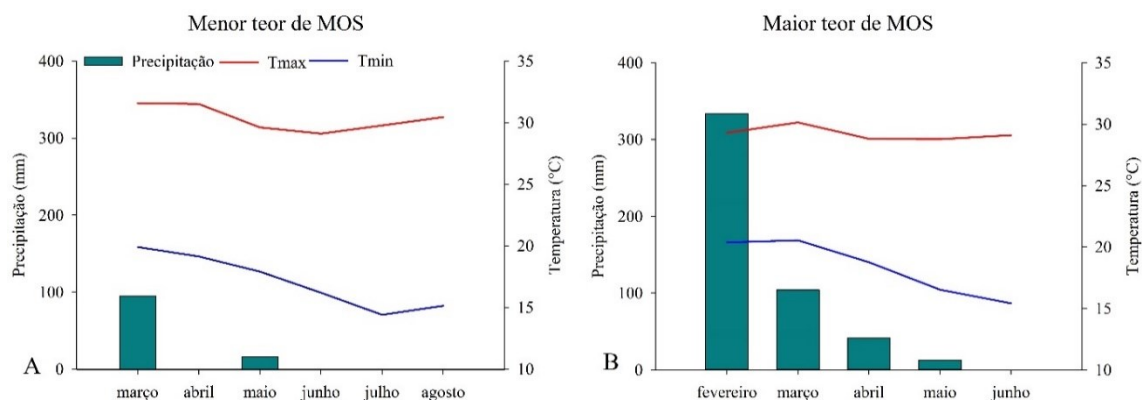
Porém, a formação de simbiose entre as bactérias nodulantes e o grão-de-bico não consegue suprir a demanda de nitrogênio da cultura, necessitando de complementação via fertilização mineral (Elias; Herridge, 2014; Wolde-Meskel et al., 2018). Nesse contexto, o efeito da fertilização na produtividade depende de fatores relacionados ao solo e à planta, entre eles a presença de matéria orgânica do solo (MOS) e o potencial produtivo da cultivar, entre outros. Solos com alto teor de MOS apresentam maior disponibilidade de N para as plantas (Liu et al., 2020; Camargo et al., 2008), interferindo na demanda externa por fertilização nitrogenada e na simbiose com bactérias nodulantes (Marschner, 2012).

A elaboração de estudos que contemplem a capacidade da cultura do grão-de-bico em aproveitar o N de bactérias nodulantes e a fertilização com N é necessária para a adequação do manejo dessa leguminosa de grãos em regiões tropicais brasileiras. Nessa perspectiva, este trabalho teve como objetivo avaliar a inoculação com *R. tropici* associado com a fertilização com N, em condições irrigadas, no desenvolvimento do grão-de-bico em baixo e alto teor de MOS.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos irrigados foram conduzidos na estação outono-inverno, o primeiro em 2017 (abril a junho) e o segundo em 2018 (março a junho), localizados nas coordenadas geográficas 16°40'35,96" S

e 43°50'55,51" O. O clima da região é classificado como Aw, com inverno seco e verão chuvoso (Alvares et al., 2013). As condições climáticas durante a realização dos estudos está presente na Figura 1.



**Figura 1:** Precipitação, temperatura máxima e mínima durante o cultivo do grão-de-bico para a área com menor em 2017 (A) e maior em 2018 (B) no teor de MOS, segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2019).

Ambos os solos foram classificados como cambissolo haplico (IUSS, 2015) de textura média. Antes do estabelecimento da cultura, amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm para caracterização química. Na área com menor MOS (em 2017), foram verificados os seguintes valores: matéria orgânica: 3,55 dag kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O): 7,6; N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 10 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 10 mg kg<sup>-1</sup>; N total: 1,67 mg kg<sup>-1</sup>; P (Mehlich 1): 7,56 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich 1): 177 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 7,5 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,92 cmolc dm<sup>-3</sup>; Al (KCl): 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al: 0,85 cmolc dm<sup>-3</sup>; SB: 9,87 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC efetiva: 9,87 cmolc dm<sup>-3</sup>; saturação de base: 92%; CTC potencial: 11,14 cmolc dm<sup>-3</sup>; esse solo foi cultivado por aproximadamente dez anos com espécies frutíferas e culturas anuais. Na área com maior MOS (em 2018), as características químicas foram: matéria orgânica: 7,37 dag kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O): 5,5; N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 60 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 20 mg kg<sup>-1</sup>; N total: 2,17 mg kg<sup>-1</sup>; P (Mehlich 1): 2,93 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich 1): 76 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 7,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 3,46 cmolc dm<sup>-3</sup>; Al (KCl): 0,04 cmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al: 3,95 cmolc dm<sup>-3</sup>; SB: 10,96 cmolc dm<sup>-3</sup>; CTC efetiva: 11 cmolc dm<sup>-3</sup>; saturação de base: 73%; CTC potencial: 14,92 cmolc dm<sup>-3</sup>, e o solo permaneceu em pousio por dez anos.

Os experimentos foram realizados em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 6. O primeiro fator foi representado pela ausência ou presença de *Rhizobium tropicicepa* 4077, na forma de produto comercial à base de turfa na proporção 2:1 (turfa:inóculo), na concentração de 1 x 10<sup>9</sup> UFC por grama. O segundo fator constou de seis doses de N (0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup>), na forma de uréia (45% do N), aplicadas 30 dias após a emergência (DAE) e incorporadas com recobrimento com solo e irrigação.

O preparo do solo foi realizado com aração e gradagem em ambas as áreas. A cultivar de grão de bico utilizada foi a 'Aleppo', com grãos do tipo kabuli, de crescimento semi-ereto, e com adaptabilidade ao semiárido mineiro (Nascimento et al., 2014). A semeadura foi realizada no sulco de plantio, com duas sementes espaçadas a cada 0,10 m, e o desbaste foi realizado após a emergência para obtenção de dez plantas por metro, espaçadas 0,50 m entre linhas. As parcelas foram constituídas por quatro filas de 2 m de comprimento e 2 m de largura, totalizando 4 m<sup>2</sup> de área.

A adubação de base, na semeadura, foi realizada com a aplicação de 110 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio) no sulco de plantio, utilizando as análises de solo descritas acima para adubação recomendada (maior tecnológico nível-NT4) no cultivo do feijão (Chagas et al., 1999). A adubação de cobertura com o N foi realizado próximo à linha de semeadura (aproximadamente 5 cm distante das plantas), aos trinta DAE. Aos 30 e 50 DAE, em todas as parcelas, foram fornecidos os seguintes micronutrientes via foliar: B, Mo, Cu, Fe e Zn, na proporção de 0,2% de ácido bórico (0,34 g L<sup>-1</sup> de B), 0,2% de molibdato de sódio (0,3 g L<sup>-1</sup> Mo), 0,2% de sulfato de cobre (0,26 g L<sup>-1</sup> de Cu), 0,2% de sulfato ferroso (0,38 g L<sup>-1</sup> de Fe) e 0,2 % de sulfato de zinco (0,40 g L<sup>-1</sup> de B), respectivamente (Nascimento et al., 2016).

Os tratamentos fitossanitários e a irrigação foram realizados de acordo com a necessidade da cultura e as recomendações técnicas para a cultura da região (Nascimento et al., 2016). A irrigação foi realizada por microaspersão em 2017 e com sistema de irrigação convencional em 2018, com turno de irrigação de quatro dias. O controle manual das ervas daninhas foi realizado sempre que necessário.

No florescimento, que ocorreu aos 70 DAE, a clorofila total foi realizado em clorofilômetro (SPAD-502) por meio de 20 medições nos folíolos principais das plantas centrais de cada parcela útil. Nesse momento também foi realizada a coleta de 20 folíolos, os quais foram armazenados e levados à estufa de circulação de ar forçado a 65°C até atingirem massa constante. Posteriormente, os folíolos foram moídos em moinho Wiley com malha de 02 mm, homogêneos e amostrados para determinação dos teores de N, segundo o método Kjeldahl (Bataglia et al., 1983), e P, K, Ca, Mg, e Na, determinado por digestão nítrico-perclórica (Tedesco; Volkweiss; Bohnen, 1995).

Ao final do ciclo da cultura (100 DAE), foram avaliadas as seguintes características das dez plantas centrais de cada parcela: altura da planta (cm), massa seca (g planta<sup>-1</sup>) dos componentes: folhas (MSF), ramos (MSR), e total (MST). Bem como a massa de 100 grãos (M100), grãos por planta (GP), número de vagens com um grão (NV1), número de vagens com dois grãos (NV2) e número de vagens total (NVT). Foi também verificados a produtividade em kg ha<sup>-1</sup>, índice de colheita (IC) em% ((peso da semente / biomassa da parte aérea) x 100) e eficiência agrônômica, expressa pela seguinte fórmula:

$$EA = \frac{Pta - Pti}{DTa}$$

No qual:

EA = Eficiência agrônômica em kg de grãos por kg de nutriente aplicado;

Pta = Produtividade do tratamento fertilizado com N (kg ha<sup>-1</sup>);

Pti = Produtividade do tratamento controle sem aplicação de N (kg ha<sup>-1</sup>);

DTa = Dose no tratamento fertilizado com N (kg ha<sup>-1</sup>).

Os dados foram submetidos à análise de variância. Posteriormente, de acordo com a significância (p≤0,05), foi utilizado o teste F como conclusivo, para o fator qualitativo. E ajustes com modelos de regressão foram realizados para o fator quantitativo, selecionados a partir da significância dos coeficientes de regressão e do potencial de explicação o fenômeno biológico. As análises estatísticas foram realizadas com o software R (R Development Core Team, 2013). Para os principais componentes de produção (M100, GP, MST e NVT) e a produtividade. A análise de agrupamento também foi realizada

(dendrogramas) usando o método de média de pares não ponderados (UPGMA) e distância euclidiana (não padronizado), conforme proposto por Klikocka e Tatarczak (2015) para a avaliação de componentes de produção em experimentos de campo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Desenvolvimento vegetal e conteúdo de nutrientes - área com menor teor de MOS.**

As interação entre inoculação com *R. tropici* doses de N não foi significativa para as características avaliadas ( $p > 0,05$ ). A inoculação não interferiu nas características na clorofila total, altura, massa de 100 grãos, número de vagens com um grão, número de vagens totais e índice de colheita (Tabela 1), as quais obtiveram as seguintes médias: 45, 102 cm, 29 g, 28 e 39, respectivamente. Essas médias foram semelhantes às obtidas por Pegoraro et al. (2018) após fertilização com fosfato e inoculação com *R. tropici* na cultivar de grão de bico 'Aleppo'. No entanto, a altura da planta obtida no presente estudo foi considerada superior à descrita por Artiaga et al. (2015). Esses autores observaram alturas de 33 a 66 cm ao avaliar treze genótipos de grão-de-bico de origens distintas e duas cultivares comerciais, 'Cícero' e 'IAC Marrocos', em condições de cultivo em sequeiro.

**Tabela 1:** Efeito da inoculação com *Rhizobium tropici* na clorofila total (CLO), altura (ALT), massa de 100 grãos (M100), massa de grão por planta (MGP), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), massa seca de folhas (MSF), ramos (MSR) e massa seca total (MST), produtividade (PROD), índice de colheita (IC), eficiência agrônômica (EA), teor foliar de nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na) e fósforo (P) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

RIZ	CLO	ALT	M100	MGP	NV1	NV2	NVT	MSF	MSR
		cm	g	g				g plant <sup>-1</sup>	
Com	44,68 <sup>ns</sup>	101,14 <sup>ns</sup>	29,02 <sup>ns</sup>	9,63 a	31,79 a	3,37 a	44,29 a	7,07 a	21,60 a
Sem	44,52 <sup>ns</sup>	103,48 <sup>ns</sup>	28,83 <sup>ns</sup>	6,54 b	23,36 b	2,04 b	34,60 b	5,29 b	17,47 b
p-valor	0,89	0,79	0,82	0,002	0,005	0,02	0,014	0,001	0,02
CV (%)	9,60	9,90	9,95	39,34	35,60	74,08	32,91	24,68	30,47
	MST	PROD	IC	EA	N	K	Ca	Mg	Na
	g plant <sup>-1</sup>	t ha <sup>-1</sup>			mg kg <sup>-1</sup>	-----g kg <sup>-1</sup> -----			
Com	34,56 a	1,93 a	26,21 <sup>ns</sup>	12,33 a	33,06 b	20,10 <sup>ns</sup>	8,09 <sup>ns</sup>	3,54 <sup>ns</sup>	0,26 a
Sem	27,33 b	1,30 b	25,12 <sup>ns</sup>	4,85 b	39,83 a	21,54 <sup>ns</sup>	8,76 <sup>ns</sup>	3,37 <sup>ns</sup>	0,21 b
p-valor	0,002	0,002	0,342	0,001	0,006	0,26	0,11	0,76	0,04
CV (%)	39,91	39,92	31,39	137,83	21,96	21,01	16,83	39,33	39,33
	P (g kg <sup>-1</sup> )								
	Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )								
<i>Rhizobium</i>	0	25	50	75	100	125			
Com	2,94 b	2,77 b	2,86 b	4,57 <sup>ns</sup>	4,00 <sup>ns</sup>	5,70 a			
Sem	4,47 a	4,15 a	4,60 a	5,08 <sup>ns</sup>	4,19 <sup>ns</sup>	4,47 b			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste F,

A inoculação com *R. tropici* aumentou o número de vagens com dois grãos, grãos por planta, massa seca de folhas, ramos e parte aérea total, e a produtividade em 40, 32, 25, 19, 21 e 33%, respectivamente, em comparação com a ausência de inoculação (Tabela 1). O aumento da biomassa e da produtividade da parte aérea (Tabela 1) pela inoculação com *R. tropici* foi justificado por possíveis efeitos positivos na produção de fitormônios, absorção de nutrientes e aumento da atividade fotossintética da planta. O *R. tropici* nos pelos radiculares, atua com o complexo enzimático nitrogenase, que catalisa a reação de redução do N<sub>2</sub> atmosférico nas plantas em amônia (NH<sub>3+</sub>). A NH<sub>3+</sub> é então convertida em formas orgânicas (amidas ou ureidas) liberadas no xilema e transportadas para a parte aérea, onde são catabolizados em amônio (NH<sub>4+</sub>) pelas plantas (Taiz et al., 2017). Gopalakrishnan et al. (2018), estudaram três bactérias diazotróficas (nativas da Índia) na inoculação do grão-de-bico, também observaram aumento no número de nódulos, bem como maior parte aérea seca e raiz.

A produção de fitormônios e maior disponibilidade de nutrientes para as plantas que formam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio também aumentam o seu crescimento e rendimento



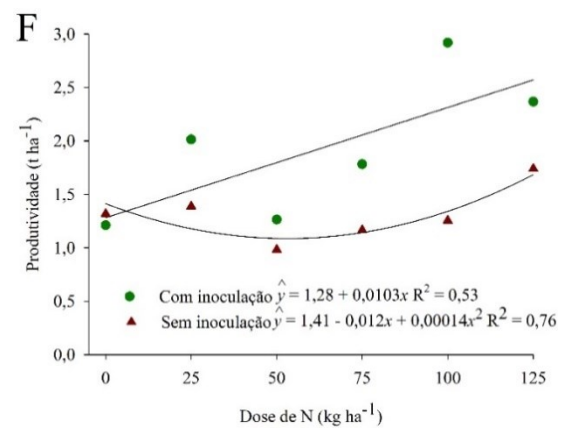
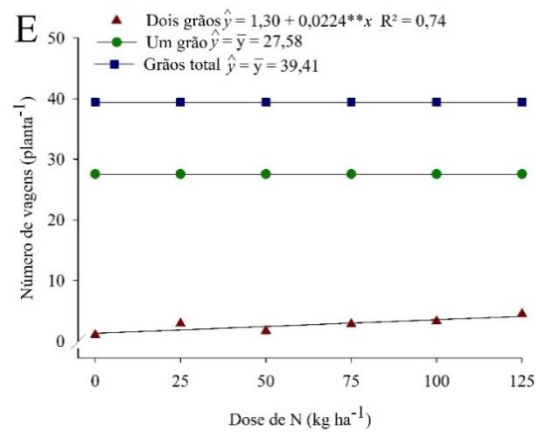
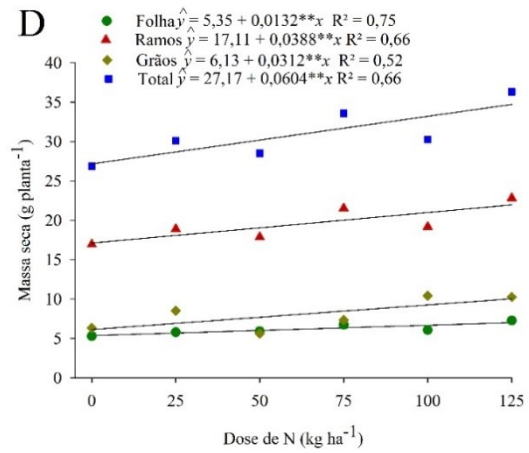
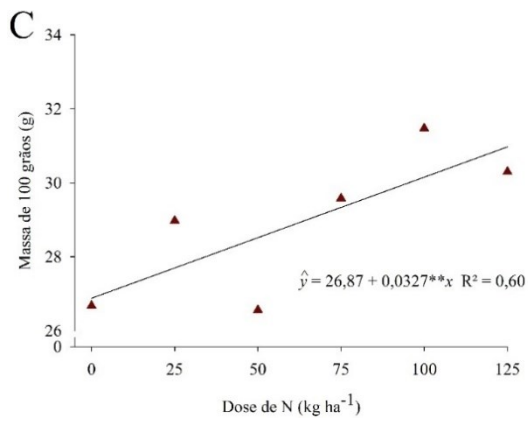
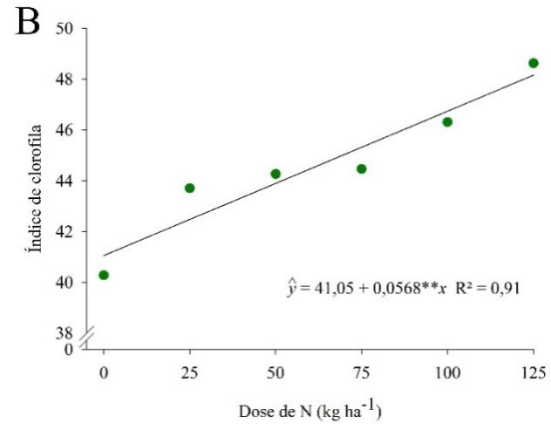
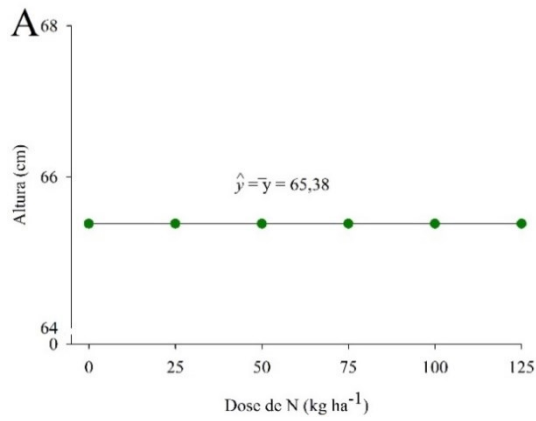
(Singh e Singh, 2018; Laranjo; Alexandre; Oliveira, 2014; Marschner, 2012). Esse fenômeno pode ter ocorrido com o grão-de-bico inoculado com *R. tropici*.

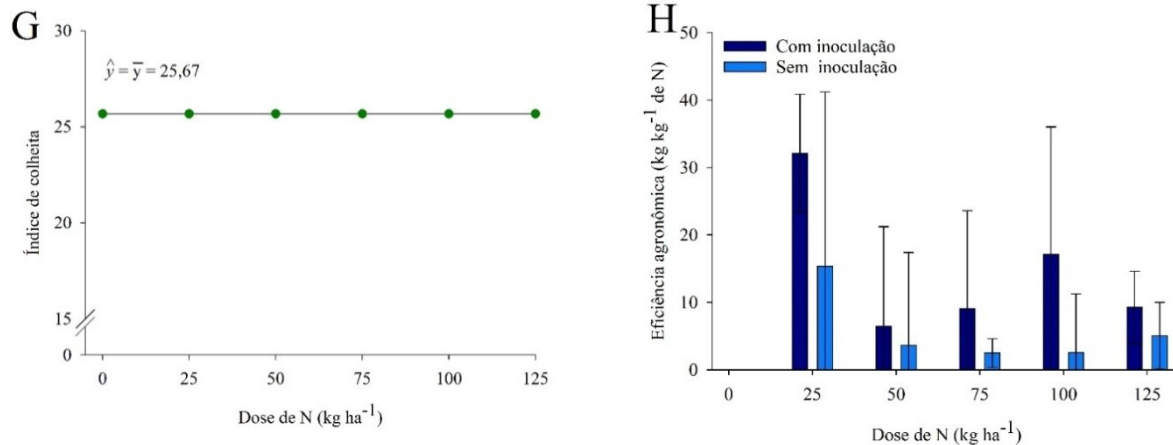
A inoculação com *R. tropici*, também pode ter favorecido o crescimento e a produção de grãos do grão-de-bico ao estimular a atividade fotossintética das plantas. Efeitos benéficos foram relatados pelo aumento do crescimento e desenvolvimento dos órgãos fotossintéticos e pela taxa de acúmulo de fotossintéticos (Moinuddin et al., 2014). Assim, plantas nodulantes podem ter maior atividade fotossintética devido ao aumento da demanda por compostos de carbono consumidos pelas bactérias simbióticas para fixação de N<sub>2</sub> (Kaschuk et al., 2012). A maior atividade fotossintética pode favorecer o crescimento da planta e a produção de grãos nas leguminosas.

A inoculação com *R. tropici* aumentou a eficiência agrônômica em 66% (Tabela 1). Esse incremento na eficiência agrônômica indica efeito positivo da inoculação na produção do grão-de-bico, mesmo após a aplicação de doses de N. Na Etiópia, Wolde-Meskel et al. (2018) obtiveram resposta positiva da inoculação com *Mesorhizobium ciceri* na produtividade do grão-de-bico (2,0 t ha<sup>-1</sup>), em comparação ao tratamento controle (1,6 t ha<sup>-1</sup>) sem inoculação. Os autores enfatizaram a importância da inoculação com bactérias nodulantes no grão-de-bico a fim de obter maior rentabilidade e qualidade dos grãos (Gopalakrishnan et al., 2018; Zhang et al., 2020).

A inoculação com *R. tropici* aumentou o teor foliar de Na (19 %) e reduziu o teor de N em 17%. Mas não interferiu nos teores de K, Ca e Mg, em relação à ausência do inoculante (Tabela 1). A maior produção de biomassa na parte aérea das plantas inoculadas possivelmente proporcionou efeito de diluição do N no tecido da planta em relação à ausência de inoculação, conforme demonstrado por Marles (2017). O aumento da produção de carboidratos não é acompanhado proporcionalmente pelo teor de minerais, ou seja, o teor de nutrientes da planta pode diminuir sem causar menor rendimento de grãos (Marles, 2017; Briat et al., 2020).

As doses de N aumentaram a clorofila total (Figura 2. B), com incremento de 0,06 na clorofila total, para cada quilograma de N adicionado. O que indica aumento potencial de crescimento e produção das plantas cultivadas. Incrementos no conteúdo de clorofila favorecem as taxas fotossintéticas em baixas intensidades de luz, resultando em uma planta saudável e com maior rendimento (Joshi et al., 2019; Gu et al., 2017). As doses de N também proporcionaram maior massa de 100 grãos e número de vagens com dois grãos (Figura 2. C, E). Cada quilo de N adicionado contribuiu para o aumento de 0,03 g na massa de 100 grãos e 0,22 vagens com dois grãos.





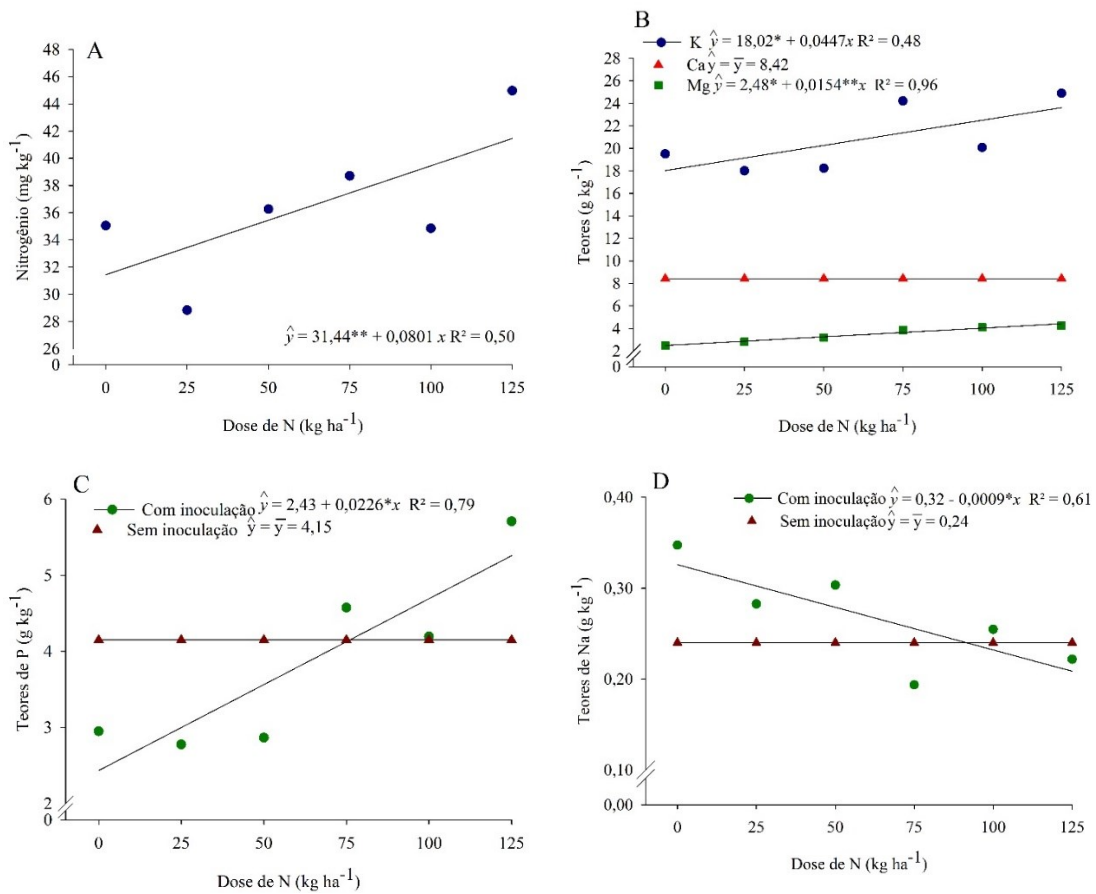
**Figura 2:** Efeito de doses de N na altura de plantas (A), clorofila total (B), massa de 100 grãos (C), massa seca de folhas, ramos, grãos e massa seca total (D), número de vagens com um grão, dois grãos e vagens totais (E), produtividade (F), índice de colheita (G) e eficiência agrônômica (H) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

O incremento das doses de N não influenciou a altura, número de vagens com um grão e número de vagens totais (Figura 2. A e E). A dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N incrementou a massa seca de folhas, ramos, grãos e a massa seca total (Figura 2. D), com 7, 23, 10 e 36 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente. A aplicação de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N com ou sem inoculação com o *R. tropici* proporcionou máxima produtividade de 2,09 t ha<sup>-1</sup> (Figura 2.F). Esses resultados indicam maior importância do fator doses de N para o aumento da produção de grãos em solos com menor teor de MOS. A aplicação de maiores doses de N pode minimizar o efeito positivo das bactérias nodulantes na produção do grão-de-bico. Essa produtividade foi considerada superior à média mundial de 0,96 t ha<sup>-1</sup> (FAO, 2017), e próxima aos 2,71 t ha<sup>-1</sup> obtidos por Pegoraro et al. (2018) na região norte de Minas Gerais.

A dose recomendada de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N para produção máxima de grãos foi considerada elevada em comparação com estudos realizados em outros países. Mas é semelhante quando comparada às recomendações feitas para outras leguminosas no Brasil, como o feijão. As doses para os cultivos de feijão comum no Brasil variam de 40 a 120 kg ha<sup>-1</sup>, de acordo com o nível tecnológico adotado. Ismail, Amoury e Mousa (2017) e Khaitov e Abdiev (2018) relataram a necessidade de aplicar 48 e 75 kg ha<sup>-1</sup> de N para maior rendimento de grãos em grão-de-bico, em Bangladesh e Uzbequistão, respectivamente. Enquanto, Rani e Krishna (2016) não encontraram diferença na produtividade de grãos usando doses de 20, 30 e 40 kg ha<sup>-1</sup> de N na Índia. A maior necessidade de fertilização com N observada nesta cultura (Figura 2. F) pode estar relacionada à menor disponibilidade natural de N no solo, conforme descrito no material e métodos.

Doses crescentes de N incrementaram os teores foliares de N, P (com inoculação), K e Mg (Figura 3.A, B e C). Os teores máximos desses nutrientes na dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N corresponderam a 41,45; 5,25; 23,60 e 4,40 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Com isso, sugere efeito sinérgico da fertilização com N com uréia na absorção desses macronutrientes pelas plantas de grão-de-bico (Briat et al., 2020). Porém, as doses de N não interferiu nos teores de Ca, com média de 8,42 g kg<sup>-1</sup> (Figura 3. B), e reduziu os teores

foliares de Na no tratamento com *R. tropici* (Figura 3.D). O que indica a atenuação do Na na planta causada pela inoculação (Abdiev et al., 2019).



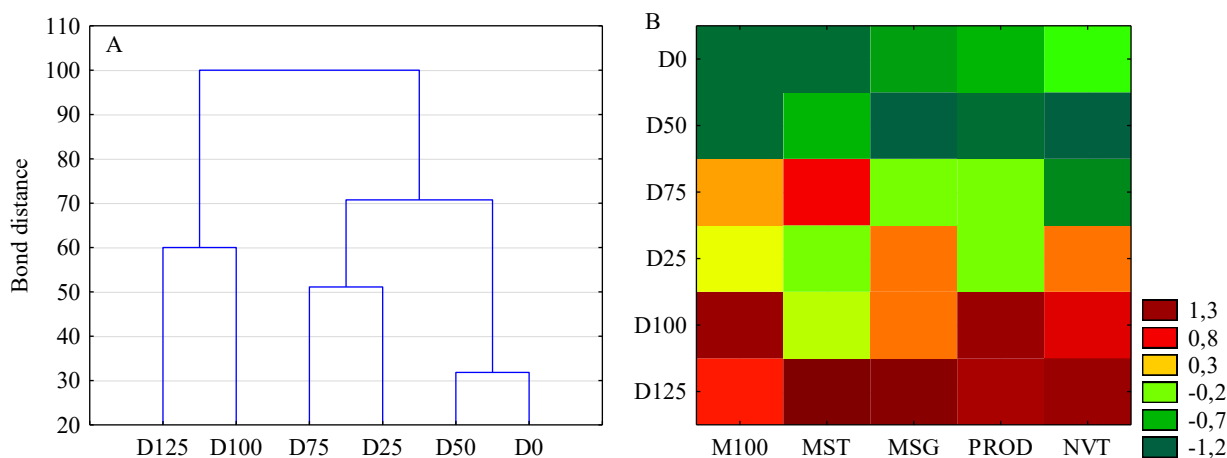
**Figura 3:** Efeito das doses de N nos teores de nitrogênio (A), potássio, cálcio, magnésio (B), fósforo (C) e sódio (D) do grão-de-bico.

Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre a inoculação com *R. tropici* e doses de N no teor de P. Foi verificado menor teor de N quando inoculado e nas doses de 0, 25 e 50  $\text{kg ha}^{-1}$  de N (Figura 3. C). Porém, o maior teor de P foi obtido na presença de *R. tropici* na dose de 125  $\text{kg ha}^{-1}$  de N (Figura 3 C). O desempenho da nodulação e fixação de  $\text{N}_2$  depende das propriedades do solo e dos nutrientes contidos no solo (Briat et al., 2020). Especialmente aqueles nutrientes com envolvimento direto na estrutura e função metabólica da célula microbiana, como é o caso de P (Marschner, 2012).

O P é exigido em maiores quantidades pelas plantas que se associam às bactérias, pois há maior produção de ATP pela ação da enzima nitrogenase e desenvolvimento de nódulos. Na condição de maior disponibilidade de N e na presença de *R. tropici*, a atividade fotossintética das plantas pode ter sido estimulada, devido ao aumento da demanda por compostos de carbono consumidos pelas bactérias simbióticas para fixação de  $\text{N}_2$  (Kaschuk et al., 2012). O que estimula a absorção de P pelas plantas e o rendimento de grãos no grão-de-bico. Quanto maior a nodulação, maior a alocação de P nas raízes das plantas (Kuang et al., 2005; Valentine; Kleinert; Benedito, 2017). Isso pode explicar o menor conteúdo foliar de P após a inoculação com *R. tropici*, nas menores doses de N (Figura 3.C).

Por meio do método UPGMA foi possível identificar três classes de resposta à fertilização: 100 e 125  $\text{kg ha}^{-1}$  de N (resposta alta), 75 e 25  $\text{kg ha}^{-1}$  de N (resposta média), e 50 e 0  $\text{kg ha}^{-1}$  de N (baixa

resposta). A altura do eixo Y para cada grupo identifica essa amplitude (Figura 4.A). As três classes agrupadas complementam a análise de variância (Figura 2) por relacionar maiores parte aérea seca total e de grãos, massa de cem grãos e produtividade, nas doses de 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N. Na análise multivariada, com dados reorganizados em matrizes (Figura 4. B), também foi possível identificar a forte relação positiva (acima de 0,8) das maiores doses (100 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N), e a relação negativa (inferior a -0,7) das menores doses (50 e 0 kg ha<sup>-1</sup> de N) com esses componentes de produção e produtividade.



**Figura 4:** Dendrogramas com análise multivariada de agrupamentos A (método UPGMA) e B (análise multivariada de agrupamento) para os principais componentes da produção de grão de bico (M100 - massa de cem grãos, MST- parte aérea seca total, MSG-massa seca de grãos, NVT- número de vagens, e PROD (produtividade) após a fertilização com doses de N: D0 (0 kg ha<sup>-1</sup>), D25 (25 kg ha<sup>-1</sup>), D50 (50 kg ha<sup>-1</sup>), D75 (75 kg ha<sup>-1</sup>), D100 (100 kg ha<sup>-1</sup>) e 125 (125 kg ha<sup>-1</sup>),

#### Desenvolvimento da planta e conteúdo de nutrientes - área com o maior teor de MOS

Não houve interação entre os fatores inoculação com *R. tropici* as doses de N ( $p > 0,05$ ) para todas as características avaliadas. A inoculação com *R. tropici* aumentou o grãos por planta, número de vagens com um grão, massa seca de folhas e parte aérea total (Tabela 4) em 27,07; 26,78; 20,93% e 16,26%, respectivamente, em comparação com a ausência da inoculação. Reforçando o maior efeito de *R. tropici* na produção de massa de grãos por planta. O maior teor de MOS pode ter aumentado a população bacteriana. O que contribuiu para a simbiose de *R. tropici* com os pelos radiculares de grão-de-bico e favoreceu o desempenho dessas características na planta. Porém, esse efeito foi limitado, pois a inoculação não interferiu na clorofila total, altura, massa de 100 grãos, número de vagens total, massa seca de ramos e produtividade (Tabela 4). O que sugere maior capacidade natural desse solo em proporcionar condições adequadas para a produtividade de grãos de grão-de-bico.

**Tabela 4:** Efeito da inoculação com *Rhizobium tropici* na clorofila total (CLO), altura (ALT), massa de 100 grãos (M100), massa de grão por planta (MGP), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), massa seca de folhas (MSF), ramos (MSR) e massa seca total (MST), produtividade (PROD), índice de colheita (IC), eficiência agrônômica (EA), teor foliar de nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na) e fósforo (P) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

RIZ	CIO	ALT	M100	MGP	NV1	NVT	NV2	MSF	MSR	MST	PROD
		cm	g	g				-----g planta <sup>-1</sup> -----			t ha <sup>-1</sup>
Com	46,71 <sup>ns</sup>	77,71 <sup>ns</sup>	38,39 <sup>ns</sup>	25,60a	51,15a	69,85 <sup>ns</sup>	9,34a	13,90a	36,20 <sup>ns</sup>	83,07a	1,61 <sup>ns</sup>
Sem	48,59 <sup>ns</sup>	81,82 <sup>ns</sup>	38,16 <sup>ns</sup>	18,67b	37,45b	51,11 <sup>ns</sup>	6,82b	10,99b	34,57 <sup>ns</sup>	69,56b	1,96 <sup>ns</sup>
p-valor	0,14	0,24	0,75	0,009	0,01	0,006	0,01	0,005	0,55	0,005	0,051
CV (%)	9,18	15,07	6,00	39,21	41,97	37,18	40,88	26,92	26,45	20,73	34,35
RIZ	IC	EA	N	P	K	Ca	Mg	Na			
	%	kg kg <sup>-1</sup>	-----g kg <sup>-1</sup> -----								
Com	29,86 <sup>ns</sup>	3,06 <sup>ns</sup>	44,23 b	3,20 b	16,38 <sup>ns</sup>	8,52 b	4,37 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>			
Sem	26,82 <sup>ns</sup>	7,03 <sup>ns</sup>	48,47 a	3,59 a	16,22 <sup>ns</sup>	9,96 a	3,65 <sup>ns</sup>	0,29 <sup>ns</sup>			
p-valor	0,18	0,054	0,001	0,03	0,80	0,006	0,28	0,78			
CV (%)	27,44	180,48	7, 51	17,81	13,79	18,51	57,29	46,48			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula no ponto da coluna não diferem entre si pelo teste F,

A ausência de inoculação com *R. tropici* proporcionou os maiores teores foliares de N (9%), P (11%) e Ca (15%) (Tabela 4). Ao contrário do que foi verificado por Abdiev et al. (2019) com grão de bico. Os autores verificaram maiores teores de N, P e K nas raízes e folhas quando na presença da inoculação.

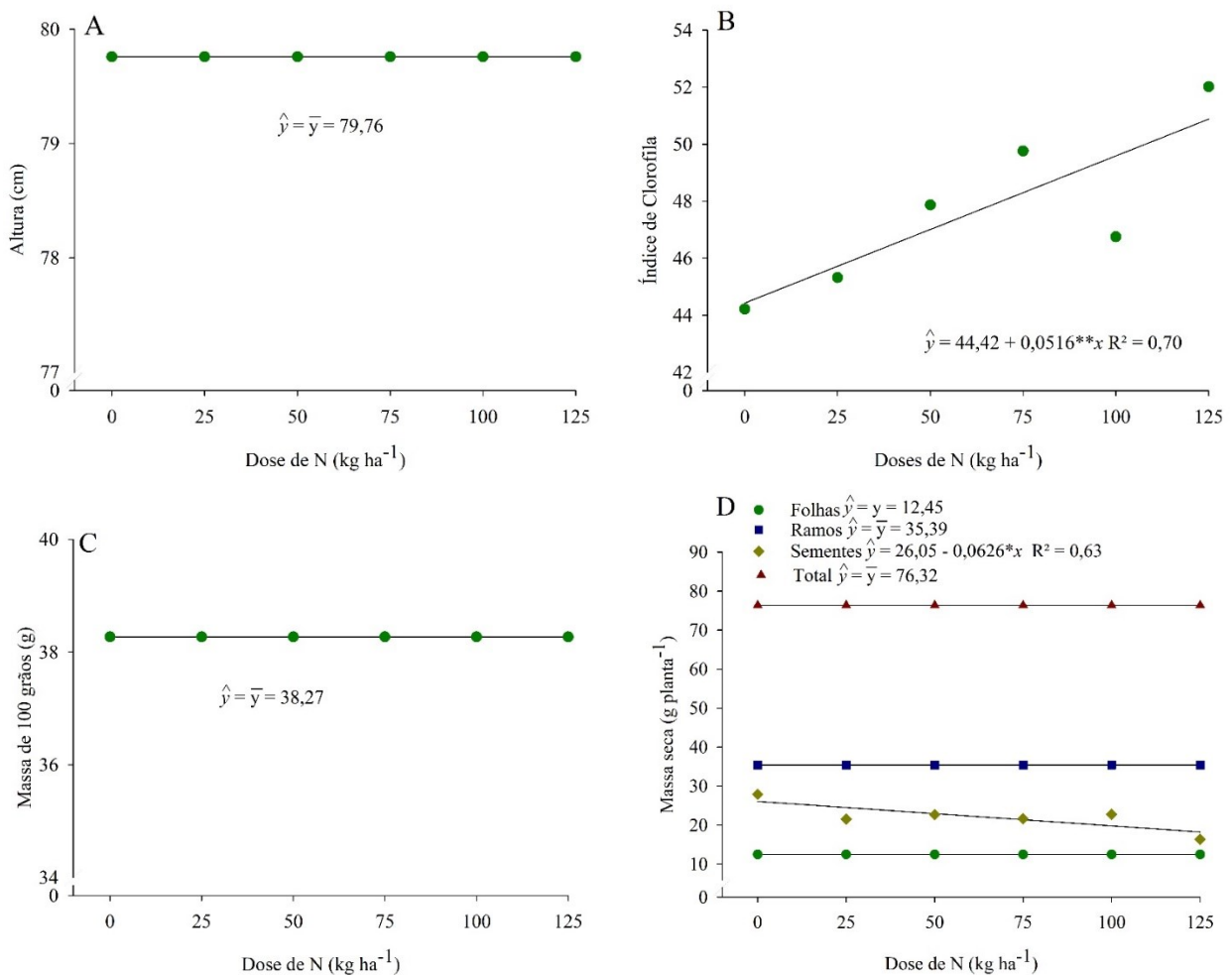
A adição das doses de N aumentou a clorofila total e o teor de N nas folhas do grão-de-bico, com médias de 51 e 48 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, na dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N (Figura 5. B, J). Mas a inoculação não alterou a altura de plantas, massa de 100 grãos, grãos por planta e teores foliares de P, K, Ca e Mg (Figura 5.A, C, D e J). A maior produção de clorofila e absorção de N nas maiores doses aplicadas não implicou diretamente em maior crescimento da planta e massa de grãos. O que indica uma absorção de luxo de N pelo grão-de-bico, além do adequado fornecimento de N às plantas, nas menores doses aplicadas.

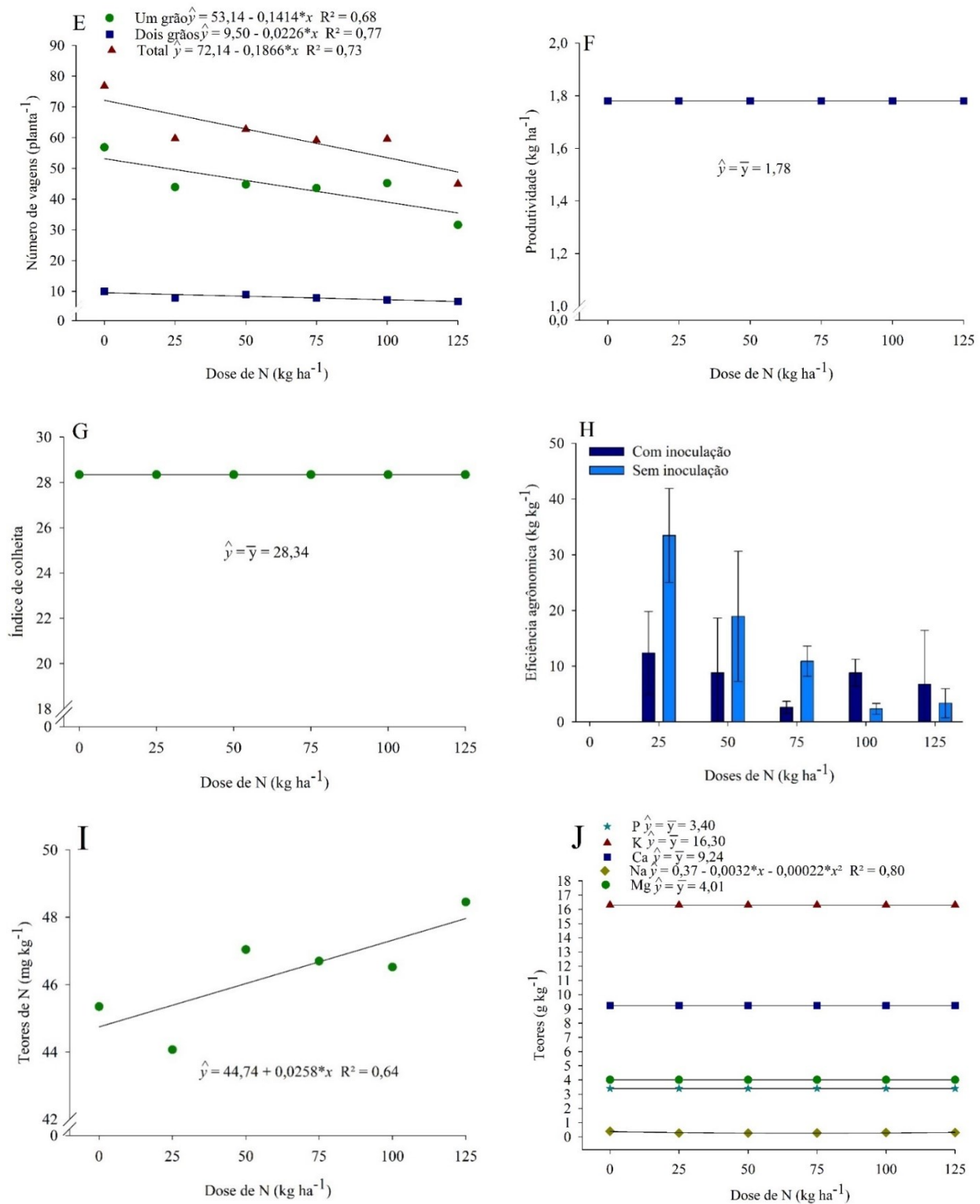
Sugere-se então uma maior capacidade desse solo com maior teor de MOS em fornecer N para o grão-de-bico. Cyclot et al. (2017) relataram que a taxa de mineralização de nitrogênio da MOS na camada arável (0,30 m) varia de 0,13 a 1,10 kg ha<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N em solos na França. Esses autores descreveram uma correlação positiva entre a taxa de mineralização e o teor de MOS, ou seja, ocorre aumento substancial na disponibilidade de N para plantas em solos com maior teor de MOS. Em solos

tropicais acredita-se que essas taxas sejam maiores, porém, se considerarmos a mineralização de 1 kg ha<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de N seria possível suprir a demanda por grão-de-bico em solos com maior teor de MOS.

A produtividade média do grão-de-bico após a aplicação das doses de N correspondeu a 1,78 t ha<sup>-1</sup> (Figura 5. F). Superior ao obtido em outros países, como Índia (0,91 t ha<sup>-1</sup>), Uzbequistão (1,46 t ha<sup>-1</sup>), Etiópia (1,67 t ha<sup>-1</sup>) e Austrália (1,22 t ha<sup>-1</sup>) (FAO, 2017). Segundo Rani e Krishna (2016), na Índia, a aplicação de doses de N (20, 30 e 40 kg ha<sup>-1</sup>) não interferiu na produtividade de grãos. O que reforça a capacidade dessas plantas em utilizar N do solo, ou fornecido por meio de simbiose. Soares et al. (2016) estudaram o cultivo do feijoeiro comum, relataram que 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura favoreceu o crescimento radicular e maior nodulação das plantas quando comparada a doses superiores de N. Possivelmente doses menores de N podem favorecer o desenvolvimento inicial de espécies vegetais.

As doses de N não incrementaram o índice de colheita e a eficiência agrônômica, e suas médias corresponderam a 28,34% e 5,04, respectivamente (Figura 5. G e H). Ou seja, 28,34% da biomassa acumulada na parte do grão-de-bico foi convertida em grãos. O índice de colheita e a eficiência agrônômica referem-se à capacidade da planta em produzir grãos de acordo com seu crescimento e disponibilidade de nutrientes via fertilização. Nesse contexto, observou-se a inexistência de alterações na produção de grãos após a utilização das maiores doses de N, corroborando com a condição de adequado suprimento nutricional da planta nas menores doses de N. A maior eficiência agrônômica ocorre quando maiores produções são obtidas com doses menores de N (Leal et al., 2019).





**Figura 5:** Efeito das doses de N na altura de plantas (A), clorofila total (B), massa de 100 grãos (C), massa seca de folhas, ramos, sementes e massa seca total (D), número de vagens com um, dois e grãos totais (E), produtividade (F), índice de colheita (G), eficiência agrônômica (H), teor foliar de N (I) e conteúdo foliar de fósforo, potássio, cálcio, magnésio e sódio (J) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

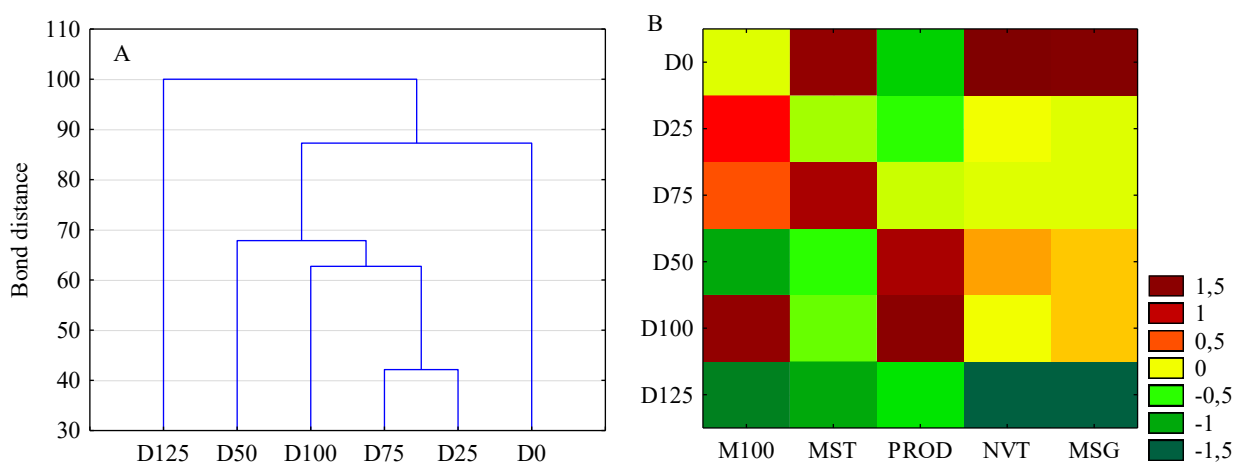
Neste estudo, a aplicação de *Rhizobium* spp. e as doses de N não interferiram na produção de grãos, possivelmente em decorrência da elevada fertilidade natural do solo associada principalmente aos



elevados teores de N mineral, N total e MOS. Atributos que contribuem para a atividade biológica, que proporciona maior disponibilidade de N mineral na solução do solo e maior diversidade de bactérias nodulantes no solo (Marschner, 2012),

Nessa condição, existe maior quantidade de N mineral e orgânico na fração lábil do solo, convertido em amônio e nitrato, liberado pela ação de microrganismos em decomposição (Liu et al., 2020; Camargo et al., 2008). Elias e Herridge (2014), em avaliação sobre o cultivo do grão-de-bico na Austrália, observaram baixa eficiência dessa espécie vegetal em formar uma simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio nativas nos primeiros anos de cultivo. Embora esse fenômeno tenha sido minimizado após o uso de inoculantes, com maior abundância populacional de *Rhizobium* spp. reforçando a importância da fixação do N atmosférico no aumento da produção de grão-de-bico e subsequentes colheitas.

Na análise do método UPGMA, foi possível observar comportamentos isolados, com maior amplitude, nas doses de 125 e 0 kg ha<sup>-1</sup> de N para os componentes de produção (Figura 6.A). A dose de 0 kg ha<sup>-1</sup> de N foi responsável pela obtenção de relações positivas maiores (acima de 1,0) com parte aérea seca total, número de vagens totais e grãos por planta. Já a dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> foi responsável por uma relação negativa (abaixo de -1,0) com os componentes de produção e produtividade (Figura 6. B). O que caracteriza o fornecimento adequado de N para a produção do grão-de-bico na menor dose de N utilizada.



**Figura 6:** Dendrogramas com análise multivariada de agrupamentos A (método UPGMA) e B (análise de agrupamento multivariada) para os principais componentes da produção de grão de bico massa de cem grãos (M100), parte aérea seca total (MST), grãos por planta (MSG), número de vagens totais (NVT), e produtividade (PROD) após fertilização com doses de N: D0 (0 kg ha<sup>-1</sup>), D25 (25 kg ha<sup>-1</sup>), D50 (50 kg ha<sup>-1</sup>), D75 (75 kg ha<sup>-1</sup>), D100 (100 kg ha<sup>-1</sup>) e 125 (125 kg ha<sup>-1</sup>).

Em síntese, este estudo obteve um efeito positivo da inoculação com rizóbio e fertilização com nitrogênio no aumento da produção de grão-de-bico em solos com menor disponibilidade natural de N. Em solos com maior teor de MOS as respostas de produção são menos expressivas, o que pode ser atribuído à alta capacidade de mineralização da fração orgânica do solo devido às condições tropicais de cultivo.

## CONCLUSÃO

No solo com menor teor de matéria orgânica, a inoculação com *R. tropici* aumenta a biomassa da parte aérea e a produtividade do grão-de-bico e não interfere no índice de clorofila. Nessa condição, a aplicação de 100 a 125 kg ha<sup>-1</sup> de N proporciona a produtividade máxima de 2,09 t ha<sup>-1</sup> e a eficiência agrônômica do grão-de-bico de 21,6%.

No solo com maiores teores de matéria orgânica, a inoculação com *R. tropici* aumenta a biomassa da parte aérea e não interfere na produtividade do grão-de-bico. Da mesma forma, as doses de N aumentam a clorofila total, mas não interfere nos demais componentes de produção e produtividade do grão-de-bico.

## REFERÊNCIAS

- ABDIEV, A. et al. Growth, nutrient uptake and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) enhance by *Rhizobium* and *Azotobacter* inoculations in saline soil. **Journal of Plant Nutrition**.42(20):2703-2714, 2019.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil.**Meteorologische Zeitschrift**. 22(6):711-728, 2013.
- ALVAREZ, R. et al. Using a nitrogen mineralization index will improve soil productivity rating by artificial neural networks.**Archives of Agronomy and Soil Science**. 66(4):517-531, 2020.
- ARTIAGA, O. P. et al. Avaliação de genótipos de grão de bico em cultivo de sequeiro nas condições de Cerrado.**Revista Brasileira Ciências Agrárias**, 10(1):102-109, 2015.
- AVELAR, R. I. S. et al. Production and quality of chickpea seeds in different sowing and harvest periods.**Journal of Seed Science**, 40(2):155-164, 2018.
- BATAGLIA, O. C. et al. **Methods of chemical analysis of plants**.Campinas: Instituto Agrônômico, 1983, 48p.
- BRIAT, J. F. et al. Reappraisal of the central role of soil nutrient availability in nutrient management in light of recent advances in plant nutrition at crop and molecular levels.**European Journal of Agronomy**, 116:e126069, 2020.
- CAMARGO, F. A. O. et al. Nitrogênio orgânico do solo.In: SANTOS, G. A. et al.**Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2ª Ed, Porto Alegre: Metropole, 2008, p. 87-97.

CHAGAS, J. M. et al. Feijão. In: RIBEIRO, A. C. et al. (Ed,) **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999, p. 306-307.

CLIVOT, H. et al. Quantifying in situ and modeling net nitrogen mineralization from soil organic matter in arable cropping systems. **Soil Biology and Biochemistry**, 111:44-59, 2017.

ELIAS, N. V.; HERRIDGE, D. F. Crop-available water and agronomic management, rather than nitrogen supply, primarily determine grain yield of commercial chickpea in northern New South Wales. **Crop and Pasture Science**, 65(5):442-452, 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO,FAOSTAT.**Food and agriculture data**, 2017. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>>. Acesso em: 10, Jul,2018.

GOPALAKRISHNAN, S. et al. Influence of diazotrophic bacteria on nodulation, nitrogen fixation, growth promotion and yield traits in five cultivars of chickpea.**Biocatalysis and agricultural biotechnology**, 15:35-42, 2018.

GU, J. et al. Photosynthetic properties and potentials for improvement of photosynthesis in pale green leaf rice under high light conditions.**Frontiers in plant science**, 8:1082, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET.**Dados meteorológicos de estações automáticas**.Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 20, dez, 2019.

INTERNATIONAL CROPS RESEARCH INSTITUTE FOR THE SEMI-ARID TROPICS – ICRISAT.**Chickpea**, 2017. Disponível em:<<http://exploreit.icrisat.org/profile/Chickpea/232> >. Acesso em: 02, Jun, 2019.

ISMAIL, M. M.; AMOURSY, A. H. M. E. D.; MOUSA, A. E. Effect of organic and inorganic N fertilizer on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown on sandy soil using <sup>15</sup>N tracer.**Bangladesh Journal of Botany**, 46(1):155-161, 2017.

INTERNATIONAL UNION OF SOIL SCIENCE WORKING – IUSS.**World Reference Base for Soil Resources (WRB)**, 2015. Disponível em: < <https://www.iuss.org/world-of-soils/>>. Acesso em: 12 de out, 2019.

JENSEN, E. S.; CARLSSON, G.; HAUGGAARD-NIELSEN, H. Intercropping of grain legumes and cereals improves the use of soil N resources and reduces the requirement for synthetic fertilizer N: A global-scale analysis.**Agronomy for Sustainable Development**, 40(1):1-9, 2020.

JOSHI, D. et al. Impacts of bioinoculants *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Rhodococcus qingshengii* S10107 on chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield and soil nitrogen status. **Pedosphere**, 29(3):388-399, 2019.

KHAITOV, B.; ABDIEV, A. Performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to bio-fertilizer and nitrogen application in arid condition. **Journal of Plant Nutrition**, 41(15):1980-1987, 2018.

KASCHUK, G. et al. Photosynthetic adaptation of soybean due to varying effectiveness of N<sub>2</sub> fixation by two distinct *Bradyrhizobium japonicum* strains. **Environmental and Experimental Botany**, 76:1-6, 2012.

KLIKOCCA, H.; TATARCZAK, A. The use of cluster analysis to evaluate yield and yield components of spring barley in a two-variable field experiment. **International Journal Agriculture Statistic Science**, 11(1):35-42, 2015.

KUANG, R. B. et al. Phosphorus and nitrogen interactions in field-grown soybean as related to genetic attributes of root morphological and nodular traits. **Journal Interation Plant Biology**, 47(5):549-559, 2005.

LARANJO, M.; ALEXANDRE, A.; OLIVEIRA, S. Legume growth-promoting rhizobia: an overview on the *Mesorhizobium* genus. **Microbiological research**, 169(1):2-17, 2014.

LEAL, F. T. et al. Use efficiency and responsivity to nitrogen of common bean cultivars. **Ciência e Agrotecnologia**.43:e004919, 2019.

LIU, K. et al. Intensifying crop rotations with pulse crops enhances system productivity and soil organic carbon in semi-arid environments. **Field Crops Research**, 248:107657, 2020.

MARLES, R. J. Mineral nutrient composition of vegetables, fruits and grains: The context of reports of apparent historical declines. **Journal of Food Composition and Analysis**, 56:93-103, 2017.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Amsterdã, Holanda, 3,ed. Academic press, v,89, 2012, 649p.

MOINUDDIN, D. T. et al. Use of N and P biofertilizers together with phosphorus fertilizer Improves growth and physiological attributes of chickpea. **Global Journal of Agriculture and Agricultural Sciences**, 2(3):168-174, 2014.

NASCIMENTO, W. M. et al. BRS **Aleppo: grão-de-bico, maior tolerância a fungos de solo**. Brasília; Anápolis: Embrapa Hortaliças, Boletim Técnico, 4p, 2014.

NASCIMENTO, W. M. de et al. **Grão-de-bico, Hortaliças Leguminosas**. Brasília, DF, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 89-118p, 2016.

PEGORARO, R. F. et al. Chickpea production and soil chemical attributes after phosphorus and molybdenum fertilization. **Ciência e Agrotecnologia**, 42(5):474-483, 2018.

RANI, B. S.; KRISHNA, T. G. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties to nitrogen on a calcareous vertisols. **Indian Journal of Agricultural Research**, 50(3):278-281, 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM, **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013. Available in: <<http://www.r-project.org>>. Access in: FEB,15, 2020.

SINGH, Z.; SINGH, G. Role of *Rhizobium* in chickpea (*Cicer arietinum*) production-A review. **Agricultural Reviews**, 39(1):31-39, 2018.

SOARES, B. L. et al. Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with rhizobia and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40:e0150235, 2016.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6,ed, Porto Alegre, Artmed Editora, 2017, 858 p.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 1995, 188p.

VALENTINE, A. J.; KLEINERT, A.; BENEDITO, V. A. Adaptive strategies for nitrogen metabolism in phosphate deficient legume nodules. **Plant Science**, 256:46-52, 2017.

WOLDE-MESKEL, E. et al. Additive yield response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to *Rhizobium* inoculation and phosphorus fertilizer across small holder farms in Ethiopia. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 261:144-152, 2018.

ZHANG, J. et al. Biogeographic distribution of chickpea rhizobia in the world. In. ZHANG, J. et al. **Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture**, Amsterdã, Holanda, Academic press, 2020, p. 235-239

#### **4.2 Artigo 2 – Produção de grão-de-bico inoculado com *Bacillus* sp e doses de nitrogênio**

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Ciência e Agrotecnologia.

**Produção de grão-de-bico inoculado com *Bacillus* sp e doses de nitrogênio**  
**Production of chickpeas inoculated with *Bacillus* sp and nitrogen doses**

**RESUMO**

O crescimento e a produtividade no grão-de-bico estão relacionados ao fornecimento equilibrado de N. Em solos intemperizados, esse fator é dependente da atividade biológica de bactérias promotoras de crescimento, da presença de bactérias diazotróficas e do manejo da adubação nitrogenada. Dessa forma, objetivou-se avaliar a inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N na produtividade do grão-de-bico. O estudo foi conduzido em duas áreas com tempo de cultivo distintos. No delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 6, consistindo de ausência ou presença de mix de *Bacillus* spp. (concentração de  $1 \times 10^7$  UFC por mL) de isolados radiculares. E seis doses de N: 0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup>, aplicadas trinta dias após a emergência (DAE) das plantas. Foram avaliadas as características de produção e produtividade do grão-de-bico. Na área com menor tempo de cultivo com espécies perenes e anuais (área 01) a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não interferiu no rendimento de grãos. A aplicação de menores doses de N (25 kg ha<sup>-1</sup>) aumentou a massa seca de ramos, grãos, total e a produtividade (4,17 t ha<sup>-1</sup>). Na área com maior tempo de cultivo (área 02), a inoculação com *Bacillus* sp. aumentou a produtividade do grão-de-bico em 4% e propiciando a colheita de 4,16 t ha<sup>-1</sup> de grãos. A adubação nitrogenada aumentou o índice de clorofila, mas não interferiu nas demais características de produção e produtividade do grão-de-bico. A inoculação de sementes de grão-de-bico com mix de *Bacillus* spp. é indicada em solos com maior tempo de cultivo com espécies agrícolas. Em áreas com menor tempo de cultivo, a aplicação de 25 kg ha<sup>-1</sup> de N é indicada para aumento no rendimento de grãos.

**Palavras-chave:** *Cicer arietinum* L., adubação nitrogenada, bactéria promotora de crescimento, rendimento agrônômico.

**ABSTRACT**

The growth and productivity in chickpeas are related to the balanced supply of N. In weathered soils, this factor is dependent on the biological activity of growth-promoting bacteria, the presence of diazotrophic bacteria and the management of nitrogen fertilization. Thus, the objective was to evaluate inoculation with a mix of *Bacillus* spp. and doses of N in the chickpea productivity. The study was conducted in two areas with different cultivation times. In a randomized block design, with four replications, in a 2 x 6 factorial scheme, consisting of the absence or presence of a mix of *Bacillus* spp. (concentration of  $1 \times 10^7$  CFU per mL) of root isolates. And six doses of N: 0, 25, 50, 75, 100 and 125 kg ha<sup>-1</sup>, applied thirty days after the emergence (DAE) of the plants. The characteristics of production and productivity of chickpeas were evaluated. In the area with less cultivation time with perennial and annual species (area 01), inoculation with the mix of *Bacillus* spp. did not interfere with grain yield. The application of lower doses of N (25 kg ha<sup>-1</sup>) increased the dry mass of branches, grains, total and productivity (4.17 t ha<sup>-1</sup>). In the area with the longest cultivation time (area 02), inoculation with *Bacillus* sp. increased chickpea productivity by 4% and provided a harvest of 4.16 t ha<sup>-1</sup> of grains. Nitrogen fertilization increased the chlorophyll index, but did not interfere with the other characteristics of production and productivity of chickpeas. The inoculation of chickpea seeds with a mix of *Bacillus* spp. it is indicated in soils with a longer cultivation time with

agricultural species. In areas with shorter cultivation time, the application of 25 kg ha<sup>-1</sup> of N is indicated to increase grain yield.

**Keywords:** *Cicer arietinum* L., nitrogen fertilization, growth-promoting bacteria, agronomic yield.

## INTRODUÇÃO

O grão-de-bico é a terceira leguminosa mais plantada no mundo. Em 2018, produziu-se 17,19 milhões de toneladas dessa leguminosa com produtividade média de 965 kg ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2020). Os grãos apresentam elevada proporção de proteína digerível (17 a 31,5%), alta quantidade de aminoácidos essenciais (Jukanti et al., 2012) e baixo índice glicêmico (Foster-Powell et al., 2002), características que aumentam a popularidade dessa leguminosa. Adapta-se a regiões semiáridas, fixam nitrogênio atmosférico, possuem baixo custo de produção e maior rusticidade no cultivo (Nascimento et al., 2016).

A região semiárida brasileira é indicada para cultivo desta leguminosa (Artiaga et al., 2015; Nascimento et al., 2016), com produtividades de 797 kg ha<sup>-1</sup> em sequeiro (Artiaga et al., 2015), e superiores a 2.700 kg ha<sup>-1</sup> em sistemas irrigados (Hoskem et al., 2017; Pegoraro et al., 2018; Almeida Neta et al., 2020; Fonseca et al., 2020). No entanto, para obtenção de elevadas produtividades, o fornecimento equilibrado de nitrogênio (N) via adubação mineral e sua interação com a atividade biológica de bactérias promotoras de crescimento e diazotróficas é considerada primordial e pouco estudada.

A inoculação de plantas com bactérias promotoras de crescimento, como as do gênero *Bacillus* sp. no cultivo de grão-de-bico, propicia a síntese de fitormônios como AIA (Mondal et al., 2019), e secreção de exopolissacarídeos, sideróforos e flavonoides que inibem o movimento de íons tóxicos (Wani; Khan, 2010), e inibe populações patogênicas (Sivaramaiah; Malak; Sindhu, 2007). Essas bactérias são ainda verificadas na promoção do equilíbrio iônico na solução do solo (Hashem; Tabassum; Abd-alla, 2019), promove a solubilização de fósforo (Yadav; Verma, 2014; Hashem; Tabassum; Abd-alla, 2019). Aumenta a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Sivaramaiah; Malak; Sindhu, 2007; Qureshi et al., 2009) e a produção de grãos de grão-de-bico (Wani; Khan, 2010). Dessa forma, a inoculação com bactérias promotoras no crescimento é indicada pois auxiliam no desenvolvimento vegetal, na produção de grãos e aquisição de nutrientes (Yadav; Verma, 2014).

No cultivo de grão-de-bico, estudos relacionados a inoculação de bactérias do gênero *Bacillus* spp. em condições tropicais brasileira de cultivo são escassos. Bem como, a resposta da planta após a aplicação de nitrogênio (N) mineral. Uma vez que, o N é considerada imprescindível em cultivos agrícolas de leguminosas que não apresentam alta eficiência simbiótica. Romanya e Casals (2019) destacaram que solos com maior fertilidade aumentam a FBN do grão-de-bico. E não foi verificado aumento da FBN em solos com menor fertilidade. A produção do grão-de-bico também varia com o teor de matéria orgânica do solo (MOS). Almeida Neta et al. (2020) concluíram que solos com menor teor de MOS produzem 2.009 kg ha<sup>-1</sup> de grãos com dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N. Já solos com maior teor de MOS não foi verificado aumento no rendimento de grãos (1.780 kg ha<sup>-1</sup>) com o incremento de doses de N.

O N é considerado um elemento essencial para o grão-de-bico por constituir proteínas, ácidos nucleicos, clorofila dentre outros componentes, ligados diretamente a eficiência fotossintética

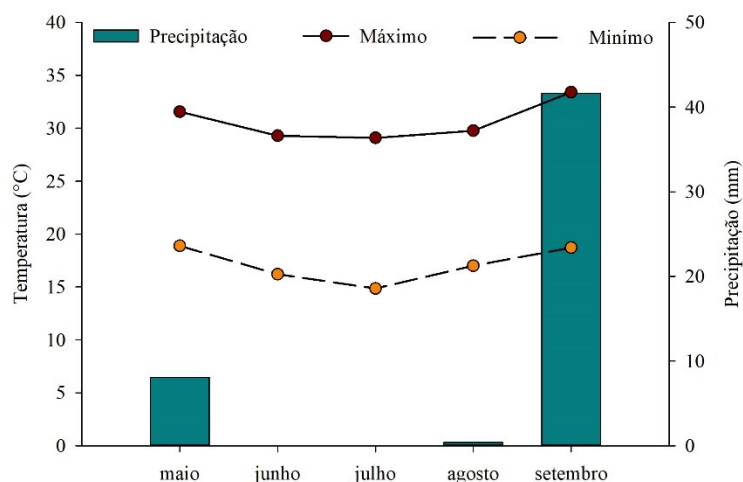


(Marschner, 2012). Contudo, com a busca por agricultura sustentável, o uso de adubações nitrogenadas deve ser realizado de forma consciente. A fertilização com o N, pode ocasionar em perdas do nutriente por lixiviação e/ou volatilização (Yadav; Verma, 2014; Joshi et al., 2019). Nesse sentido, os cultivos sustentáveis com práticas agrícolas ecológicas são de grande importância para garantia da produção de plantas saudáveis sem risco de contaminação para o consumidor.

Estudos com a inoculação com mix de *Bacillus* spp. e manejo de doses de N em solos com distintos históricos de uso são inexistentes no Brasil. Esses estudos são de grande importância para garantia de maior rendimento de grãos e cultivos sustentáveis. O objetivo neste estudo foi avaliar a eficiência da inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N no cultivo de grão-de-bico.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em duas áreas anteriormente cultivadas com grão-de-bico entre maio e início de setembro de 2019. A primeira área está localizada 16°41'01.86 S e 43°50'20.11"O. A segunda área está localizada 16°40'57.22" S e 43°50'20.94"O. O clima da região é classificado como Aw com inverno seco e verão chuvoso (Alvares et al., 2013). As condições climáticas durante o período de condução dos estudos são apresentadas na Figura 1.



**Figura 1.** Temperatura máxima e mínima e precipitação durante o cultivo do grão-de-bico no ano de 2019, conforme informações do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (INMET, 2020).

### Caracterização das áreas de cultivo e modelo experimental

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 6. O primeiro fator foi representado pela ausência ou presença de mix do *Bacillus* spp. em concentração de  $1 \times 10^7$  UFC por mL. E o segundo fator consistiu das doses 0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia (45% de N), trinta dias após a emergência (DAE).

O estudo foi conduzido em duas áreas com tempos de cultivo com espécies agrícolas distintos. A primeira (área 01) apresenta menor tempo de cultivo com espécies anuais e perenes (pousio entre os anos de 2009 a 2018, com vegetação predominante de gramíneas e plantas espontâneas e cultivo de grão-de-bico em 2018). A segunda área (área 02) possui maior tempo de cultivo com espécies vegetais (cultivos de bananas para demonstração na disciplina de fruticultura nos anos de 2009 a 2014, plantio de sorgo em 2015, sorgo e grão-de-bico em 2016 e em 2017, pousio em 2018 com vegetação predominante de gramíneas). Os solos das áreas foram classificados como Cambissolo Háplico de textura média (Santos et al., 2018). Vinte dias antes da implantação da cultura foram coletadas, com o auxílio de trado holandês, amostras de solo (10 amostras simples por amostra composta) na camada de 0-20 cm de profundidade para caracterização química. Na área 01 obteve-se os resultados: Matéria orgânica: 3,60 dag kg<sup>-1</sup>; N-NO<sub>3</sub>: 93,0 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 79,0 mg kg<sup>-1</sup>; N total: 2,58 g kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O): 5,8; P (Mehlich 1): 2,09 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich 1): 81,0 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 8,60 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,80 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al (KCl): 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al: 3,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 10,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; t: 10,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; saturação de base: 77 %; T: 13,70 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Na área 02 obteve-se as características químicas: Matéria orgânica: 1,99 dag kg<sup>-1</sup>; N-NO<sub>3</sub>: 79,8 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 53,2 mg kg<sup>-1</sup>; total N: 1,52 g kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O): 7,0; P (Mehlich 1): 12,24 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich 1): 188 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 7,20 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al (KCl): 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al: 0,94 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 9,18 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; t: 9,18 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; saturação de base: 91 %; T: 10,12 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>.

O preparo do solo foi realizado com uma aração e uma gradagem para ambos as áreas, quinze dias antes da semeadura. A cultivar de grão-de-bico utilizada foi BRS Aleppo, com grãos do tipo kabuli, de crescimento semi-ereto com adaptabilidade na região semiárida mineira (Nascimento et al., 2014). A semeadura foi no sulco de plantio com duas sementes a cada 0,10 m. Após a emergência foi realizado desbaste para obter 10 plantas por metro, espaçadas de 0,50 m entre fileiras, com total estimado de 200.000 plantas por hectare. As parcelas constituíram por 5 m<sup>2</sup>, com quatro linhas de 2,5 m.

### **Obtenção dos isolados de bactérias nativas de raízes de grão-de-bico**

Os isolados bacterianos foram obtidos de nódulos radiculares de grão-de-bico cultivados em manejo orgânico (esterco bovino curtido e solo com alto teor de MOS na proporção de 1:1). As plantas foram conduzidas em vasos de dez litros, irrigadas diariamente. No florescimento pleno, coletaram-se as plantas para retirada dos nódulos. As raízes foram lavadas e os nódulos destacados e lavados com água destilada autoclavada e depois permaneceram por 25 segundos em álcool etílico 95% e por 1 min em NaClO a 3%. Foram então lavados repetidamente cinco vezes com água destilada. Depois da limpeza os nódulos foram esmagados e a suspensão foi diluída seis vezes (10<sup>-6</sup>) em água salina. As suspensões foram inoculadas em meio de cultura YMA (Fred; Waksman, 1928) com 10 g L<sup>-1</sup> de manitol, 0,5 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,1 g L<sup>-1</sup> de NaCl, 0,5 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 15 g L<sup>-1</sup> de ágar e adição de 5 ml L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol e pH corrigido para 6,8. Os isolados foram incubados a 28°C por 48 h para a contagem de colônias e que foram isoladas e mantidas em meio líquido TY (Somasegaran; Hoben, 1994). Após 24 h de incubação foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e coloração de Gram de cada colônia selecionada e identificada.

Foram selecionadas bactérias para análise proteômica, as cepas de bactérias foram processadas usando pontuações de identificação superiores a 2,0 quando analisadas por espectrometria de massa de tempo de desorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS), para isso foi utilizado o software MALDI-Biotyper v2.0 (Farfour et al., 2012). Foram identificadas as espécies *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* descritas no estudo como mix de *Bacillus* spp. Para a inoculação, foi utilizado 1 mL do meio líquido TY com  $1 \times 10^7$  UFC ml<sup>-1</sup> para 100 g de sementes de grão-de-bico, 1 h antes do plantio.

### Manejo cultural

A adubação de base foi realizada na semeadura, com a aplicação de 110 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio) no sulco de plantio, em ambas as áreas. A adubação de cobertura com ureia foi realizada próximo a linha de semeadura (aproximadamente 5 cm de distância das plantas), aos 30 DAE. Após a aplicação foi realizada irrigação. Aos 30 e 50 DAE foi aplicado via foliar os micronutrientes B, Mo, Cu, Fe e Zn, na proporção 0,2% de ácido bórico (0,34 g L<sup>-1</sup> de B), 0,2% de molibdato de sódio (0,3 g L<sup>-1</sup> Mo), 0,2% de sulfato de cobre (0,26 g L<sup>-1</sup> de Cu), 0,2% de sulfato ferroso (0,38 g L<sup>-1</sup> de Fe) e 0,2% de sulfato de zinco (0,40 g L<sup>-1</sup> de B), respectivamente (Nascimento et al., 2016).

Os tratamentos fitossanitários e irrigação foram realizados de acordo com a necessidade da cultura e recomendações técnicas para a cultura na região (Nascimento et al., 2016). O sistema de irrigação utilizado foi por microaspersão, com turno de rega de quatro dias. Quando necessário foi realizado o controle manual de plantas daninhas, com o uso de enxada.

### Características avaliadas

Aos 60 DAE, em pleno florescimento foi determinado a clorofila total, com leituras no clorofilômetro (SPAD-502), de vinte folíolos totalmente desenvolvidos por parcela útil e localizados na porção superior da planta.

No final do ciclo da cultura (110 DAE), foram coletadas dez plantas centrais de cada parcela para avaliação das seguintes características: altura das plantas (cm). Massa da planta seca (g planta<sup>-1</sup>) dos compartimentos: folhas (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total (MST). Obtidos após secagem em estufa de ventilação forçada sob temperatura média de 65 °C, até atingirem massa constante. Massa de 100 grãos (M100), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT). Foi também verificado a produtividade em t ha<sup>-1</sup> (PROD), com umidade nos grãos corrigida para 13%. Índice de colheita (IC) em porcentagem ((peso de sementes/biomassa da parte aérea) x 100). E eficiência agrônômica, expressa pela seguinte fórmula:

$$EA = \frac{P_{ta} - P_{ti}}{DT_a}$$

Em que.

EA = Eficiência agronômica em kg de grãos por kg de nutriente aplicado

PTa = Produtividade no tratamento adubado com N (kg ha<sup>-1</sup>)

PTi = Produtividade do tratamento testemunha (kg ha<sup>-1</sup>)

DTa = Dose no tratamento adubado com N (kg ha<sup>-1</sup>)

### **Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância. Em seguida, de acordo com a significância ( $p \leq 0,05$ ), para o fator qualitativo foi utilizado o teste t e para o fator quantitativo foi realizado ajustes com modelos de regressão, selecionados com base na significância dos coeficientes de regressão e no potencial para explicar o fenômeno biológico. A análise estatística foi realizada com o software estatístico R (R CORE TEAM, 2019), com o pacote *ExpDes.pt* (Ferreira; Cavalcanti; Nogueira, 2013). Foi realizado a análise conjunta das duas áreas de cultivo pelo pacote *easynova* (Arnhold, 2014). Comparou-se o tratamento sem aplicação de N com doses de N, utilizando contraste ortogonal, com o software estatístico Sisvar 5.3 (Ferreira, 2011).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Produção de grão-de-bico obtida na área 01 com menor tempo de cultivos agrícolas.**

A interação da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N não foi significativa ( $p \geq 0,05$ ) para as características avaliadas. Efeito isolado da inoculação ( $p < 0,05$ ) com o mix de *Bacillus* spp. foi observado nas características massa de folha, ramos e total seca, número de vagens com um, dois e total de grãos (Figura 2. A e C). O efeito isolado das doses de N não influenciou ( $p > 0,05$ ) as características avaliadas.

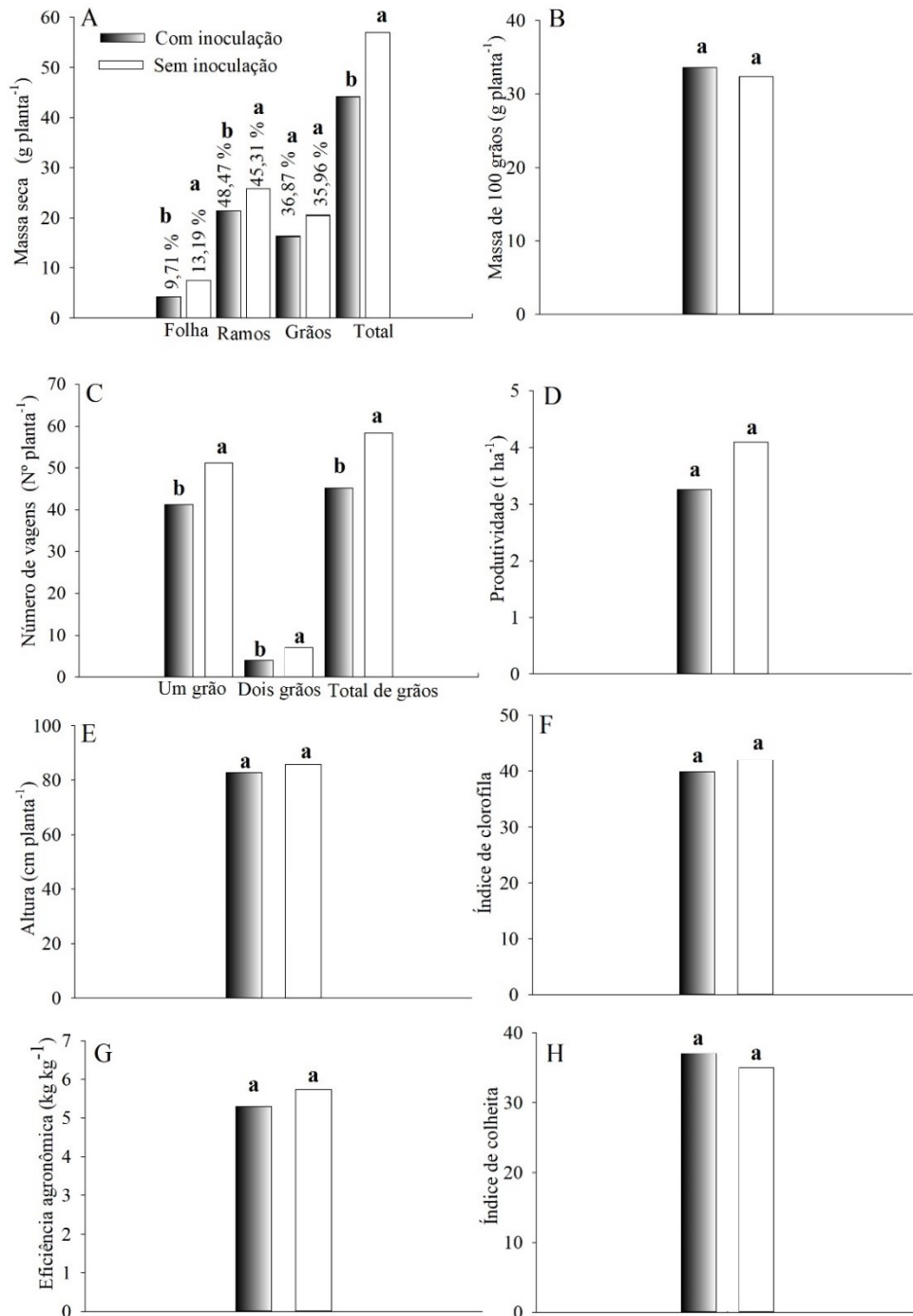
A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. resultou em menor produção de fitomassa, com redução de 43, 17 e 22 % nas folhas, ramos e parte aérea total, respectivamente (Figura 2.A). Também obteve-se menor número de vagens com um grão, dois grãos e total (Figura 2. C). Esse resultado pode ser atribuído a presença de outras bactérias de vida livre na rizosfera do grão-de-bico. As bactérias nativas de vida livre são capazes de realizar fotossíntese e competir com a planta e também com as bactérias inoculadas por fontes de carbono do solo, conforme descrito por Elkoca, Turan e Donmez (2010).

Resultados negativos da inoculação com bactérias na biomassa de grão-de-bico também foram descritos por Mnalku e Mitiku (2019). Esses autores observaram menor produção de biomassa de plantas inoculadas com cepas de rizóbio CP-5 em comparação aos tratamentos que não receberam inoculação. Tais resultados podem ser atribuídos a ineficiência do rizóbio CP-5 em formar simbiose com a planta e também pela presença de rizóbios nativos na área com histórico de plantio com grão-de-bico sem inoculação.

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não influenciou ( $p>0,05$ ) na massa de grãos secos, massa de 100 grãos e produtividade (Figura 2. A, B e D). A produtividade média correspondeu a 3,6 t ha<sup>-1</sup>. As características altura de plantas, clorofila total, índice de colheita e eficiência agrônômica não diferenciaram com a presença ou não da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. (Figura 2. E, F, G e H). As médias foram de 84,22 cm, 40,94, 36,05% e 5,51 kg kg<sup>-1</sup> de nutriente, respectivamente.

A inexistência de efeito da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. nessas características foi atribuída ao elevado teor de MOS (3,60 dag kg<sup>-1</sup>). Elevados teores de MOS pode favorecer a diversidade de microorganismos nodulíferos e promotores de crescimento presentes na rizosfera de leguminosas (Bidyarani et al., 2016). Estes microrganismos podem também contribuir diretamente para a disponibilização de nutrientes para o grão-de-bico.

A maior disponibilidade de N favoreceu o desenvolvimento do grão-de-bico na área 01 devido ao teor MOS alto e quantidades de N total e mineral no solo. Essas características na solução do solo induz a planta menor propensão à formação de simbiose ou associação com rizobactérias tanto inoculadas como nativas. Isso porque na simbiose com bactérias ocorre grande demanda de energia fotossintética por parte da planta (Maschner, 2012; Taiz et al., 2017). Romanya e Casals (2019) estudaram a FBN no grão-de-bico em dois tipos de solo (com baixa e alta fertilidade). Os autores verificaram correlação negativa com o N proveniente da FBN quando em solos com maior teor de N orgânico ou potencialmente mineralizável.



**Figura 2.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. na massa de folhas, ramos, grãos e total secas (A), massa de 100 grãos (B), número de vagens com um grão, com dois grãos e total (C), produtividade (D), altura de plantas (E), clorofila total (leitura de SPAD) (F), eficiência agrônômica (G) e índice de colheita (H) de grão-de-bico cultivar Aleppo. \*Médias seguidas por mesma letra minúscula não difere pelo teste t a 5% de probabilidade.

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. resultou em maior proporção de massa de ramos secos e menor proporção de folhas secas na parte aérea do grão-de-bico, em comparação ao tratamento sem

inoculação com o mix (Figura 2.A). A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. pode ter contribuído para antecipação da senescência de folhas no momento de maturidade fisiológica da planta, o que resultou na queda antecipada das folhas de grão-de-bico (Joshi et al., 2019).

Essas alterações nas proporções de folhas e ramos entre os tratamentos com a presença e a ausência da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não foram observadas nas proporções de grãos. Provavelmente há interferência do *Bacillus* spp. na fisiologia da planta. O *Bacillus* spp. pode ter proporcionado maior estímulo a produção de fitormônios. Como é o caso do 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (ACC), precursor do etileno. O ACC mantém a planta em homeostase e permite maior tolerância em condições de estresse. A excreção de exopolissacarídeos e de sideróforos também auxiliam no equilíbrio iônico, absorção de água e inibição de patógenos, também foi observado em ação do *Bacillus subtilis* (Hashem; Tabassum; Abd-alla, 2019). Esse estímulo no crescimento não foi observado pela inoculação com o mix de *Bacillus* spp. Contudo, o ganho na produção de grãos foi semelhante ao tratamento sem inoculação com o mix de bactérias. Ou seja, não há resposta da inoculação com mix de *Bacillus* spp. na produção de grãos na área 01, com menor frequência de cultivos com espécies agrícolas e com solos com maior MOS.

A adubação nitrogenada aumentou a massa de ramos, grãos e total secas, massa de 100 grãos e a produtividade (Tabela 1). No entanto, não ocorreram diferenças estatísticas entre as doses de N. Ou seja, não houve incremento das características e dos grãos com o aumento das doses de N. Por isso, recomenda-se a utilização da dose mínima de N (25 kg ha<sup>-1</sup>) para obtenção de maiores rendimentos de grãos.

A aplicação de N não interferiu na massa seca de folhas secas, número de vagens com um grão, dois e total de grãos, altura de plantas, clorofila total, eficiência agrônômica e índice de colheita, em comparação ao tratamento sem N (Tabela 1). Provavelmente em decorrência da elevada disponibilidade natural de N (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 93,0 mg kg<sup>-1</sup>) e MOS de 3,06%. O que indica a necessidade da realização de outros estudos em solos com menores teores de MOS e quantidade de N potencialmente mineralizável. Joshi et al. (2019) concluíram que o uso combinado de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N e a inoculação com *Pseudomonas jeneri* e *Rhodococcus qingshengii* (bactérias promotoras de crescimento) propiciaram a produtividade de 2.698 kg ha<sup>-1</sup> de grão-de-bico. Com produtividade 33% superior à obtida no tratamento controle sem aplicação de fertilizante N e inoculantes.

**Tabela 1.** Efeito da adubação com e sem N na massa de folha (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total secas (MST), massa de 100 grãos (M100), produtividade (PROD), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), altura de plantas (ALT), clorofila total (CLO), eficiência agrônômica (EA) e índice de colheita (IC) do grão-de-bico (área 01).

Características	Sem N	Com N	p-valor
MSF (g planta <sup>-1</sup> )	4,51	6,17 <sup>ns</sup>	0,15
MSR (g planta <sup>-1</sup> )	17,41	24,83 <sup>**</sup>	0,01
MSG (g planta <sup>-1</sup> )	13,39	19,37 <sup>*</sup>	0,04
MST (g planta <sup>-1</sup> )	37,44	53,15 <sup>**</sup>	0,01
M100 (g)	30,68	33,40 <sup>*</sup>	0,02
PROD (t ha <sup>-1</sup> )	2,67	4,17 <sup>**</sup>	0,009
NV1 (Nº planta <sup>-1</sup> )	37,65	47,91 <sup>ns</sup>	0,07
NV2 (Nº planta <sup>-1</sup> )	3,50	5,94 <sup>ns</sup>	0,14
NVT (Nº planta <sup>-1</sup> )	41,15	53,86 <sup>ns</sup>	0,07
ALT (cm planta <sup>-1</sup> )	85,00	84,07 <sup>ns</sup>	0,86
CLO	39,25	41,28 <sup>ns</sup>	0,29
ER (kg kg <sup>-1</sup> )	0,00	6,61 <sup>ns</sup>	0,18
IC (%)	34,69	36,32 <sup>ns</sup>	0,55

Médias seguidas por <sup>ns</sup>, não são significativas e médias seguidas por \*, \*\*, são significativas a 5 e 1%, por contraste ortogonal (comparação entre tratamentos sem adubação nitrogenada-doze zero, com tratamentos que receberam doses de N).

O incremento nas doses de N não influenciou no aumento de massa seca dos compartimentos, massa de 100 grãos, número de grãos por vagem. Produtividade, altura de plantas, clorofila total, eficiência agrônômica e índice de colheita (Figura 3. H).

A maior disponibilidade de N para o grão-de-bico não foi respondida com maiores produtividades. A produtividade média foi de 3,92 t ha<sup>-1</sup>, superior à obtida em outros países como na Índia (956 kg ha<sup>-1</sup>) e na Austrália com 928 kg ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2020). Apesar dos cultivos na Índia ainda serem tradicionais sem o uso de irrigação.

Na área 01 de cultivo, o N residual do solo e a atividade biológica de bactérias diazotróficas supriram fração majoritária do N demandado pelas plantas para obtenção da maior produtividade do grão-de-bico. Solos historicamente cultivados com grão-de-bico e ricos em MOS apresentam maior teor de N mineral. Plantas de grão-de-bico possuem alta deposição de folhasricas em N (Joshi et al., 2019) e pela maior disponibilidade natural de N (Romanya; Casals, 2019; Almeida Neta et al., 2020).



### **Produção de grão-de-bico obtida na área 02 com maior tempo de cultivos agrícolas.**

Não houve interação entre a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N para as características avaliadas ( $p \geq 0,05$ ). Efeito isolado da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. ( $p < 0,05$ ) foi observado para as características número de vagens com dois grãos, produtividade, clorofila total e eficiência agrônômica (Figura 3). As doses de N foram significativas para a clorofila total ( $p < 0,05$ ) (Figura 4).

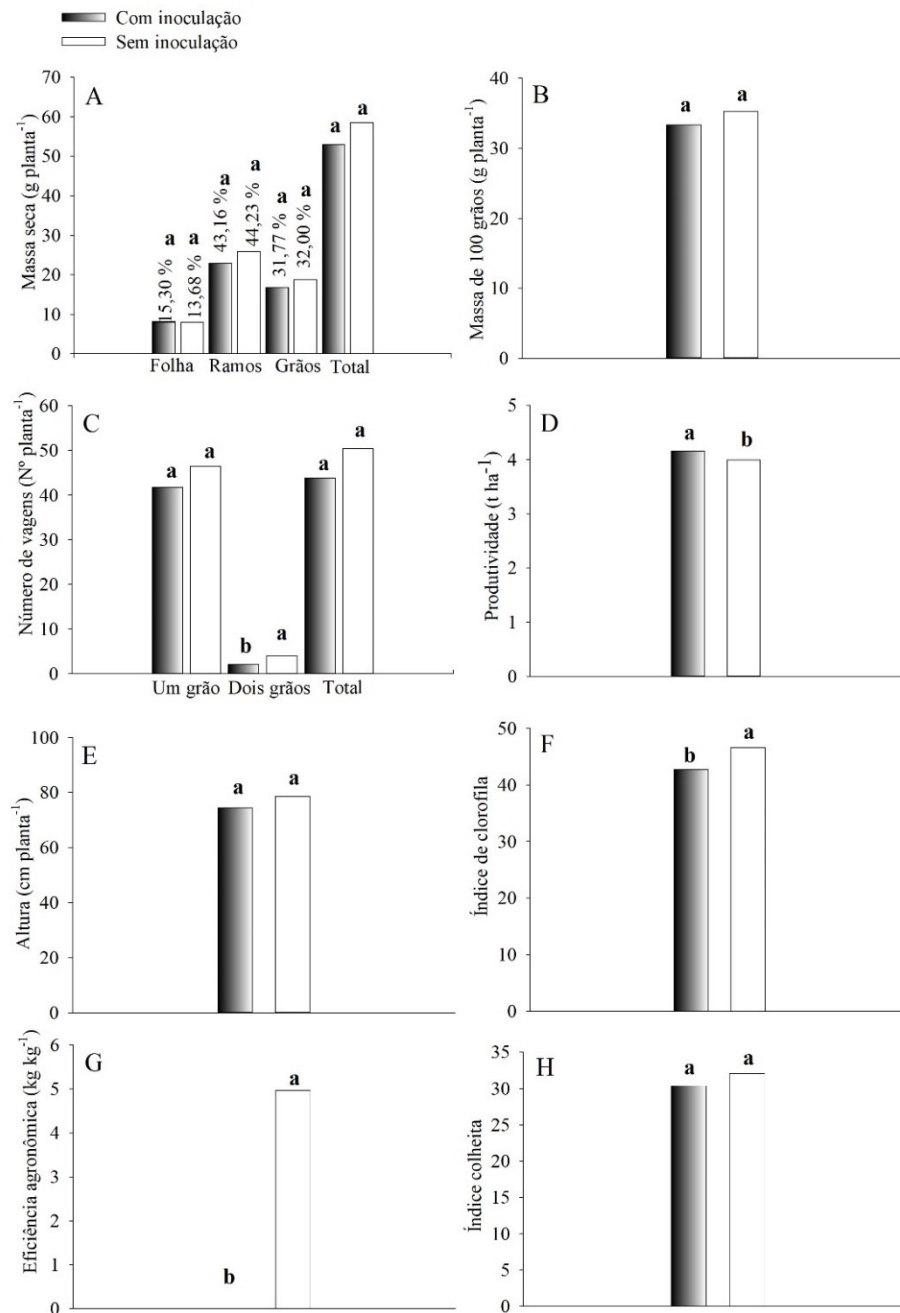
A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. propiciou o aumento de 4% na produtividade. Com produtividade de  $4,16 \text{ t ha}^{-1}$ , em comparação aos tratamentos sem inoculação ( $3,99 \text{ t ha}^{-1}$ ) (Figura 3. D). Esse resultado indica o elevado potencial produtivo e a contribuição do *Bacillus* spp. para a produção de grão-de-bico na região norte de Minas Gerais em áreas cultivadas por maior período de tempo. Zaheer et al. (2019) destacaram os efeitos de bactérias como o *Bacillus* spp. obtidos de nódulos e de rizosfera de plantas de grão-de-bico. Os autores verificaram aumento na solubilização de fósforo, produção de AIA, ácidos orgânicos e sideróforos que são importantes para o crescimento de plantas. Fato que também foi verificado por Yadav e Verma (2014), Mukherjee, Singh e Verma (2020) no grão-de-bico.

Wani e Khan (2010) reportaram a importância de cepas de *Bacillus* spp. na inoculação do grão-de-bico. Isso porque o *Bacillus* spp. aumentou o crescimento do grão-de-bico, por meio de síntese de AIA, que estimulam o alongamento e divisão celular. Os autores também observaram a síntese de sideróforos que aumentam a absorção de nutrientes pelas raízes, além do efeito inibitório nos metais tóxicos, como o cromo. Mukherjee, Singh e Verma (2020) isolaram 29 cepas de bactérias do gênero *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Pantoea* sp. e *Mixta* sp. de sementes de grão-de-bico e reinocularam em cultivos subsequentes. Os autores verificaram maior promoção de crescimento das plantas de grão-de-bico reinoculadas com *B. subtilis* pela solubilização de P, K e  $\text{NH}_4^+$  e inibição de *Fusarium* sp. O que sugere sua utilização como bioinoculantes nos cultivos de campo do grão-de-bico.

A inoculação com bactérias promotoras de crescimento em conjunto com bactérias nodulíferas favorecem a solubilização de P e produção de fitormônios. Além de promoverem a maior nodulação e FBN. Gopalakrishnan et al. (2019) observaram que a inoculação com *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. facilita na obtenção do N atmosférico. Resultados que garantem maior rendimento de grãos e desenvolvimento saudável da planta. O uso combinado de bactérias nodulíferas e de vida livre também é indicado por Gopalakrishnan et al. (2017), Zaheer et al. (2019) e Abd.alla et al. (2019) para formação de biofertilizante em sementes de grão-de-bico.

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. reduziu o número de vagens com dois grãos (Figura 3. C), a clorofila total (Figura 3. F) e eficiência agrônômica (Figura 3. G). Mas a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não interferiu na massa de folhas, ramos, grãos e total secos (Figura 3. A), massa de 100 grãos (Figura 3. B), número de vagens com um grão e total (Figura 3. C), altura de plantas (Figura 3. E) e índice de colheita (Figura 3. H). A redução no número de vagens com dois grãos e da clorofila total no tratamento com inoculação pode ser associada a alterações fisiológicas provocadas pela aplicação de mix de *Bacillus* spp. nas sementes de grão-de-bico e ao aumento na produtividade nesse tratamento.

Dessa forma, maior proporção do N presente nas folhas foi remobilizado para os grãos, o que implica na obtenção de menor clorofila total nas folhas. Isso porque a clorofila das folhas é influenciada diretamente pelo teor de N nas folhas.



**Figura 3.** Efeitos da inoculação com mix de *Bacillus* spp. na massa de folhas, ramos, grãos e total secos (A), massa de 100 grãos (B), número de vagens com um grão, com dois grãos e total (C), produtividade (D), altura de plantas (E), clorofila total (F), eficiência agrônômica (G) e índice de colheita (H) de grão-de-bico cultivar Aleppo (área 02). \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem pelo teste t a 5% de probabilidade.

Por outro lado, Elkoca, Turan e Donmez (2010) verificaram que a inoculação com *Rhizobium leguminosarum*, *B. subtilis* e *B. megaterium* aumentaram o teor de N em plantas de grão-de-bico e conteúdo de proteína nos grãos. Esse resultado sugere que a absorção de N aumenta quando se realiza associação entre bactérias fixadoras de N e promotoras de crescimento. Os autores ainda recomendaram a inoculação de sementes de grão-de-bico, especialmente com o *B. subtilis* por contribuir para o maior produtividade em substituição a adubação nitrogenada, na Turquia.

Dentre os constituintes da parte aérea, os ramos compõem maior proporção de matéria seca com 44% e não diferiram para inoculação com o mix de *Bacillus* spp. (Figura 4. A). Os grãos exportam da área, aproximadamente 32% da massa seca. Ou seja, remanesce no solo (ramos e folhas) 58,46% da parte aérea do grão-de-bico. O que indica a permanência de 6,49 t ha<sup>-1</sup> de massa remanescente, que contribuíra para os cultivos subsequentes.

A adubação nitrogenada não influenciou a maioria das características avaliadas, exceto a clorofila total, que a adubação com N aumentou em 20% (Tabela 2). A aplicação de 89,40 kg ha<sup>-1</sup> de N propiciou a máxima clorofila total de 57,88 (Figura 4. F). Esses resultados podem relacionar a adubação nitrogenada com o aumento do teor de clorofila na planta, sem interferência na produção de grãos.

**Tabela 2.** Efeito da adubação nitrogenada na massa de folha (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total secos (MST), massa de 100 grãos (M100), produtividade (PROD), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), altura de plantas (ALT), clorofila total (CLO), eficiência agrônômica (EA) e índice de colheita (IC) do grão-de-bico cultivar Aleppo (área 02).

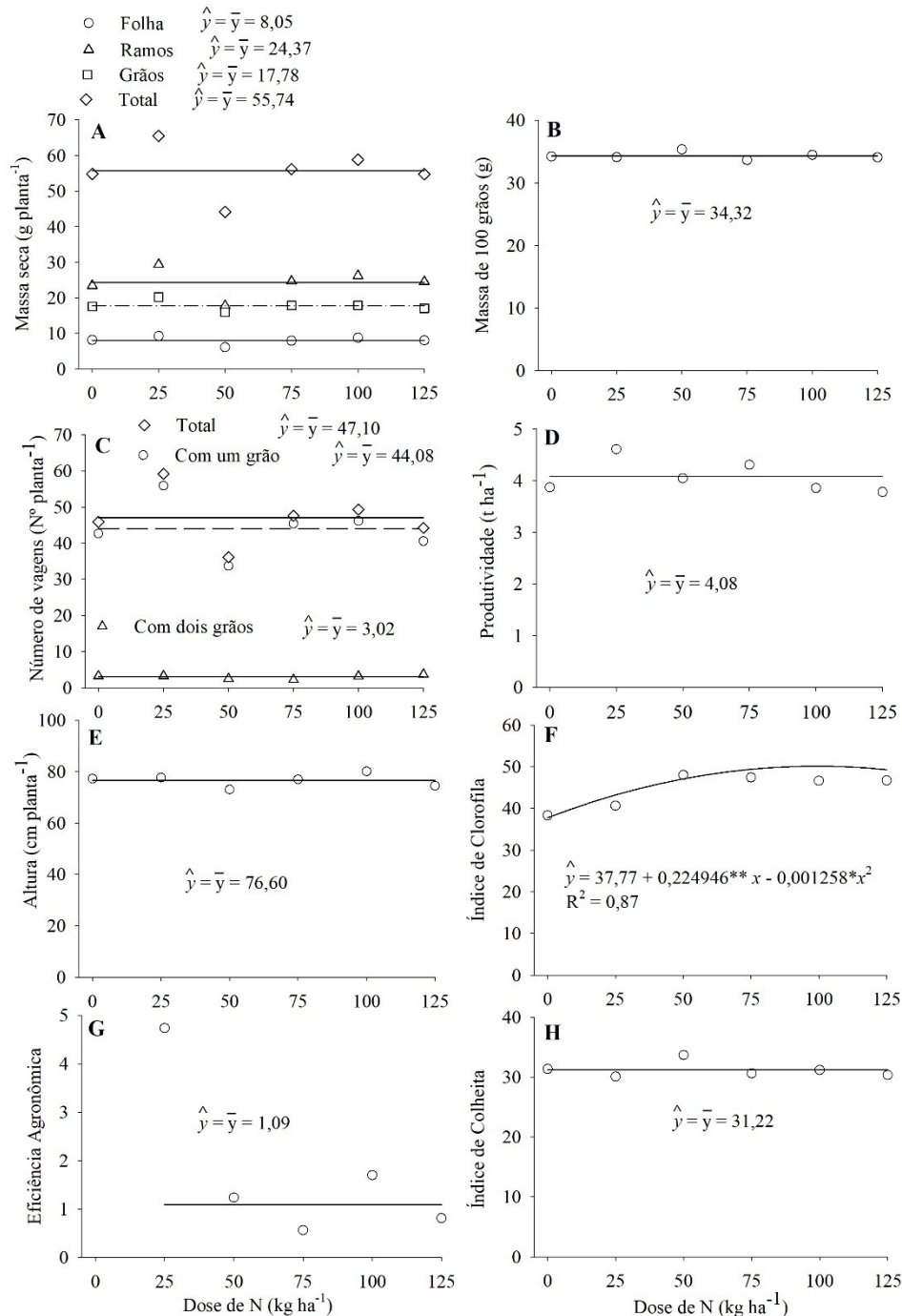
Características	Sem N	Doses de N	p-valor
MSF (g planta <sup>-1</sup> )	8,18	8,03 <sup>ns</sup>	0,89
MSR (g planta <sup>-1</sup> )	23,48	24,54 <sup>ns</sup>	0,72
MSG (g planta <sup>-1</sup> )	17,59	17,81 <sup>ns</sup>	0,93
MST (g planta <sup>-1</sup> )	54,84	55,91 <sup>ns</sup>	0,87
M100 (g)	34,23	34,34 <sup>ns</sup>	0,94
PROD (t ha <sup>-1</sup> )	3,87	4,12 <sup>ns</sup>	0,55
NV1 (Nº planta <sup>-1</sup> )	42,67	44,36 <sup>ns</sup>	0,77
NV2 (Nº planta <sup>-1</sup> )	3,23	2,97 <sup>ns</sup>	0,76
NVT (Nº planta <sup>-1</sup> )	45,91	47,34 <sup>ns</sup>	0,82
ALT (cm planta <sup>-1</sup> )	77,25	76,47 <sup>ns</sup>	0,80
CLO	38,31	45,88 <sup>*</sup>	0,001
ER (kg kg <sup>-1</sup> )	0,00	1,56 <sup>ns</sup>	0,34
IC (%)	31,36	31,18 <sup>ns</sup>	0,55

Médias seguidas por <sup>ns</sup>, não são significativas e médias seguidas por \*, \*\*, são significativas a 5 e 1%, por contraste ortogonal (comparação entre tratamentos sem adubação nitrogenada-doze zero, com tratamentos que receberam doses de N).

As doses de N não influenciaram na produção de massa de folhas, ramos, grãos e total secos (Figura 4. A), massa de 100 grãos (Figura 4. B), número de vagens (Figura 4. C), produtividade (Figura 4. D), altura de plantas (Figura 4. E), eficiência agrônômica (Figura 4. G) e índice de colheita (Figura 4. H). Os resultados indicam que a condição natural do solo foi eficaz em suprir a demanda nitrogenada da planta para esse ciclo de cultivo.

A produtividade obtida de 4.08 t ha<sup>-1</sup> é superior à que foi obtida por Fonseca et al. (2020), em trabalho com a mesma cultivar de grão-de-bico (3,01 t ha<sup>-1</sup>). Os autores utilizaram 100 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia, aplicados 45% na semeadura e 55 % em cobertura, aos 30 dias após o plantio. Essa diferença entre as produtividades pode estar relacionada a época de plantio, pois os autores realizaram o plantio no final do verão e colheita no início do inverno.

O teor MOS (1,99%) e N mineralizável e mineral (N-NO<sub>3</sub>: 79,8 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 53,2 mg kg<sup>-1</sup>) e total (N: 1,52 g kg<sup>-1</sup>) dessa área foram capazes de suprir a demanda de grão-de-bico. O que pode destacar a capacidade adaptativa dessa planta, principalmente em solos com alta fertilidade, como estudos de Romanya e Casals (2019). Joshi et al. (2019) sugeriram que a aplicação de baixas doses de N (20 kg ha<sup>-1</sup>) em conjunto com inoculação de *P. jeneri* e *R. qingshengii* aumentaram os rendimentos no grão-de-bico. Os autores ainda destacaram que o uso de fertilizantes químicos na dose correta é benéfico não só a planta mas também para a população nativa microbiana.



**Figura 4.** Efeito das doses de N na massa de folhas, ramos, grãos e total secos (A), massa de 100 grãos (B), número de vagens com um grão, com dois grãos e total (C), produtividade (D), altura de plantas (E), clorofila total (F), eficiência agrônômica (G) e índice de colheita (H) de grão-de-bico cultivar Aleppo (área 02).

O cultivo de grão-de-bico em áreas com tempo de cultivo com espécies agrícolas distintos apresentaram produtividades semelhantes (área 01 = 3,92 t ha<sup>-1</sup> e área 02= 4,08 t ha<sup>-1</sup>). No entanto, na área com maior tempo de cultivo (área 02) a aplicação do mix de *Bacillus* spp. mostrou-se eficiente no aumento da produção de grãos e não foi influenciada pela adubação nitrogenada. Já na área com menor tempo de cultivo com espécie agrícolas (área 01) a aplicação de 25 kg ha<sup>-1</sup> de N é recomendada sem a necessidade de utilização do mix de *Bacillus* spp.

Resultados distintos para as áreas de cultivo ocorreram em virtude de variações na fertilidade dos solos, teor de MOS, pH e diversidade biológica (Almeida Neta et al., 2020). A maior fertilidade do solo e pH favorecem a atividade do *Bacillus* spp. e outras bactérias nodulantes na rizosfera do grão-de-bico, na área 02. O que implica na menor necessidade de aplicação da adubação nitrogenada para produção de grãos. Na área 01, a menor resposta da inoculação na produção relaciona-se a presença de ambiente adverso a proliferação de bactérias promotoras de crescimento e nodulantes. Em decorrência da menor fertilidade, pH do solo e competitividade entre as bactérias nativas por fontes de carbono no solo (Elkoca; Turan; Donmez, 2010).

## CONCLUSÕES

A inoculação com mix de *Bacillus* spp. reduza fitomassa da parte aérea mas não altera a produtividade do grão-de-bico na área com menor tempo de cultivo com espécies agrícolas e maior teor de matéria orgânica do solo (área 01).

A adubação nitrogenada aumenta massa seca total mas não há aumento de rendimento de grãos com incremento das doses de N na área 01.

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. propicia a produtividade de 4,16 t ha<sup>-1</sup>, na área com maior tempo de cultivo com espécies agrícolas e menor teor de matéria orgânica do solo (área 02).

A adubação nitrogenada aumenta a clorofila total de 57,88 na dose de 89,40 kg ha<sup>-1</sup> de N, na área com maior tempo de cultivo com espécies agrícolas e menor teor de matéria orgânica do solo (área 02).

A área 01 e área 02 possuem produtividades semelhantes, 3,92 e 4,08 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente. A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. é eficaz para obtenção da máxima produtividade do grão-de-bico na área 02. Para a área 01 a aplicação de 25 kg ha<sup>-1</sup> de N propicia maior produção de grãos.

## REFERÊNCIAS

ABD-ALLA, M. H.; NAFADY, N. A.; BASHANDY, S. R.; HASSAN, A. A. Mitigation of effect of salt stress on the nodulation, nitrogen fixation and growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by triple microbial inoculation. **Rhizosphere**. 10, 100148, 2019.

ALMEIDA NETA, M. N.; PEGORARO, R. F.; SAMPAIO, R. A; COSTA, C. A. D.; FERNANDES, L. A.; FERREIRA, J. M. Does inoculation with *Rhizobium tropici* and nitrogen fertilization increase chickpea production? **Ciência e Agrotecnologia**, 44(24):1-13, 2020.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G.A. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**. 22(6):711-728, 2013.

ARNHOLD, E. Easyanova: análise de variância e outras análises complementares importantes. Pacote R versão 4.0. <https://pt.scribd.com/document/376339016/easyanova>. 2014. Acesso em 17 jul 2020

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 Ciências Agrárias**. 10(1):102-109, 2015.

BIDYARANI, N.; PRASANNA, R.; BABU, S.; HOSSAIN, F.; SAXENA, A. K. Enhancement of plant growth and yields in chickpea (*Cicer arietinum* L.) through novel cyanobacterial and biofilmed inoculants. **Microbiological Research**. 188: 97-105, 2016.

ELKOCA, E.; TURAN, M.; DONMEZ, M. F. Effects of single, dual and triple inoculations with *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* on nodulation, nutrient uptake, yield and yield parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. 'elkoca-05'). **Journal of plant nutrition**. 33(14): 2104-2119, 2010.

FARFOUR, E.; LETO, J.; BARRITAU, M.; BARBERIS, C.; MEYER, J.; DAUPHIN, B. Evaluation of the andromas matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of aerobically growing gram-positive bacilli. **Journal Clinical Microbiology**. 50(8):2702–2707, 2012

FERREIRA, D. F. SISVAR 5.3 - **Sistema de análise de variância**. Lavras: UFLA, 2011.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. E. ExpDes.pt: Experimental Designs package. **R package** (Português). version 1.1.2. 2013.

FONSECA, J. H. S.; ALMEIDA NETO, M. N.; PEGORARO, R. F.; ALMEIDA, G. F.; COSTA, C. A.; ALMEIDA, E. S. Chickpea production in response to fertilization with zinc and doses of phosphorus. **Comunicata Scientiae**. 11. e3106-e3106, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO.FAOSTAT. **Food and agriculture data**. 2020. Available in: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em 24 Jul. 2020.

FOSTER-POWELL, K.; HOLT, S. H. A.; BRAND-MILLER, J. C. Tabela internacional do índice glicêmico e dos valores da carga glicêmica: 2002. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 76 (1):5-56, 2002.

FRED, F. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratoiy manual of general microbiology**. New York, McGraw-Hill Book Company. 1928. 145p.

GOPALAKRISHNAN, S.; SRINIVAS, V.; VEMULA, A.; SAMINENI, S.; RATHORE, A. Influence of diazotrophic bacteria on nodulation, nitrogen fixation, growth promotion and yield traits in five cultivars of chickpea. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*. 15:35-42, 2018.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD\_ALLAH, E. F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi journal of biological sciences**. 26(6): 1291-1297, 2019.

HOSKEM, B. C. S.; COSTA, C. A.; NASCIMENTO, W. M.; SANTOS, L. D. T; MENDES, R. B.; MENEZES, J. B. C. Productivity and quality of chickpea seeds in Northern Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. 12(3), 261-268, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Dados meteorológicos de estações automáticas**. Acesso em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em Jun. 2020.

JOSHI, D.; CHANDRA, R.; SUYAL, D. C.; KUMAR, S. Impacts of bioinoculants *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Rhodococcus qingshengii* S10107 on chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield and soil nitrogen status. **Pedosphere**. 29(3):388-399, 2019.

JUKANTI, A. K.; GAUR, P. M.; GOWDA, C. L. L.; CHIBBAR, R. N. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. **British Journal of Nutrition**. 108 (S1):11-26, 2012.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Amsterdã, Holanda. 3.ed. Academic press. v.89. 2012. 649p.



MNALKU, A.; MITIKU, G. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to indigenous rhizobial isolates inoculation on vertisol of Central Ethiopian Highland. **Ethiopian Journal of Agricultural Sciences**.29(2), 109-117, 2019.

MONDAL, M; BISWAS, J. K.; TSANG, Y. F.; SARKAR, B.; SARKAR, D.; RAI, M.; HOODA, P. S. A wastewater bacterium *Bacillus* sp. KUJM2 acts as an agent for remediation of potentially toxic elements and promoter of plant (*Lens culinaris*) growth. **Chemosphere**. 232:439-452, 2019.

MUKHERJEE, A.; SINGH, B.; VERMA, J. P. Aproveitamento de endófitos de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) para melhorar os atributos de crescimento das plantas e bio-controle contra *Fusarium* sp. **Microbiological Research**. 126469, 2020.

NASCIMENTO, W. M.; ARTIAGA, O.; BOITEUX, L.; SUINAGA, F.; REIS, A.; PINHEIRO, J.; SPEHAR, C. **BRS Aleppo: grão-de-bico. Maior tolerância a fungos de solo**. Brasília; Anápolis: Embrapa Hortaliças. Boletim Técnico, 2014.

NASCIMENTO, W. M.; SILVA, P. P.; ARTIAGA, O. P.; SUINAGA, F. A. **Grão-de-bico. Hortaliças Leguminosas**. Brasília, DF. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 89-118p. 2016.

PEGORARO, R. F.; ALMEIDA NETA, M. N.; COSTA, C. A.; SAMPAIO, R. A; FERNANDES, L. A; RODRIGUES, M. N. Chickpea production and soil chemical attributes after phosphorus and molybdenum fertilization. **Ciência e Agrotecnologia**.42(5):474-483, 2018.

QURESHI, M. A.; SHAKIR, M. A.; NAVEED, M.; AHMAD, M. J. Growth and yield response of chickpea to co-inoculation with *Mesorhizobium ciceri* and *Bacillus megaterium*. **The Journal of Animal & Plant Sciences**. 19(4): 205-211, 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. 2013. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 15 Mai 2020.

ROMANYA, J.; CASALS, P. Biological nitrogen fixation response to soil fertility is species-dependent in annual legumes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. 1-11, 2019.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ...CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SIVARAMAIAH, N.; MALIK, D. K.; SINDHU, S. S. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum*) by coinoculation of *Bacillus* strains with *Mesorhizobium* sp.Cicer. **Indian journal of microbiology**. 47(1):51-56, 2007.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. Quantificando o crescimento de rizobia. In: **Manual para rizobia**. Springer. Nova Iorque, NY.1994, 47-57 p.

TAIZ, L.E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A.**Fisiologia e desenvolvimento vegetal**.6.ed. Porto Alegre. Artmed Editora, 2017. 858p.

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.

YADAV, J.; VERMA, J. P. Effect of seed inoculation with indigenous *Rhizobium* and plant growth promoting rhizobacteria on nutrients uptake and yields of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **European journal of soil biology**.63:70-77, 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.

#### **4.3 Artigo 3 – A inoculação com *Bacillus* sp em conjunto com a adubação nitrogenada aumentam o crescimento e a absorção de macronutrientes no grão-de-bico**

Este artigo foi elaborado conforme normas da revista Journal of Plant Nutrition.

## **A inoculação com *Bacillus* sp em conjunto com a adubação nitrogenada aumentam o crescimento e a absorção de macronutrientes no grão-de-bico**

### **Inoculation with *Bacillus* sp in conjunction with nitrogen fertilization increases the growth and absorption of macronutrients in the chickpeas**

#### **RESUMO**

A aplicação de rizobactérias como o *Bacillus* sp. em conjunto com adubação nitrogenada equilibrada favorecem a aquisição de nutrientes e o crescimento de leguminosas cultivadas. No entanto, essas informações são consideradas escassas para o grão-de-bico. O objetivo do trabalho foi avaliar a inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N no crescimento e acúmulo de nutrientes em grão-de-bico. O estudo foi conduzido no delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 6. O primeiro fator presença ou ausência de mix de *Bacillus* spp. (concentração de  $1 \times 10^7$  UFC por mL) de isolados radiculares. E seis doses de N: 0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup>, aplicadas trinta dias após a emergência (DAE) das plantas. Foram avaliadas as características de massa seca, nodulação e acúmulo de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e sódio do grão-de-bico aos 75 DAE. A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. aumentou a nodulação com rizóbios em raízes e a absorção de potássio, cálcio e sódio. O mix de *Bacillus* spp. contribuiu para o crescimento vegetativo com aumento da massa seca de folhas, ramos, raiz e total. As doses de N proporcionaram aumento na massa seca total e parte aérea. Mas reduziu o acúmulo de sódio nas plantas e aumentou a absorção de nitrogênio. A ordem decrescente de acúmulo de nutrientes aos 75 DAE na parte aérea do grão-de-bico foi a seguinte: nitrogênio (109,71 kg ha<sup>-1</sup>) > potássio (68,94 kg ha<sup>-1</sup>) > cálcio (25,28 kg ha<sup>-1</sup>) > magnésio (10,17 kg ha<sup>-1</sup>) > fósforo (4,98 kg ha<sup>-1</sup>) > sódio (2,23 kg ha<sup>-1</sup>). A dose de 37 kg ha<sup>-1</sup> de N é indicada para cultivos no grão-de-bico para obtenção de maior biomassa da parte aérea. A inoculação de sementes com mix de *Bacillus* spp. é indicada em cultivos de grão-de-bico em região tropicais brasileiras.

**Palavras-chave:** *Cicer arietinum* L., doses de N, bactérias promotoras de crescimento, acúmulo de nutrientes.

#### **ABSTRACT**

The application of rhizobacteria such as *Bacillus* sp. together with balanced nitrogen fertilization, they favor the acquisition of nutrients and the growth of cultivated legumes. However, this information is considered scarce for chickpeas. The objective of the work was to evaluate inoculation with a mix of *Bacillus* spp. and doses of N in the growth and accumulation of nutrients in chickpeas. The study was conducted in a randomized block design, with four replications, in a 2 x 6 factorial scheme. The first factor was the presence or absence of a mix of *Bacillus* spp. (concentration of  $1 \times 10^7$  CFU per mL) of root isolates. And six doses of N: 0, 25, 50, 75, 100 and 125 kg ha<sup>-1</sup>, applied thirty days after the emergence (DAE) of the plants. The characteristics of dry mass, nodulation and accumulation of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium and sodium of chickpeas were evaluated at 75 DAE. Inoculation with the mix of *Bacillus* spp. increased nodulation with rhizobia in roots and the absorption of potassium, calcium and sodium. The mix of *Bacillus* spp. contributed to the vegetative growth with increased dry mass of leaves, branches, root and total. The doses of N provided an increase in the total dry mass and aerial part. But it reduced the accumulation of sodium in the plants and increased the

absorption of nitrogen. The decreasing order of nutrient accumulation at 75 DAE in the aerial part of the chickpeas was as follows: nitrogen ( $109.71 \text{ kg ha}^{-1}$ )> potassium ( $68.94 \text{ kg ha}^{-1}$ )> calcium ( $25.28 \text{ kg ha}^{-1}$ )> magnesium ( $10.17 \text{ kg ha}^{-1}$ )> phosphorus ( $4.98 \text{ kg ha}^{-1}$ )> sodium ( $2.23 \text{ kg ha}^{-1}$ ). The dose of  $37 \text{ kg ha}^{-1}$  of N is indicated for crops in chickpeas to obtain greater biomass from the aerial part. Seed inoculation with a mix of *Bacillus* spp. it is indicated in chickpea crops in tropical Brazilian regions.

**Keywords:** *Cicer arietinum* L., N doses, growth-promoting bacteria, nutrient accumulation.

## INTRODUÇÃO

O grão-de-bico é uma leguminosa de importância mundial, principalmente para alimentação humana devido a sua característica nutricional. Possui alto teor de proteína e aminoácidos essenciais (Laranjo, Alexandre e Oliveira, 2014). A produção corresponde a 17,19 milhões toneladas (FAOSTAT, 2020). O cultivo do grão-de-bico, assim como feijão e soja, é de ciclo curto (aproximadamente 100 dias após a emergência). É uma leguminosa com baixo custo de produção e capacidade de formar simbiose com bactérias fixadoras de N atmosférico (Nascimento et al., 2016) e associação com bactérias promotoras de crescimento (Hashem, Tabassum e Abd-alla, 2019; Verma et al., 2020).

O manejo cultural do grão-de-bico no Brasil ainda não é consolidado. Isso porque há desconhecimento de condições adequadas de práticas de adubação e da demanda nutricional da cultura, entre outros. Nesse contexto, a definição da demanda nitrogenada e da necessidade de inoculação com rizobactérias são imprescindíveis para o aumento da produção dessa leguminosa em condições tropicais brasileira de cultivo.

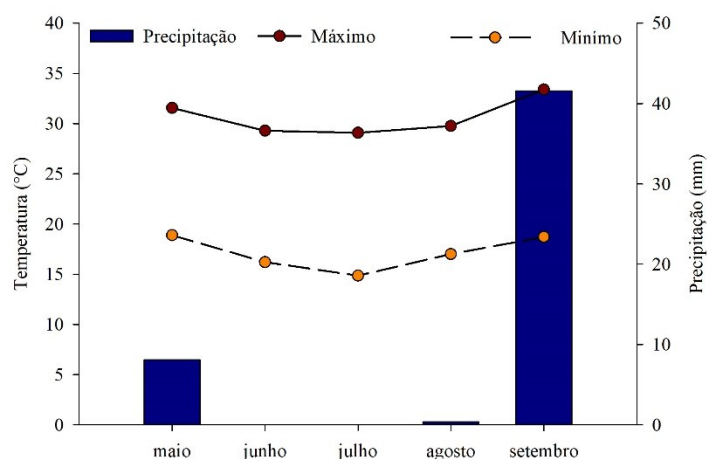
O aumento da adubação nitrogenada ( $125 \text{ kg ha}^{-1}$ ) no cultivo de grão-de-bico não proporcionou maiores rendimentos de grãos em áreas com alto teor de matéria orgânica do solo (MOS) (Almeida Neta et al., 2020). Por outro lado, Demirbas et al. (2018) verificaram maior produção de massa seca do grão-de-bico com  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrogênio (N), na Turquia. Joshi et al. (2019) obtiveram maior rendimento  $2.698 \text{ kg ha}^{-1}$  de grãos com a adição de  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  de N em conjunto com inoculação de *Pseudomonas jeneri* e *Rhodococcus qingshengii*. Verma et al. (2013) verificaram aumento no rendimento de grãos ( $2.660 \text{ kg ha}^{-1}$ ) no grão-de-bico com a co-inoculação de *Mesorhizobium* sp. BHURC03 e *Bacillus megaterium* BHUPSB14. O que indica que a inoculação de sementes de grão-de-bico nos cultivos da Índia reduz o uso de fertilizantes químicos.

O uso de rizobactérias promotoras de crescimento se destacam como opção de biofertilizantes (Sharma et al., 2019; Saxena et al., 2019; Verma et al., 2020). Dentre elas, o gênero *Bacillus* sp. possui capacidade de solubilização de fosfato natural (Singh et al., 2018; Saxena et al., 2019), produção de IAA e uréides (Balbinot, Rodrigues e Botelho, 2020). São relacionadas no aumento da nodulação de leguminosas quando associados com rizóbios (Elkoca, Kantar e Sahin, 2008; Qureshi et al., 2009), maior crescimento de raízes e absorção de N, fósforo (P), potássio (K) e enxofre (S) (Abd-allah et al., 2017; Singh et al., 2018; Hashem, Tabassum e Abd-alla, 2019; Mukherjee, Singh e Verma, 2020; Verma et al., 2020). Esses fatores consequentemente favorecem o crescimento e rendimento de plantas (Yadav e Verma, 2014; Verma et al., 2020).

É importante estudos que visem a associação de rizobactérias com adubação nitrogenada em regiões tropicais brasileiras irrigadas que proporcione desenvolvimento e acúmulo de nutrientes no grão-de-bico. O objetivo neste estudo foi avaliar a inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N em grão-de-bico irrigado.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi elaborado em área anteriormente cultivada com grão-de-bico, no período de maio a início de setembro de 2019. Localizado nas coordenadas 16°41'01.86" S e 43°50'20.11"O. O clima da região é classificado como Aw com inverno seco e verão chuvoso (Alvares et al., 2013). As condições climáticas durante o período de condução do estudo estão apresentadas na Figura 1.



**Figura 1.** Temperatura máxima e mínima e precipitação durante o cultivo do grão-de-bico no ano de 2019, conforme informações do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (INMET, 2020).

### Caracterização das áreas de cultivo e modelo experimental

O solo da área foi classificado como Cambissolo Háplico de textura média (Santos et al., 2018). Vinte dias antes da implantação da cultura foram coletadas amostras de solo na camada de 0-20 cm de profundidade para caracterização química: Matéria orgânica: 3,60 dag kg<sup>-1</sup>; N-NO<sub>3</sub>: 93,0 mg kg<sup>-1</sup>; N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 79,0 mg kg<sup>-1</sup>; N total: 2,58 g kg<sup>-1</sup>; pH (H<sub>2</sub>O): 5,8; P (Mehlich 1): 2,09 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich 1): 81,0 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 8,60 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,80 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al (KCl): 0,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al: 3,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 10,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; t: 10,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; saturação de base: 77 %; T: 13,70 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 6. O primeiro fator foi representado pela presença ou ausência da inoculação com mix de *Bacillus* spp. em concentração de 1 x 10<sup>7</sup> UFC por mL. E o segundo fator consistiu das doses 0, 25, 50, 75, 100 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia (45% de N), 30 dias após a emergência (DAE).

O preparo do solo foi realizado com uma aração e uma gradagem, 15 dias antes da semeadura. A cultivar de grão-de-bico utilizada foi BRS Aleppo, com grãos do tipo kabuli, de crescimento semi-ereto com adaptabilidade na região semiárida mineira (Nascimento et al., 2014). A semeadura foi no sulco de plantio com duas sementes a cada 0,10 m. Após a emergência foi realizado desbaste para obter dez plantas por metro, espaçadas 0,50 m entre fileiras, com total estimado de 200.000 plantas por hectare. As parcelas constituíram por 4 m<sup>2</sup>, com quatro linhas de 2,0 m.

### **Obtenção dos isolados de bactérias nativas de raízes de grão-de-bico**

Os isolados bacterianos foram obtidos de nódulos radiculares de grão-de-bico cultivados em manejo orgânico (esterco bovino curtido e solo com alto teor de MOS na proporção de 1:1). As plantas foram conduzidas em vasos de dez litros, irrigadas diariamente. No florescimento pleno, coletaram-se as plantas para retirada dos nódulos. As raízes foram lavadas e os nódulos destacados e lavados com água destilada autoclavada e depois permaneceram por 25 segundos em álcool etílico 95% e por 1 min em NaClO a 3%. Foram então lavados repetidamente cinco vezes com água destilada. Depois da limpeza os nódulos foram esmagados e a suspensão foi diluída seis vezes ( $10^{-6}$ ) em água salina. As suspensões foram inoculadas em meio de cultura YMA (Fred e Waksman, 1928) com 10 g L<sup>-1</sup> de manitol, 0,5 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,2 g L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,1 g L<sup>-1</sup> de NaCl, 0,5 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 15 g L<sup>-1</sup> de ágar e adição de 5 ml L<sup>-1</sup> de azul de bromotimol e pH corrigido para 6,8. Os isolados foram incubados a 28°C por 48 h para a contagem de colônias e que foram isoladas e mantidas em meio líquido TY (Somasegaran e Hoben, 1994). Após 24 h de incubação foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e coloração de Gram de cada colônia selecionada e identificada.

Foram selecionadas bactérias para análise proteômica, as cepas de bactérias foram processadas usando pontuações de identificação superiores a 2,0 quando analisadas por espectrometria de massa de tempo de dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS), para isso foi utilizado o software MALDI-Biotyper v2.0 (Farfour et al., 2012). Foram identificadas as espécies *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* descritas no estudo como mix de *Bacillus* spp. Para a inoculação, foi utilizado 1 mL do meio líquido TY com  $1 \times 10^7$  UFC ml<sup>-1</sup> para 100 g de sementes de grão-de-bico, 1 h antes do plantio.

### **Manejo cultural**

A adubação de base foi realizada cinco dias antes da semeadura, com aplicação de 110 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio) no sulco de plantio, em ambas as áreas. A adubação de cobertura com ureia foi realizada próximo a linha de semeadura (aproximadamente 5 cm de distância das plantas), aos 30 DAE. Após a aplicação da ureia foi realizada irrigação para a incorporação do N. Aos 30 e 50 DAE foi aplicado via foliar os micronutrientes B, Mo, Cu, Fe e Zn, na proporção 0,2% de ácido bórico (0,34 g L<sup>-1</sup> de B), 0,2% de molibdato de sódio (0,3 g L<sup>-1</sup> Mo), 0,2% de sulfato de cobre (0,26 g L<sup>-1</sup> de Cu), 0,2% de sulfato ferroso (0,38 g L<sup>-1</sup> de Fe) e 0,2% de sulfato de zinco (0,40 g L<sup>-1</sup> de B), respectivamente (Nascimento et al., 2016).

Os tratamentos fitossanitários e irrigação foram realizados de acordo com a necessidade da cultura e recomendações técnicas para a cultura na região (Nascimento et al., 2016). O sistema de irrigação utilizado foi por microaspersão, com turno de rega de quatro dias. Quando necessário foi realizado o controle manual de plantas daninhas com o uso de enxada.

### **Características avaliadas**

Aos 75 DAE foram coletadas de cada parcela dez plantas saudáveis para análise de massa seca ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), número de nódulos. As plantas foram separadas em: folhas, ramos e raiz. Foram levadas a estufa de circulação forçada a  $65^\circ\text{C}$  por 72 horas até atingirem massa constante. Depois de secos os foram pesadas em balança analítica e expressos em massa seca ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de folhas, ramos, raiz, total e parte aérea. As raízes foram lavadas em água corrente com auxílio de peneira, depois contou-se o número de nódulos e posteriormente estes foram separados e secos.

Para determinação do acúmulo de nutrientes ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), as amostras foram trituradas em moinho tipo wiley com peneira de malha de 02 mm. Que foram homogeneizadas e obtidas amostras para determinação dos teores de N, P, K cálcio (Ca) e magnésio (Mg). O N foi determinado, segundo o método de Kjeldahl (Bremner, 1965). O P, K, Ca e Mg, determinados por digestão nítrico-perclórica (Tedesco et al., 1995), conforme Alcarde (2009).

O acúmulo de cada nutriente para os respectivos componentes das plantas foram quantificado por meio da expressão matemática descrita abaixo:

$$\text{Acúmulo: } MS \times T/100$$

Onde:

Acúmulo: Acúmulo de nutrientes no compartimento das plantas ( $\text{kg ha}^{-1}$ );

MS: matéria seca no compartimento das plantas (kg);

T: teor no nutriente no compartimento das plantas (%).

### **Análises estatísticas**

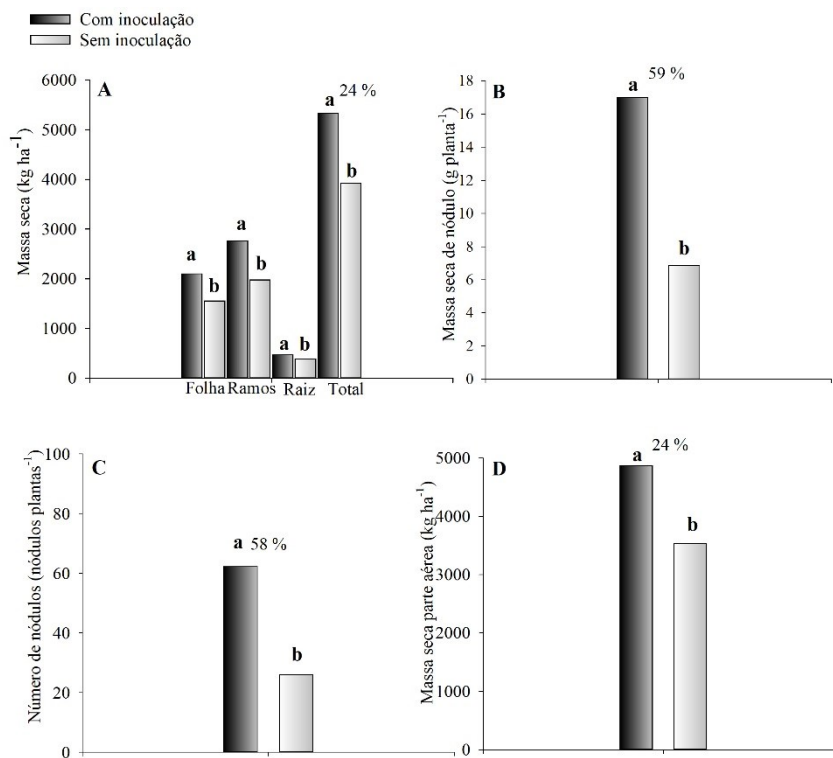
Os dados foram submetidos à análise de variância. Em seguida, de acordo com a significância ( $p \leq 0,05$ ). Para o fator qualitativo foi utilizado o teste t. E para o fator quantitativo foi realizado ajustes com modelos de regressão, selecionados com base na significância dos coeficientes de regressão e no potencial para explicar o fenômeno biológico. A análise estatística foi realizada com o software estatístico R. (R CORE TEAM., 2019), com o pacote *ExpDes.pt* (Ferreira, Calvalcanti e Nogueira, 2013). Comparou-se também o tratamento sem aplicação de N com doses de N, com contraste ortogonal, no software estatístico Sisvar 5.3 (Ferreira, 2011).



## RESULTADOS

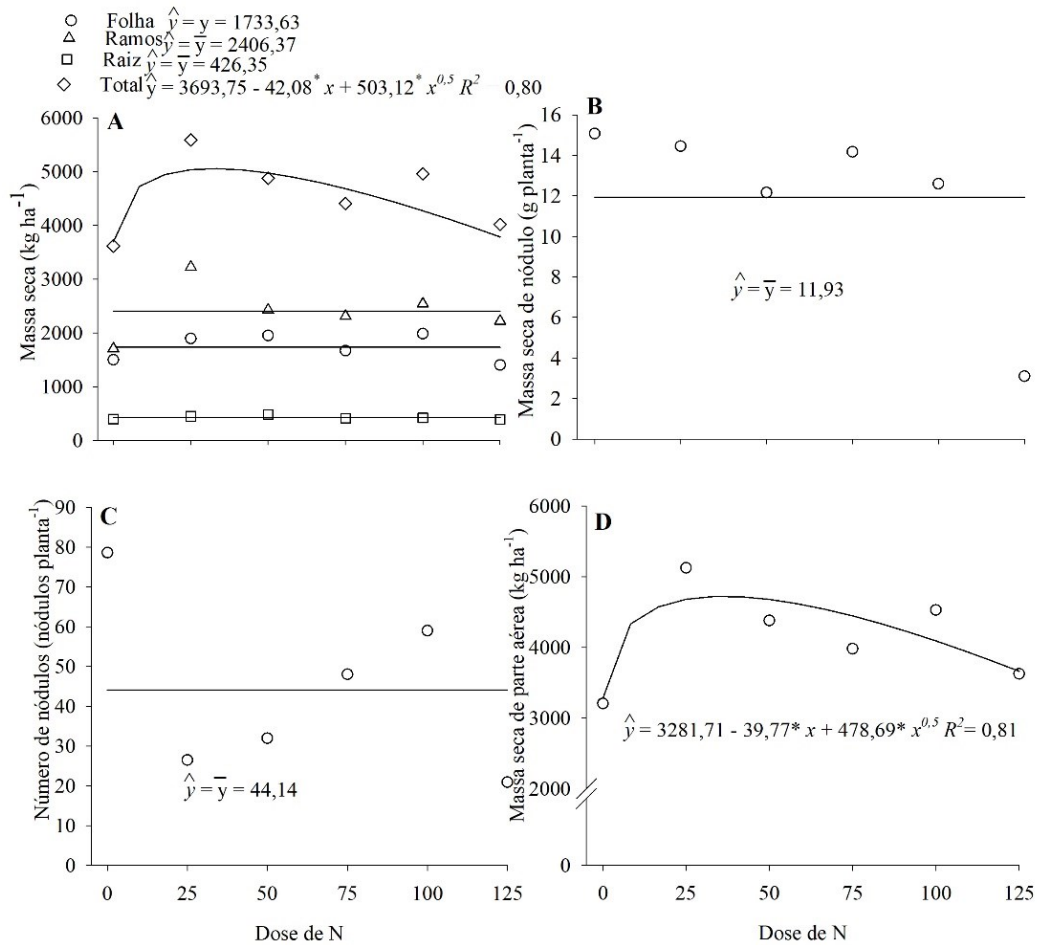
Não houve interação entre a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N ( $p \geq 0,05$ ) para as características de massas da parte aérea seca, número e massa seca de nódulos (Figura 2 e 3). Efeito isolado da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. foi observado nas características de crescimento massa seca de folha, ramos, raiz e total, número e massa seca de nódulos e parte aérea seca (Figura 2. A, B, C e D). Já para as doses de N aplicadas houve efeito com o incremento para as características massa seca total e parte aérea (Figura 3. A e D).

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. promoveu aumento de 26% na massa seca de folhas, 28% de ramos, 17% de raízes, 24% da parte aérea e na matéria seca total das plantas (Figura 2. A e D). A inoculação também promoveu o incremento de 59 e 58% na massa seca e número de nódulos nas raízes (Figura 2. B e C).



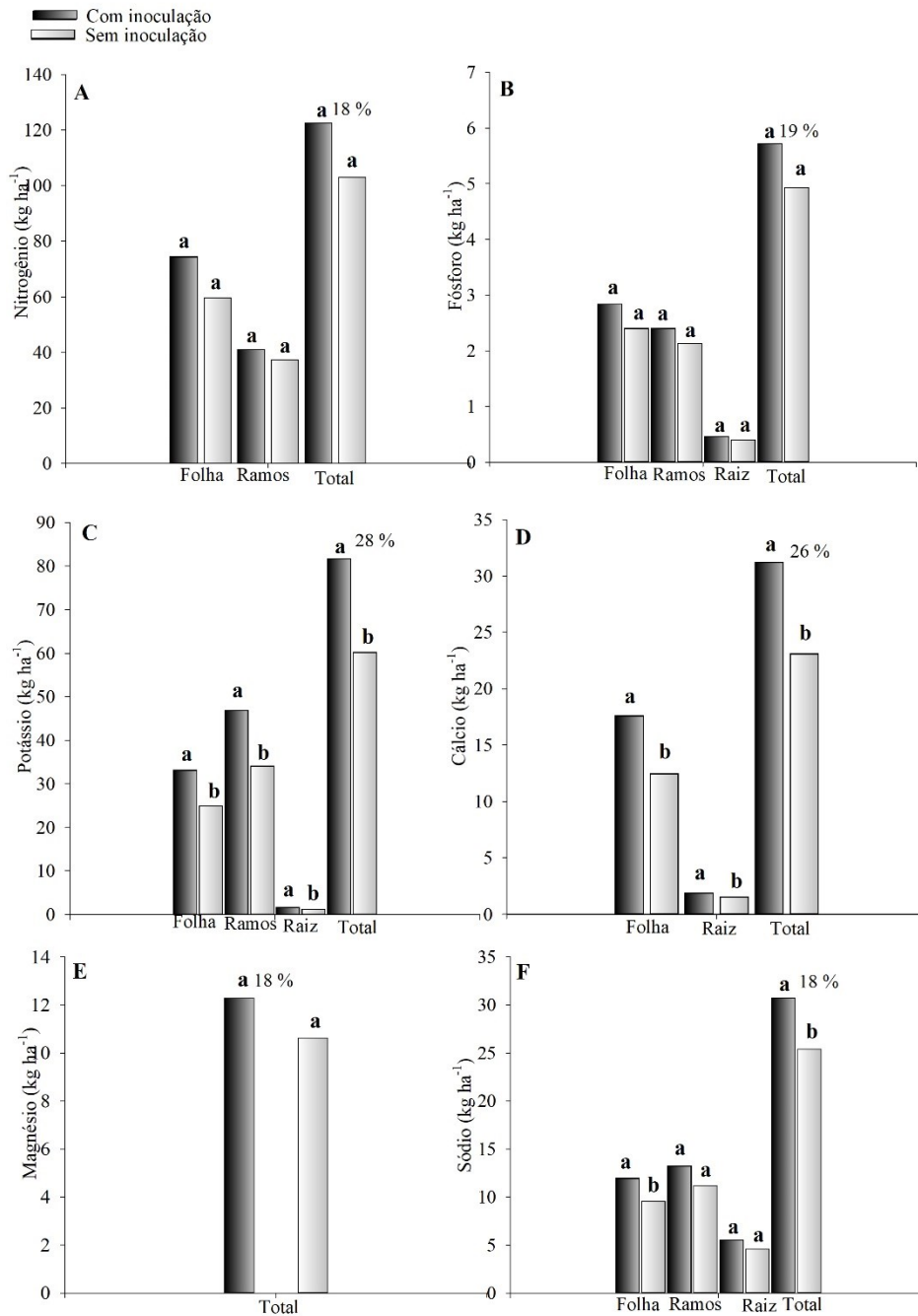
**Figura 2.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. na massa seca de folha, ramos, raiz e total (A), massa seca de nódulo (B), número de nódulos (C) e massa seca da parte aérea (D) do grão-de-bico cultivar Aleppo. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula não difere pelo teste t a 5% de probabilidade.

As doses de N não aumentaram as características de massa seca de folhas, ramos, raiz e massa seca de nódulos (Figura 3. A e B) e número de nódulos (Figura 3. C). Houve incremento máximo de massa seca total e parte aérea com a adição de 35 e 37 kg ha<sup>-1</sup> de N.



**Figura 3.** Efeito das doses de N na massa seca de folha, ramos, raiz e total (A), massa seca de nódulo (B), número de nódulos (C) e massa seca da parte aérea (D) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

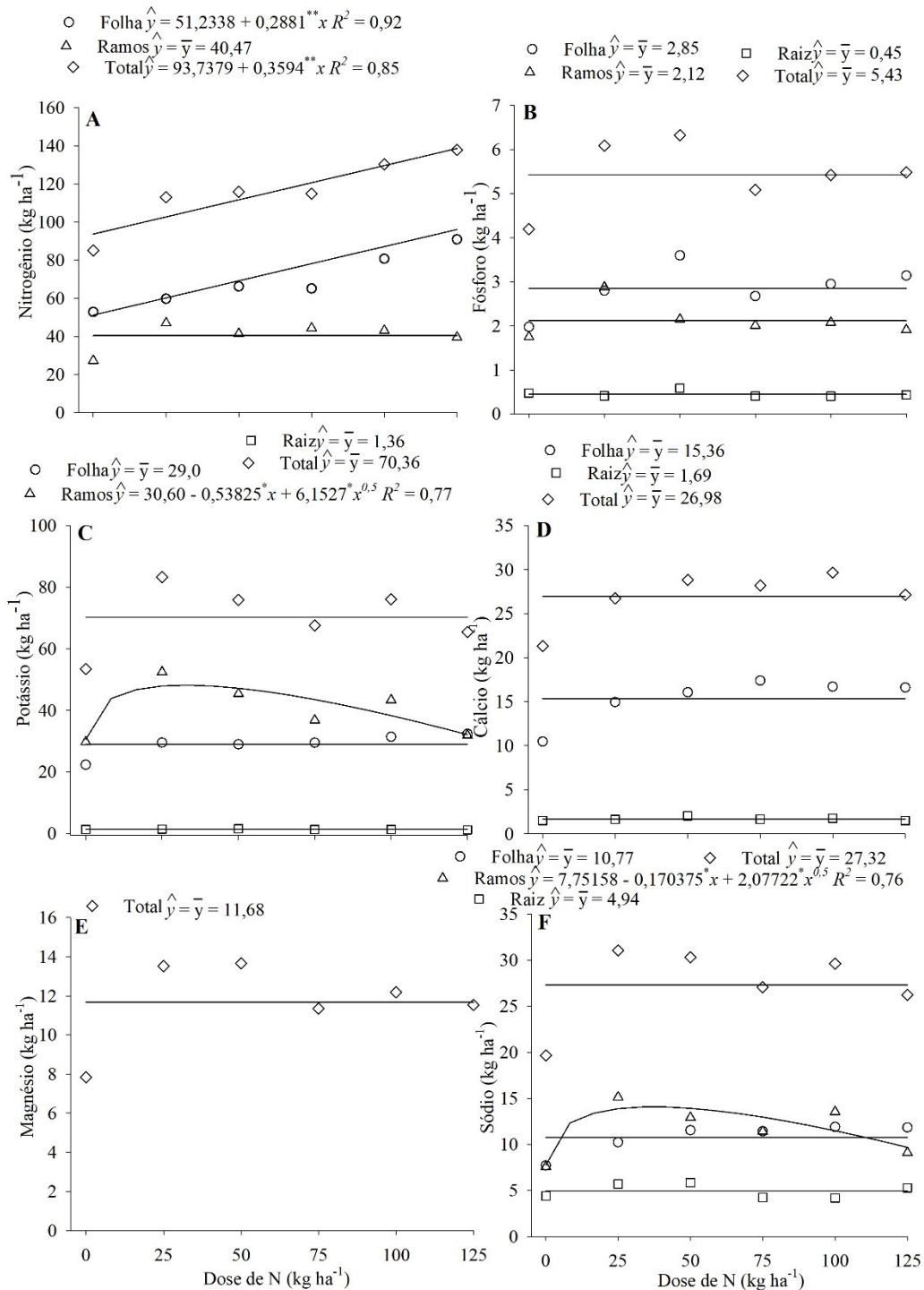
A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não interferiu no acúmulo de N e P nos componentes folhas, ramos, raiz e total e Mg total ( $p > 0,05$ ) (Figura 4. A, B e E). Mas houve aumento no acúmulo de K e Ca no grão-de-bico quando inoculados com o mix de *Bacillus* spp. (Figura 4. C e D). Para K nas folhas, ramos, raízes e total o incremento correspondeu a 25, 27, 27 e 26%, respectivamente, quando inoculados (Figura 4. C). Para Ca os incrementos corresponderam a 29, 22, 19 e 26%, para os componentes folhas, ramos, raízes e total, respectivamente (Figura 4. D). A presença do *Bacillus* spp. favoreceu maior acúmulo de Na, nas folhas (20%) e total (16%). Mas não foi verificado efeito para os componentes ramos e raiz (Figura 6. F).



**Figura 4.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. no acúmulo de N (A), de P (B), de K (C), de Ca (D), de Mg (E) e de Na (F) nos componentes folhas, ramos, raiz e total do grão-de-bico cultivar Aleppo. \*Médias seguidas pela mesma letra minúscula não difere pelo teste t a 5 % de probabilidade.

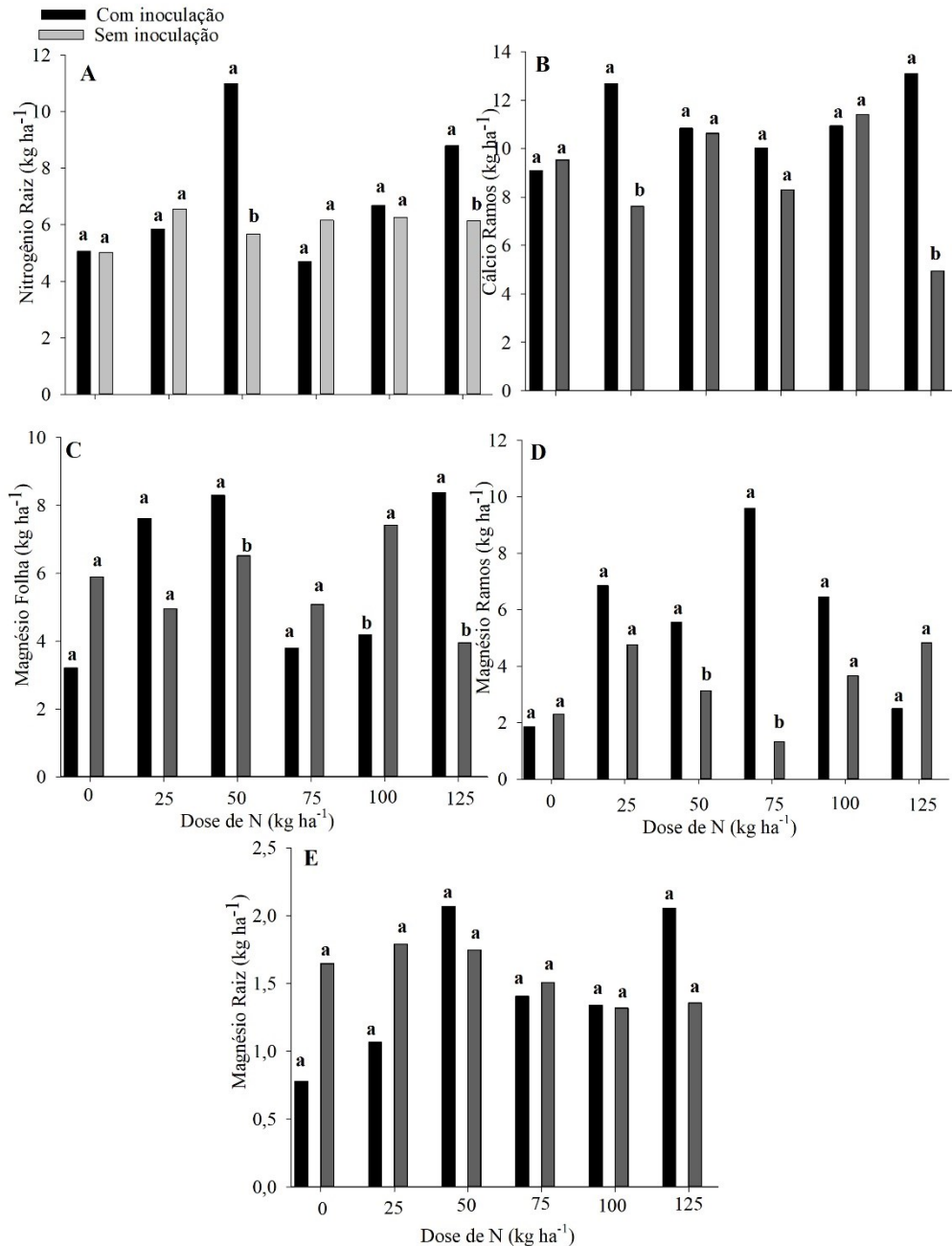
As doses de N elevaram o acúmulo de N nas folhas (85,27 kg ha<sup>-1</sup>) e total (138 kg ha<sup>-1</sup>) na dose de 125 kg ha<sup>-1</sup> de N (Figura 5. A). Mas não houve efeito das doses de N para o acúmulo de N nos ramos (Figura 5. A). Houve interação da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N para o acúmulo de N na raiz (Figura 6. A). O acúmulo de N para as doses de 50 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N, foi maior quando em associação com a inoculação do mix de *Bacillus* spp. (Figura 6. A). Mas não foi verificado efeito da

presença ou ausência da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. com o incremento das doses no acúmulo de N nas raízes (Figura 7. A).



**Figura 5.** Efeito das doses de N no acúmulo de N (A), de P (B), de K (C), de Ca (D), de Mg (E) e de Na (F) nos componentes folhas, ramos, raiz e total do grão-de-bico cultivar Aleppo.

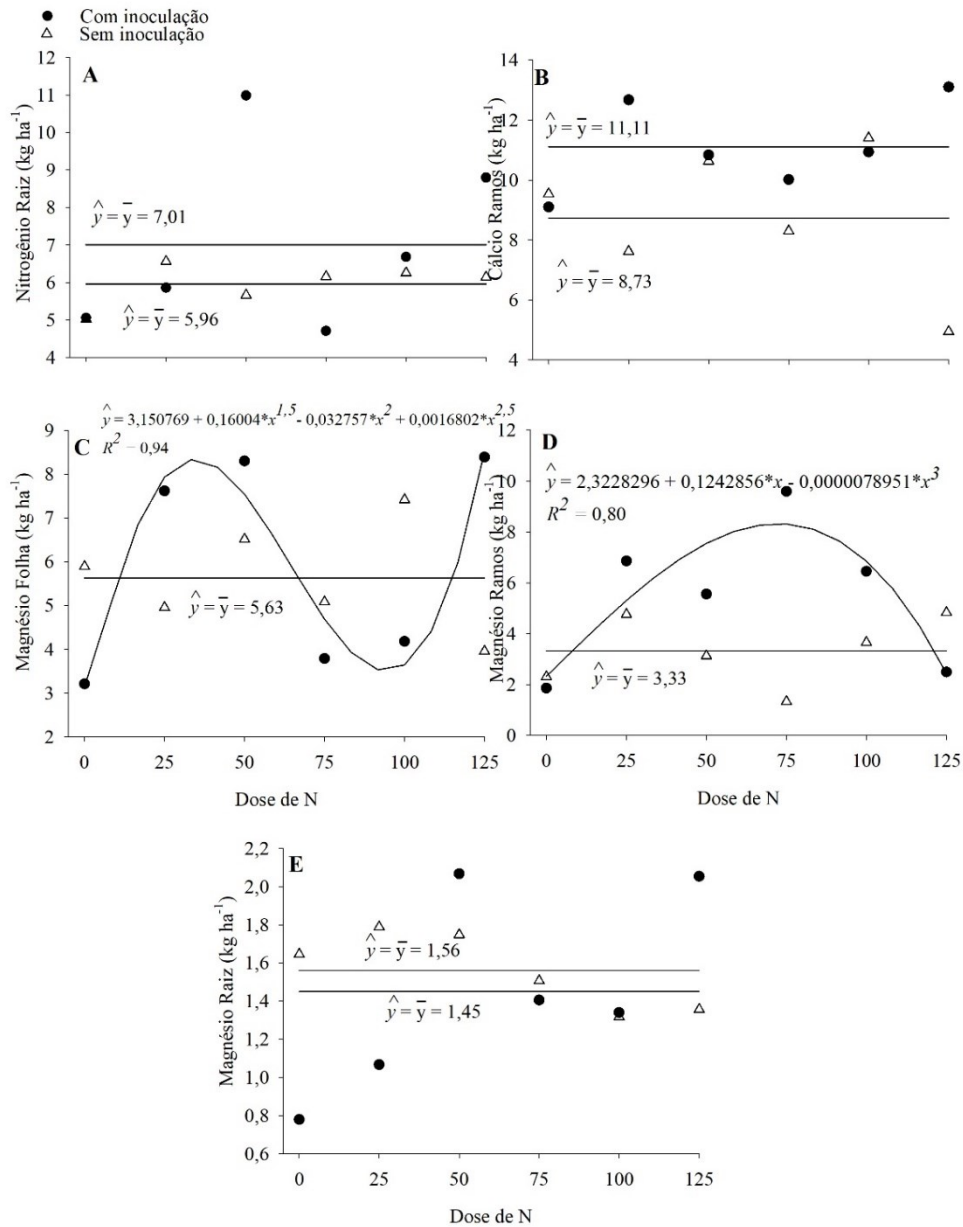
As doses de N não influenciaram ( $p>0,05$ ) o acúmulo de P, K, Ca (Figura 5. B, C, D e E) exceto para o K nos ramos ( $p<0,05$ ) (Figura 5. C). Nos ramos, maior acúmulo de K foi verificado nas menores doses de N, com decréscimo em doses acima de 75 kg ha<sup>-1</sup>. Foi verificado redução do Na nos ramos com o aumento das doses de N (Figura 5. F). Mas não foi observado influência das doses de N nos acúmulos de Na nos componentes folhas, raiz e total (Figura 5. F).



**Figura 6.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N no acúmulo de N pelas raízes (A), acúmulo de Ca nos ramos (B), acúmulo de Mg nas folhas (C), ramos (D) e raiz (E) de grão-de-bico cultivar Aleppo.

Houve interação entre a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N ( $p < 0,05$ ) para os acúmulos de Ca nos ramos (Figura 6. B; Figura 7. B) e acúmulo de Mg nos componentes folhas, ramos e raiz (Figura 6. C, D e E; Figura 7. C, D e E). A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. promoveu maior acúmulo de Ca nas doses de 50 e 125 kg ha<sup>-1</sup>, não houve efeito da inoculação nas demais doses de N (Figura 6. B). Corroborando com os acúmulos de Mg nas folhas (Figura 6. C). O acúmulo de Mg nos ramos foram incrementados nas doses de 50 e 75 kg ha<sup>-1</sup> de N na presença do *Bacillus* spp. (Figura 6. D). Mas não houve efeito da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. nas doses de N ( $p > 0,05$ ) para os acúmulos de Mg nas raízes (Figura 6. E).

A presença ou ausência da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. nas doses de N não aumentaram o acúmulo de Ca nos ramos com o incremento das doses de N (Figura 7. B). Por outro lado, houve efeito ( $p < 0,05$ ) na presença do mix de *Bacillus* spp. nos acúmulos de Mg nos componentes folhas e ramos nas doses de 50 e 125 kg ha<sup>-1</sup> de N, para as folhas (Figura 7. C) e 75 kg ha<sup>-1</sup> de N, para os ramos (Figura 7. D). Mas não foi verificado ( $p > 0,05$ ) aumento do acúmulo de Mg no componente raiz com aumento das doses de N (Figura 7. E).



**Figura 7.** Efeito das doses de N com e sem inoculação com mix de *Bacillus* spp. no acúmulo de N nas raízes (A), acúmulo de Ca nos ramos (B), acúmulo de Mg nas folhas (C), ramos (D) e raiz (E) de grão-de-bico cultivar Aleppo.

O fornecimento da adubação nitrogenada aumentou a massa seca total e os acúmulos totais de N, P, K, Ca, Mg e Na (Tabela 1). Mas não houve aumento do número de nódulos com a adição de adubação nitrogenada. Maior disponibilidade de N na solução do solo favoreceu a absorção dos macronutrientes.

**Tabela 1.** Efeito da adubação nitrogenada na massa seca total (MST), número de nódulos (NN), acúmulo de N total (ANT), P total (APT), K total (AKT), Ca total (ACaT), Mg total (AMgT) e Na total (ANaT) do grão-de-bico cultivar Aleppo.

Características	Sem N	Doses de N	p-valor
MST (kg ha <sup>-1</sup> )	3.618,72	4.770,21 *	0,01
NN (nº planta <sup>-1</sup> )	78,58	37,25 <sup>ns</sup>	0,09
ANT (kg ha <sup>-1</sup> )	85,17	122,41 **	0,005
APT (kg ha <sup>-1</sup> )	4,19	5,68 *	0,01
AKT (kg ha <sup>-1</sup> )	53,46	73,67 *	0,02
ACaT (kg ha <sup>-1</sup> )	21,31	28,17 *	0,016
AMgT (kg ha <sup>-1</sup> )	7,83	12,44 *	0,006
ANaT (kg ha <sup>-1</sup> )	1,96	2,88 **	0,007

Médias seguidas por <sup>ns</sup>, não são significativas e médias seguidas por \*, \*\*, são significativas a 5 e 1%, por contraste ortogonal (comparação entre tratamentos sem adubação nitrogenada-doze zero, com tratamentos que receberam doses de N).

## DISCUSSÃO

O efeito benéfico da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. no crescimento da planta e maior nodulação de raízes (Figura 2), pode ser atribuído, provavelmente, a produção de fitormônios, reguladores de crescimento que exercem influência nos processos fisiológicos e morfológicos das plantas. Promovem o alongamento de raízes, crescimento do caule e folhas e divisão celular (Vejan et al., 2016; Dogra et al., 2019). Verma et al. (2020) verificaram maior número (19 nódulos por planta) e massa seca (6,13 g por planta) de nódulos quando realizaram a inoculação combinada de *Rhizobium* + bactérias promotoras de crescimento + fungo arbuscular. Esse resultado suporta a eficiência conjunta desses microrganismos no desenvolvimento de raízes, maior transpiração e maior absorção de nutrientes. Saxena et al. (2019), em revisão bibliográfica, destacaram a capacidade de fixar nitrogênio por *Bacillus* sp. com gene positivo nifH encontrado em rizosfera de diferentes culturas.

Não houve aumento de massa seca das folhas, ramos e raiz com o incremento de doses de N (Figura 3). Possivelmente, a quantidade de N potencialmente mineralizável (93 mg kg<sup>-1</sup>) presente no solo foi suficiente para garantir o crescimento do grão-de-bico. Diferente do que foi verificado por Demirbas et al. (2018) na Turquia, obtiveram maior massa seca (15,9 g por planta) de grão-de-bico quando realizaram adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N associado a inoculação com *Rhizobium* spp. Por outro lado, houve maior produção de massa seca total e parte aérea em baixas doses de N (36 kg ha<sup>-1</sup>). Esse resultado, indica que baixas doses de N são responsivas na maior produção e desenvolvimento de folhas, ramos, raiz e conseqüentemente maiores massa seca total e da parte aérea (Figura 3). Já, Almeida Neta et al. (2020) observaram maior rendimento de grãos (1.970 kg ha<sup>-1</sup>) na maior dose de N (125 kg ha<sup>-1</sup>) em solos com menor teor de MOS. Mas os autores não verificaram maiores rendimentos com o acréscimo de N em solos com maior teor de MOS. Esta diferença na resposta do grão-de-bico



quanto a sua nutrição é relacionada com a fertilidade do solo, histórico da área e características adaptativas da planta (Romanya e Casals, 2019).

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. apesar de contribuir para a produção de massa seca, não alterou os acúmulos de N, P e Mg total (Figura 4). Possivelmente, a não influência da inoculação com *Bacillus* spp. foi influenciado por bactérias nativas presentes no solo. Pois esse solo possui teor de MOS alto ( $3,60 \text{ dag kg}^{-1}$ ) e histórico com cultivos subsequentes com grão-de-bico e gramíneas, o que também é destacado por Macil, Ogola e Odhiambo (2020).

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. não foi significativa nos acúmulos totais de N, P e Mg (Figura 4). Saxena et al. (2019) evidenciam em revisão a ação de *Bacillus* sp. no aumento da fixação biológica de N (FBN) (Ji, Gururani e Chun, 2014) e solubilização de P com maior produção de ácidos orgânicos (ácido glucônico e ácido cítrico) em ampla faixa de pH (Mehta et al., 2013).

Maiores acúmulos de K e Ca na presença do mix de *Bacillus* spp. (Figura 4) sugerem maior absorção desses nutrientes pelas raízes em resposta a solubilização dos nutrientes do solo pelo *Bacillus* spp. Além da promoção de crescimento pela produção de fitormônios (Balbinot, Rodrigues e Botelho, 2020). Como é confirmado por Mukherjee, Singh e Verma (2020), com inoculação de *Bacillus subtilis* BHUJPCS em grão-de-bico. Os autores verificaram a solubilização de P, K e  $\text{NH}_4^+$ , além de produção significativa de IAA. Contudo, para o acúmulo de Na foi observado maior valor na presença da inoculação (Figura 4). Esses resultados inferem que o *Bacillus* spp. possui capacidade de absorver e acumular mais Na, sem interferir no desenvolvimento do grão-de-bico. A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. pode ser usada nos cultivos de grão-de-bico pois aumenta a nodulação, crescimento e absorção de nutrientes.

As doses de N não aumentaram o acúmulo de P, K e Ca, exceto o acúmulo de K nos ramos (Figura 5). Demirbas et al. (2018) por outro lado, observaram que o aumento de doses de N ( $120 \text{ kg ha}^{-1}$ ) propiciaram maiores absorção de N, P, K e Ca, mas não observaram efeito para a absorção de Mg. Essa diferença sugere que a planta de grão-de-bico possui adaptabilidade a diferentes tipos de solo, manejo e fertilidade, pois possui distintas respostas de acúmulos com aumento de doses nitrogenadas.

Houve interação entre a inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N nos acúmulos de N na raiz, Ca nos ramos e de Mg nas folhas, ramos e raízes (Figura 6 e 7). Com maior absorção de N pelas raízes na dose de 50 e  $125 \text{ kg ha}^{-1}$  na presença da inoculação (Figura 6). Esses resultados estão de acordo com Verma et al. (2020) que observaram máxima absorção de N pelo grão-de-bico em níveis altos de fertilidade, que indicam nutrição de N adequada. Almeida Neta et al. (2020) verificaram maiores teores foliares no aumento das doses de N em solos com alto quanto com baixos teores de MOS.

A inoculação com o mix de *Bacillus* sp. e as doses de 25 e  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N aumentaram os acúmulos de Ca nos ramos e de Mg nas folhas e ramos (Figura 6). Masood, Zhao e Shen (2020) estudaram a aplicação de *Bacillus pumilus* em tomate verificaram maior efeito no crescimento e FBN quando houve inoculação de sementes com *B. pumilus* com adubação nitrogenada ( $150 \text{ mg N kg}^{-1}$  de solo). O que sugere a presença de N no solo para maior ação do *Bacillus* spp. em grão-de-bico, mesmo que em baixas doses de N.

As doses de 50 e 75 kg ha<sup>-1</sup> de N na presença da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. aumentou os acúmulos de Mg nas folhas e ramos (Figura 7). Demirbas et al. (2019) não observaram aumentos significativos da concentração de Mg em plantas de grão-de-bico com incremento de doses de N até 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Mas os autores obtiveram aumento da concentração de N, P, K e Ca com aumento das doses de N. Não foi observado diferença nas absorções de N nas raízes, Ca nos ramos e Mg nas raízes com aumento das doses de N independente da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. (Figura 7).

A absorção dos macronutrientes na planta de grão-de-bico em ordem decrescente foi de N (109,71 kg ha<sup>-1</sup>)>K (68,94 kg ha<sup>-1</sup>)>Ca (25,28 kg ha<sup>-1</sup>)>Mg (10,17 kg ha<sup>-1</sup>)>P (4,98 kg ha<sup>-1</sup>)>Na (2,23 kg ha<sup>-1</sup>) aos 75 DAE. Infere-se que quantidades expressivas desses nutrientes podem ser fornecidas ao solo no final do cultivo, apesar do referente trabalho não ter verificado os acúmulos nos grãos. A ordem de acúmulo segue níveis requeridos pela maioria das plantas (Taiz et al., 2017). Demirbas et al. (2018) já observaram maior concentração de K>N>Ca>P>Mg em plantas de grão-de-bico.

A adubação nitrogenada aumentou a massa seca total e a absorção dos macronutrientes no solo (Tabela 1). Esse resultado corrobora com Demirbas et al. (2018) que também verificaram esse aumento de produção de massa seca total.

Neste estudo, não houve aumento na nodulação de raízes com a presença do fertilizante nitrogenado, que pode ser justificado por baixa nodulação de leguminosas com aumento de N na solução do solo. Soares et al. (2016) verificaram que menores doses de N proporcionam maior produção de raiz e maior nodulação em feijoeiro comum. A presença de nitrato no solo inibe a interação entre as raízes e bactérias do solo, pois a associação possui gasto energético da planta e essa passa a absorver o N disponível na solução do solo (Marschner, 2012).

O uso do N em cultivos de grão-de-bico deve ser realizado, porém com doses de 37 kg ha<sup>-1</sup> de N que favorece o ganho de biomassa da parte aérea e maior absorção de nutrientes. Altas doses de N (125 kg ha<sup>-1</sup>) não resultaram em maior crescimento e acúmulos de macronutrientes no grão-de-bico.

## CONCLUSÕES

A inoculação com o mix de *Bacillus* spp. aumenta a biomassa seca total, número de nódulos, o acúmulo de K e Ca, mas não influencia nos acúmulos de N, P, Mg e Na.

A dose 36 kg ha<sup>-1</sup> de N aumenta a massa seca total e da parte aérea de grão-de-bico aos 75 DAE. Maiores doses de N favorecem o acúmulo de N nos componentes da parte aérea do grão-de-bico, mas reduzem o acúmulo de K nos ramos e de Mg nas folhas e ramos.

## REFERÊNCIAS

ABD\_ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; HASHEM, A.; RADHAKRISHNAN, R.; AL-HUQAIL, A. A.; AL-OTIBI, F. O. N.; EGAMBERDIEVA, D. Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. **Journal of Plant Interactions**. 13(1): 37-44, 2018.

ABDIEV, A.; KHAITOV, B.; TODERICH, K.; PARK, K. W. Growth, nutrient uptake and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) enhance by *Rhizobium* and *Azotobacter* inoculations in saline soil. **Journal of Plant Nutrition**. 42(20): 2703-2714, 2019.

ALCARDE, J. C. Manual de análise de fertilizantes. **Piracicaba: Fealq**. v. 1. 2009, 259p.

ALMEIDA NETA, M. N.; PEGORARO, R. F.; SAMPAIO, R. A.; COSTA, C. A. D.; FERNANDES, L. A.; FERREIRA, J. M. Does inoculation with *Rhizobium tropici* and nitrogen fertilization increase chickpea production? **Ciência e Agrotecnologia**. 44(24):1-13, 2020.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G.A. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**.22(6):711-728, 2013.

BALBINOT, W. G.; RODRIGUES, S.; BOTELHO, G. R. Isolates of *Bacillus* sp. from garlic: effect on corn development and plant growth-promoting mechanisms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 44:e0200043, 2020.

BREMNER, J. M. Total nitrogen In: BLACK, C. A (ed). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy.1149-1178p. 1965.

DEMIRBAS, A.; DURUKAN, H.; KARAKOY, T.; PAMIRALAN, H.; GOK, M.; COSKAN, A. Yield and nutrient uptake improvement of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by dressing fertilization and nitrogen doses. In **"Agriculture for Life. Life for Agriculture" Conference Proceedings**. 1(1):51-57, 2018.

DOGRA, N.; YADAV, R.; KAUR, M.; ADHIKARY, A.; KUMAR, S.; RAMAKRISHNA, W. Nutrient enhancement of chickpea grown with plant growth promoting bacteria in local soil of Bathinda, Northwestern India. **Physiology and Molecular Biology of Plants**. 25(5):1251-1259, 2019.

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, 2007.

FARFOUR, E.; LETO, J.; BARRITAUULT, M.; BARBERIS, C.; MEYER, J.; DAUPHIN, B. Evaluation of the andromas matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of aerobically growing gram-positive bacilli. **Journal Clinical Microbiology**. 50(8):2702–2707, 2012

FERREIRA, D. F. SISVAR 5.3 - **Sistema de análise de variância**. Lavras: UFLA, 2011.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. E. ExpDes.pt: Experimental Designs package. **R package** (Português). version 1.1.2. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO.FAOSTAT. **Food and agriculture data**.2020.Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>.Acesso em: 24 Jul. 2020.

FRED, F. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratoiy manual of general microbiology**. New York. McGraw-Hill Book Company. 145p, 1928.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Dados meteorológicos de estações automáticas**. Disponível em:< <http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 20 jun 2020.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD\_ALLAH, E. F.*Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi journal of biological sciences**. 26 (6): 1291-1297, 2019.

JI, S. H.; GURURANI, M. A.; CHUN, S. C. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. **Microbiological Research**.169: 83-98, 2014.

JOSHI, D.; CHANDRA, R.; SUYAL, D. C.; KUMAR, S. Impacts of bioinoculants *Pseudomonas jesenii* MP1 and *Rhodococcus qingshengii* S10107 on chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield and soil nitrogen status. **Pedosphere**. 29(3):388-399, 2019.

LARANJO, M.; ALEXANDRE, A.; OLIVEIRA, S. Legume growth-promoting rhizobia: an overview on the *Mesorhizobium* genus. **Microbiological research**.169 (1):2-17, 2014.

MACIL, P. J.; OGOLA, J. B.; ODHIAMBO, J. J. Response of soil ph and nodulation of three chickpea genotypes to biochar and rhizobium inoculation. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. 1-11: 2020.

MARSCHNER. P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Amsterdã. Holanda.3.ed. Academic press. v.89. 2012. 649p.

MASOOD, S.; ZHAO, X. Q.; SHEN, R. F. *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. **Scientia Horticulturae**.272: 109581, 2020.

MEHTA, P.; WALIA, A.; CHAUHAN, A.; KULSHRESTHA, S.; SHIRKOT, C. K. Phosphate solubilisation and plant growth promoting potential by stress tolerant *Bacillus* sp. isolated from rhizosphere of apple orchards in trans Himalayan region of Himachal Pradesh. **Annals of applied biology**. 163(3): 430-443. 2013.

MUKHERJEE, A.; SINGH, B.; VERMA, J. P. Aproveitamento de endófitos de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) para melhorar os atributos de crescimento das plantas e bio-controle contra *Fusarium* sp. **Microbiological Research**. 126469, 2020.

NASCIMENTO, W. M.; ARTIAGA, O.; BOITEUX, L.; SUINAGA, F.; REIS, A.; PINHEIRO, J.; SPEHAR, C. **BRSAleppo: grão-de-bico. Maior tolerância a fungos de solo**. Brasília, Anápolis: Embrapa Hortaliças. Boletim Técnico, 2014.

NASCIMENTO, W. M.; SILVA, P. P.; ARTIAGA, O. P.; SUINAGA, F. A. **Grão-de-bico. Hortaliças Leguminosas**. Brasília, DF. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 89-118p, 2016.

QURESHI, M. A.; SHAKIR, M. A.; NAVEED, M.; AHMAD, M. J. Growth and yield response of chickpea to co-inoculation with *Mesorhizobium ciceri* and *Bacillus megaterium*. **The Journal of Animal & Plant Sciences**. 19(4): 205-211, 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Austria. 2013. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 15 maio 2020.

ROMANYA, J; CASALS, P. Biological nitrogen fixation response to soil fertility is species-dependent in annual legumes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. 1-11: 2019.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R; ...CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SAXENA, A. K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H.; ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D. J. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal of Applied Microbiology**. 128: 1583-1594, 2020

SHARMA, V.; SHARMA, S.; SHARMA, S.; KUMAR, V. Synergistic effect of bio-inoculants on yield, nodulation and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L) under rainfed conditions. **Journal of Plant Nutrition**. 42(4):374-383, 2019.

SINGH, R.; SINGH, D.; PRATAP, T.; SINGH, A. K.; SINGH, H.; DUBEY, S. Effect of different levels of phosphorus, sulphur and biofertilizers inoculation on nutrient content and uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **International Journal Chemical Studies** 6: 2574-2579, 2018.

SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; RUFINI, M.; MARTINS, F. A. D.; OLIVEIRA, D. P.; REIS, R. P.; MOREIRA, F. M. D. S. Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with rhizobia and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 40: 40:e0150235, 2016.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. Quantificando o crescimento de rizobia. In: **Manual para rizobia**. Springer. Nova Iorque, NY. 1994p, 47-57.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 174p, 1995.

VEJAN, A. B. P.; DULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHA, Q.; BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. **Molecules**.21:573, 2016.

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.

VERMA, G.; YADAV, D. D.; KUMAR, A.; SINGH, R.; BABU, S.; AVASTHE, R. K.; SHARMA, V. K. Impacto dos níveis de fertilidade e biofertilizantes na arquitetura da raiz, rendimento e absorção de nutrientes da cultura do grão de bico (*Cicer arietinum* L.). **International Journal Currentily Microbioly Aplicativ Sciences**. 9 (2): 2018-2024, 2020.

TAIZ, L.E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**.6.ed. Porto Alegre. Artmed Editora.2017, 858p.

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.

YADAV, J.; VERMA, J. P. Effect of seed inoculation with indigenous *Rhizobium* and plant growth promoting rhizobacteria on nutrients uptake and yields of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **European journal of soil biology**. 63:70-77, 2014.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos três estudos indicam a necessidade de implementação da inoculação de sementes de grão-de-bico com rizobactérias, pois proporcionam maior absorção de nutrientes, maior crescimento e maior rendimento de grãos, que são importantes para obtenção de uma agricultura sustentável.

As doses de N condicionaram efeitos diferentes conforme teor de MOS e tempo de cultivo das áreas. Em menor teor de MOS as doses de N obtiveram respostas de aumento na produtividade a partir de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, mas esse efeito não foi observado em área com maior tempo de cultivo com espécies agrícolas. O maior teor de MOS foi suficiente para garantir o crescimento e rendimento de grãos. Já em área com menor tempo de cultivo com espécies agrícolas a dose de 25 kg ha<sup>-1</sup> de N obteve maior produtividade.

De modo geral, a resposta de manejo com doses nitrogenadas no grão-de-bico além de variar conforme MOS e histórico de cultivo da área, também é influenciado pela rusticidade da planta de grão-de-bico em produzir grãos.

Contudo, o uso de mix de *Bacillus* spp. e *Rhizobium tropici* aumentam crescimento e produtividade do grão-de-bico mas maior ou menor efeito depende da área e manejo realizado no cultivo do grão-de-bico. Baixas doses de N (37 kg ha<sup>-1</sup>) são suficientes para obtenção de maior produtividade.



## ANEXOS

## ARTIGO 1

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância após inoculação com *Rhizobium tropici* e doses de N para as características clorofila total (CLO), altura de plantas (ALT), massa de 100 grãos (M100), massa de grãos por planta (MGP), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT) de grão-de-bico em solo com baixo teor de MOS.

FV	GL	QM						
		CLO	ALT	M100	MGP	NV1	NV2	NVT
Bloco	3	123,80	820,7	179,47	53,08	8696,00	3783,70	21550,00
<i>Rhizobium</i> (R)	1	0,32 <sup>ns</sup>	3,05 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	114,76*	85149,00*	2106,80*	111265,00 <sup>ns</sup>
Dose N (N)	5	61,90*	93,71 <sup>ns</sup>	31,16*	32,36 <sup>ns</sup>	2491,00 <sup>ns</sup>	1184,70 <sup>ns</sup>	31273,00 <sup>ns</sup>
R x N	5	12,09 <sup>ns</sup>	62,92 <sup>ns</sup>	13,10 <sup>ns</sup>	17,33 <sup>ns</sup>	18656,00 <sup>ns</sup>	391,90 <sup>ns</sup>	27057,00 <sup>ns</sup>
Resíduo	3	18,34	42,68	8,28	10,43	9635,00	402,60	16831,00
CV (%)	-	9,60	9,90	9,95	39,94	35,60	74,08	32,91

<sup>ns,\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância após inoculação com *R. tropici* e doses de N para as características massa seca de folhas (MSF), ramos (MSR), vagens (MSV) e total (MST), produtividade (PROD), índice de colheita (IC) e eficiência agrônômica (ER) de grão-de-bico em área com baixo teor de MOS.

FV	GL.	QM						
		MSF	MSR	MSV	MST	PROD	IC	ER
Bloco	3	655,30	2690,20	240,51	7937,00	2,12	5,23	187,72
<i>Rhizobium</i>	1	3780,80*	20438,10*	1272,46*	62784,00*	4,60*	0,92 <sup>ns</sup>	485,84*
Dose N	5	403,80 <sup>ns</sup>	3983,90 <sup>ns</sup>	357,87 <sup>ns</sup>	9535,00 <sup>ns</sup>	1,29*	1,85*	477,67*
Riz* Dose	5	127,70 <sup>ns</sup>	2090,80 <sup>ns</sup>	43,45 <sup>ns</sup>	2577,00 <sup>ns</sup>	0,69 <sup>ns</sup>	1,61 <sup>ns</sup>	63,89 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	232,90	3546,2	220,59	6000,00	0,42	0,99	38,90
CV. (%)	-	24,68	30,47	39,91	25,03	39,92	37,58	44,92

<sup>ns,\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância após inoculação com *R. tropici* e doses de N para os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e Na de grão-de-bico em área com baixo teor de MOS.

FV	GL.	N	P	K	Ca	Mg	Na
Bloco	3	1,52	0,90	1,64	3,54	1,61	0,01
<i>Rhizobium</i>	1	550,53*	4,61*	24,99 <sup>ns</sup>	5,41 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	0,03*
Dose N	5	224,34*	3,50*	71,83*	6,01*	4,32*	0,03*
Riz* Dose	5	77,66 <sup>ns</sup>	2,69*	7,39 <sup>ns</sup>	0,64 <sup>ns</sup>	2,99 <sup>ns</sup>	0,02*
Resíduo	33	64,08	0,54	19,13	2,00	3,85	0,01
CV. (%)	-	21,96	17,72	21,01	16,83	56,85	39,33

<sup>ns.\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância após inoculação com *R. tropici* e doses de N para as características clorofila total (CLO), altura de plantas (ALT), massa de 100 grãos (M100), massa de grãos por planta (MGP), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT) de grão-de-bico em área com alto teor de MOS.

FV	GL.	QM						
		CLO	ALT	M100	MGP	NV1	NV2	NVT
Bloco	3	10,51	284,04	10,48	85,94	35307,00	3249,30	89845,00
<i>Rhizobium</i>	1	42,37 <sup>ns</sup>	202,17 <sup>ns</sup>	0,64 <sup>ns</sup>	575,19*	225183,00*	7617,00*	421313,00 <sup>ns</sup>
Dose N	5	66,65*	199,16 <sup>ns</sup>	7,85 <sup>ns</sup>	107,44 <sup>ns</sup>	51388,00 <sup>ns</sup>	1162,90 <sup>ns</sup>	82652,00 <sup>ns</sup>
Riz* Dose	5	43,79 <sup>ns</sup>	331,90 <sup>ns</sup>	2,26 <sup>ns</sup>	144,51 <sup>ns</sup>	56565,00 <sup>ns</sup>	2886,40*	101655,00 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	19,13	144,42	6,66	75,33	34576,00	1093,20	50557,00
CV. (%)	-	9,18	15,07	6,74	39,21	41,97	40,88	37,18

<sup>ns.\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem.

**Tabela 5.** Resumo da análise de variância após inoculação com *R. tropici* e doses de N para as características massa seca de folhas (MSF), ramos (MSR), vagens (MSV) e total (MST), produtividade (PROD), índice de colheita (IC) e eficiência agrônômica (ER) de grão-de-bico em área com alto teor de MOS.

QM								
FV	GL.	MSF	MSR	MSV	MST	PROD	IC	ER
Bloco	3	825,6	12233,6	451,9	55022	0,33	0,41	89845
<i>Rhizobium</i>	1	10145,1*	3183,9 <sup>ns</sup>	5064,3*	219194 <sup>ns</sup>	1,54 <sup>ns</sup>	1,10 <sup>ns</sup>	421313*
Dose N	5	2187 <sup>ns</sup>	13119,4 <sup>ns</sup>	1369,1*	53944 <sup>ns</sup>	0,49 <sup>ns</sup>	0,73 <sup>ns</sup>	82652 <sup>ns</sup>
Riz* Dose	5	1753,2 <sup>ns</sup>	1552,4 <sup>ns</sup>	1226,3 <sup>ns</sup>	34449 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>	0,69 <sup>ns</sup>	101655 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	1123,6	8763,5	492,3	25021	0,38	0,60	50557
CV. (%)	-	26,92	26,45	35,01	20,73	34,35	27,44	37,18

<sup>ns,\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem.

**Tabela 6.** Resumo da análise de variância após inoculação com *R. tropici* e doses de N para os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e Na de grão-de-bico em área com alto teor de MOS.

FV	GL.	N	P	K	Ca	Mg	Na
Bloco	3	39,96	0,08	9,81	5,44	10,71	0,02
<i>Rhizobium</i>	1	216,58*	1,79*	0,32 <sup>ns</sup>	24,89 <sup>ns</sup>	6,17 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
Dose N	5	18,00 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>	7,41 <sup>ns</sup>	5,77 <sup>ns</sup>	8,56*	0,02*
Riz* Dose	5	2,19 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	2,52 <sup>ns</sup>	3,94 <sup>ns</sup>	6,03 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	12,12	0,36	5,05	2,92	5,28	0,01
CV. (%)	-	7,51	17,81	13,79	18,51	57,29	46,48

<sup>ns,\*</sup>: não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente. FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade; C.V.: coeficiente de variação em porcentagem

## ARTIGO 2.

**Tabela 7.** Quadrado médio da análise de variância após inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N nas características de massa seca de folha (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total (MST), massa de 100 grãos (M100), produtividade (PROD), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), altura de plantas (ALT), clorofila total (IC), eficiência agrônômica relativa (EAR) e índice de colheita (IC) do grão-de-bico na área 01.

FV	GL	MSF	MSR	MSG	MST	PROD	M100	NV1	NV2	NVT	ALT	CLO	EAR	IC
Rizobio	1	0,09 <sup>ns</sup>	110,71 <sup>ns</sup>	43,89 <sup>ns</sup>	374,13 <sup>ns</sup>	0,49 <sup>*</sup>	45,20 <sup>ns</sup>	262,73 <sup>ns</sup>	42,37 <sup>**</sup>	516,14 <sup>ns</sup>	212,52 <sup>ns</sup>	179,41 <sup>*</sup>	718,65 <sup>**</sup>	33,73 <sup>ns</sup>
Doses de N	5	9,18 <sup>ns</sup>	116,37 <sup>ns</sup>	15,36 <sup>ns</sup>	387,13 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	2,62 <sup>ns</sup>	429,78 <sup>ns</sup>	2,42 <sup>ns</sup>	448,60 <sup>ns</sup>	49,78 <sup>ns</sup>	133,18 <sup>**</sup>	32,97 <sup>ns</sup>	13,63 <sup>ns</sup>
Riz x Doses	5	7,30 <sup>ns</sup>	52,77 <sup>ns</sup>	19,87 <sup>ns</sup>	188,05 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	19,68 <sup>ns</sup>	152,16 <sup>ns</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	160,13 <sup>ns</sup>	53,45 <sup>ns</sup>	39,62 <sup>ns</sup>	92,80 <sup>ns</sup>	35,69 <sup>ns</sup>
Rep	3	42,62	204,93	393,49	647,43	0,63	143,71	1594,88	34,26	1945,78	1461,90	37,31	11,71	1009,42
Erro	33	8,71	62,17	43,84	288,77	0,09	18,20	233,88	4,72	271,38	62,13	30,04	61,06	42,89
Total	47													
CV (%)		36,64	32,35	37,24	30,49	37,16	12,43	34,69	71,89	34,97	10,29	12,28	713,76	20,98

\*, \*\*, ns Significativo a 5%, 1% e não significativo.

**Tabela 8.** Quadrado médio da análise de variância após inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N nas características de massa seca de folha (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total (MST), produtividade (PROD), massa de 100 grãos (M100), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), altura de plantas (ALT), clorofila total (IC), eficiência agrônômica relativa (EAR) e índice de colheita (IC) do grão-de-bico na área 02.

FV	GL	MSF	MSR	MSG	MST	PROD	M100	NV1	NV2	NVT	ALT	CLO	EAR	IC
Rizobio	1	0,09 <sup>ns</sup>	110,71 <sup>ns</sup>	43,89 <sup>ns</sup>	374,13 <sup>ns</sup>	0,49*	45,20 <sup>ns</sup>	262,73 <sup>ns</sup>	42,37**	516,14 <sup>ns</sup>	212,52 <sup>ns</sup>	179,41*	718,65**	33,73 <sup>ns</sup>
Doses de N	5	9,18 <sup>ns</sup>	116,37 <sup>ns</sup>	15,36 <sup>ns</sup>	387,13 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	2,62 <sup>ns</sup>	429,78 <sup>ns</sup>	2,42 <sup>ns</sup>	448,60 <sup>ns</sup>	49,78 <sup>ns</sup>	133,18**	32,97 <sup>ns</sup>	13,63 <sup>ns</sup>
Riz x Doses	5	7,30 <sup>ns</sup>	52,77 <sup>ns</sup>	19,87 <sup>ns</sup>	188,05 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	19,68 <sup>ns</sup>	152,16 <sup>ns</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	160,13 <sup>ns</sup>	53,45 <sup>ns</sup>	39,62 <sup>ns</sup>	92,80 <sup>ns</sup>	35,69 <sup>ns</sup>
Rep	3	42,62	204,93	393,49	647,43	0,63	143,71	1594,88	34,26	1945,78	1461,90	37,31	11,71	1009,42
Erro	33	8,71	62,17	43,84	288,77	0,09	18,20	233,88	4,72	271,38	62,13	30,04	61,06	42,89
Total	47													
CV (%)		36,64	32,35	37,24	30,49	37,16	12,43	34,69	71,89	34,97	10,29	12,28	713,76	20,98

\*,\*\*,ns Significativo a 5 %, 1 % e não significativo.

**Tabela 9.** Efeito da inoculação com o mix de *Bacillus* spp. e doses de N na massa seca de folha (MSF), ramos (MSR), grãos (MSG) e total (MST), massa de 100 grãos (M100), produtividade (PROD), número de vagens com um grão (NV1), dois grãos (NV2) e total (NVT), altura de plantas (ALT), clorofila total (CLO), eficiência agrônômica (EA) e índice de colheita (IC) do grão-de-bico em duas áreas com tempos de cultivos distinto, comparadas com análise conjunta.

Características	Área 01	Área 02
MSF (g planta <sup>-1</sup> )	5,90 b	8,05 a
MSR (g planta <sup>-1</sup> )	23,60	24,37 <sup>ns</sup>
MSG (g planta <sup>-1</sup> )	18,38	17,78 <sup>ns</sup>
MST (g planta <sup>-1</sup> )	50,53	55,74 <sup>ns</sup>
M100 (g)	32,95	34,32 <sup>ns</sup>
PROD (kg ha <sup>-1</sup> )	3.925	4.083 <sup>ns</sup>
NV1 (Nº planta <sup>-1</sup> )	46,21	44,08 <sup>ns</sup>
NV2 (Nº planta <sup>-1</sup> )	5,53 a	3,02 b
NVT (Nº planta <sup>-1</sup> )	51,75	47,10 <sup>ns</sup>
ALT (cm)	84,22 a	76,60 b
CLO	40,94 b	44,62 a
ER (kg kg <sup>-1</sup> )	5,51 a	1,09 b
IC (%)	36,05 a	31,22 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem por análise conjunta a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>, não significativo a 5% de probabilidade



CV (%)		42,88	26,97	36,14	36,14	38,53	50,58	32,61	34,08	39,24	29,81	28,78	51,71	66,93
FV	GL	AcMgR a	AcMgT	AcNaF	AcNaR	AcNaRa	AcNaT							
Inoculação	1	0,36 <sup>ns</sup>	32,91 <sup>ns</sup>	67,66 <sup>*</sup>	48,74 <sup>ns</sup>	10,99 <sup>ns</sup>	342,6 <sup>*</sup>							
Dose N	5	0,26 <sup>ns</sup>	20,02 <sup>ns</sup>	20,94 <sup>ns</sup>	65,42 <sup>*</sup>	7,61 <sup>ns</sup>	158,1 <sup>ns</sup>							
Inoc x Dose	5	0,52 <sup>ns</sup>	11,04 <sup>ns</sup>	14,14 <sup>ns</sup>	9,43 <sup>ns</sup>	4,14 <sup>ns</sup>	59,95 <sup>ns</sup>							
Bloco	3	0,48	13,51	8,03	21,99	14,42	35,85							
Erro	33	0,36	24,25	14,01	18,99	4,11	67,93							
Total	47													
CV (%)		41,03	43,01	34,76	35,68	39,92	29,37							

\*,\*\*,ns Significativo a 5%, 1% e não significativo.



**Tabela 10.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. e doses de N nos teores médios de N, P, K, Ca, Mg e Na nas folhas, ramos, raízes e total de grão-de-bico.

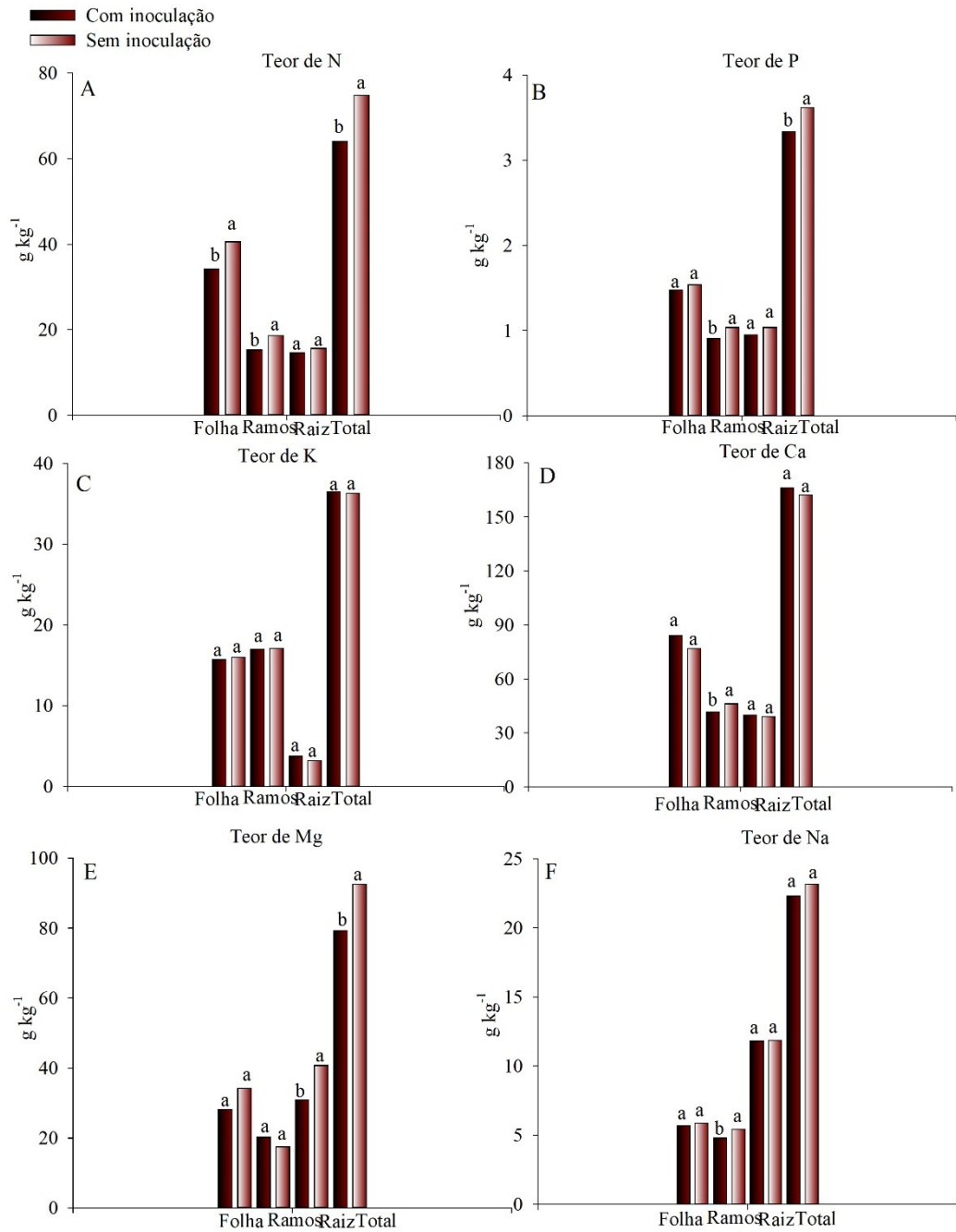
			Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )						
		<i>Bacillus</i> spp.	0	25	50	75	100	125	
N (g kg <sup>-1</sup> )	Folha	Com	33,56	32,61	32,95	30,20	34,53	41,29	
		Sem	31,77	38,91	41,36	45,16	40,99	45,11	
	Ramos	Com	13,02	16,51	12,56	15,31	17,04	17,23	
		Sem	16,02	15,75	18,45	22,00	16,27	23,15	
	Raiz	Com	12,26	12,04	14,79	13,69	15,06	19,82	
		Sem	12,52	16,07	14,71	16,59	15,63	18,31	
	Total	Com	58,85	61,17	60,32	59,14	66,64	78,35	
		Sem	60,32	70,74	74,53	83,77	72,91	86,58	
	P (g kg <sup>-1</sup> )	Folha	Com	1,35	1,47	1,73	1,37	1,41	1,50
			Sem	1,41	1,53	1,40	1,61	1,59	1,66
Ramos		Com	0,89	0,97	0,85	0,99	0,84	0,88	
		Sem	1,13	0,99	1,00	1,06	1,06	0,96	
Raiz		Com	1,21	0,91	0,88	0,81	0,79	1,10	
		Sem	1,12	0,94	1,11	0,94	0,98	1,11	
Total		Com	3,46	3,36	3,47	3,18	3,04	3,48	
		Sem	3,67	3,47	3,51	3,62	3,64	3,74	
K (g kg <sup>-1</sup> )		Folha	Com	15,80	15,95	15,74	15,82	15,57	15,54
			Sem	16,14	15,23	15,90	16,58	16,14	15,98
	Ramos	Com	17,07	17,56	16,51	16,99	16,98	16,82	
		Sem	17,69	17,01	17,15	17,29	17,08	16,52	

	Raiz	Com	6,63	3,26	3,17	3,13	3,02	3,14	
		Sem	3,38	3,13	3,11	3,21	3,17	3,18	
	Total	Com	39,52	36,78	35,43	35,94	35,58	35,51	
		Sem	37,22	35,38	36,16	37,09	36,41	35,69	
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Folha	Com	61,54	82,51	83,58	93,10	92,49	91,92	
		Sem	74,20	77,70	70,49	78,35	78,73	81,35	
	Ramos	Com	40,49	39,08	43,75	39,47	45,58	42,81	
		Sem	55,70	41,28	46,64	48,11	47,12	38,56	
	Raiz	Com	39,09	37,47	45,14	41,85	38,39	38,51	
		Sem	38,42	36,22	38,47	37,31	45,21	39,08	
	Total	Com	141,13	159,07	172,47	174,43	176,47	173,25	
		Sem	168,34	155,21	155,61	163,78	171,06	159,00	
	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Folha	Com	35,11	32,93	42,11	20,63	16,53	21,68
			Sem	45,41	28,62	42,90	27,40	31,92	29,16
Ramos		Com	22,28	14,00	17,82	27,29	21,99	17,91	
		Sem	14,00	22,00	12,29	15,13	16,59	24,79	
Raiz		Com	27,97	22,16	27,42	27,80	33,02	46,85	
		Sem	41,06	43,19	46,91	40,07	32,83	40,38	
Total		Com	85,36	69,10	87,36	75,72	71,55	86,46	
		Sem	100,48	93,83	102,11	82,61	81,35	94,34	
Na (g kg <sup>-1</sup> )		Folha	Com	5,27	5,88	5,35	6,14	5,82	5,64
			Sem	5,52	5,10	5,62	6,52	6,35	6,12
	Ramos	Com	4,12	4,86	4,55	5,24	5,17	4,81	
		Sem	4,55	6,10	5,20	5,37	5,47	5,88	
	Raiz	Com	10,52	14,81	11,50	10,78	9,17	14,15	
		Sem	11,14	13,52	12,89	10,26	11,65	11,68	

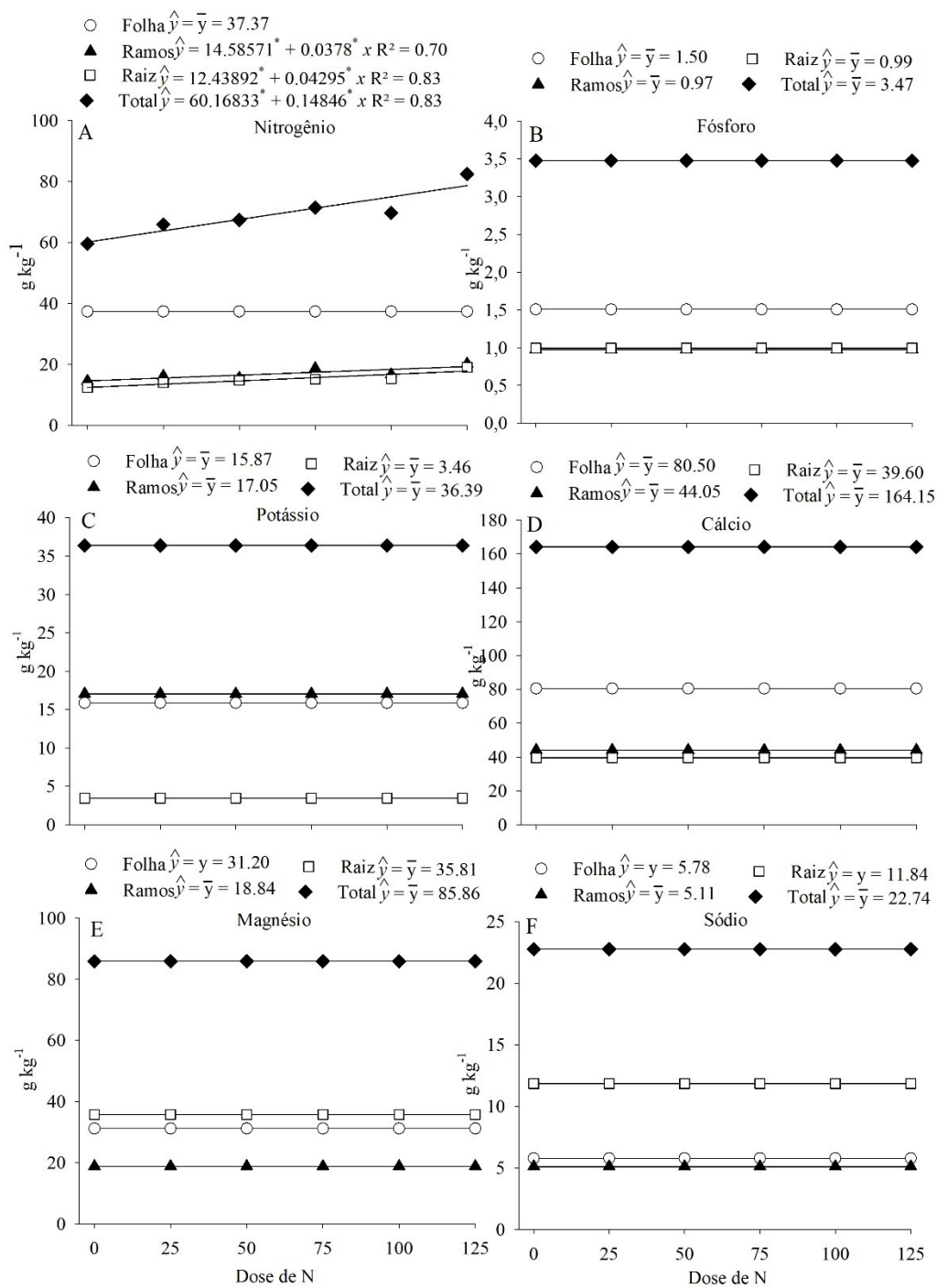
---

Total	Com	19,92	25,55	21,40	22,17	20,17	24,61
	Sem	21,22	24,74	23,72	22,16	23,47	23,69

---



**Figura 1.** Efeito da inoculação com mix de *Bacillus* spp. no teor de N (A), de P (B), de K (C), de Ca (D), de Mg (E) e Na (F) nos componentes folhas, ramos, raiz e total de grão-de-bico cultivar Aleppo. Médias seguidas por letras diferentes em cada componente se difere pelo teste t a 5%.



**Figura 2.** Efeito das doses de N no teor de N (A), de P (B), de K (C), de Ca (D), de Mg (E) e Na (F) nos componentes folhas, ramos, raiz e total de grão-de-bico cultivar Aleppo.