



## APLICAÇÃO DE INOCULANTES DE SOLO COMPOSTADO PARA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE RÚCULA, CENOURA E RABANETE

Application of inoculants of composted soil for growth promoting of Arugula, Carrot, and Radish

William Vinicius de Melo Mira<sup>1</sup>, Elisa Esposito<sup>2</sup>, Carlos Orlando Villarraga<sup>3</sup> e Elen Anatriello<sup>4</sup>

### RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a capacidade da inoculação com consórcio microbiano de promover o crescimento de rúcula, cenoura e rabanete. As sementes das hortaliças foram semeadas diretamente no canteiro e banhadas com inoculante microbiano ou com água destilada (controle). Amostras inoculadas tiveram um aumento no comprimento da raiz e da parte aérea, na largura e no número de folhas e na massa total fresca. Os resultados demonstraram que o uso de inoculantes melhora o crescimento de rúcula, cenoura e rabanete, sendo uma alternativa sustentável na produção de hortaliças.

**Palavras-chave:** Biofertilizante. Agroecologia. Hortaliças. Compostagem.

<sup>1</sup> Departamento de biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena. Estrada Municipal do Campinho, s/n - Pte. Nova, Lorena - SP, 12602-810. E-mail: william.mira@usp.br

<sup>2</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFESP, Campus São José dos Campos, Rua Talim 330, Vila Nair, São José dos Campos, SP, CEP 12231-280. E-mail: eesposito@unifesp.br

<sup>3</sup> Obra Social Célio Lemos, R. Ana Gonçalves da Cunha, 30 - Jardim Jussara, São José dos Campos - SP, 12215-390. E-mail: cvillarraga59@hotmail.com

<sup>4</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia, UNIFESP, Campus São José dos Campos, Rua Talim 330, Vila Nair, São José dos Campos, SP, CEP 12231-280. E-mail: elenanatriello@gmail.com

**Recebido em:** 31/01/2020

**Aceito para publicação em:** 04/08/2020

**Correspondência para:**

william.mira@usp.br

### ABSTRACT

The objective of study was to evaluate the ability of inoculation with a microbial consortium to promote the growth of arugula, carrots, and radishes. The vegetables seeds were sown directly on the bed and bathed with microbial inoculant or with distilled water (control). Inoculated samples showed an increase in root length, shoot length, width and number of leaves and total fresh mass. The results showed that the using of inoculant improves the growth of arugula, carrots, and radishes, being a sustainable alternative in the production of vegetables.

**Keywords:** Biofertilizer. Agroecology. Vegetables. Composting.

O setor agrícola tem significativa importância para a economia do Brasil. Entretanto, o modelo convencional de agricultura, envolvendo o uso massivo de agrotóxicos e fertilizantes solúveis, tem causado a degradação dos solos agrícolas, afetando a qualidade nutricional dos alimentos (GUPTA et al., 2015; MONDAL et al., 2017).

A adubação exacerbada utilizando fertilizantes químicos é a técnica mais difundida na agricultura (SAVCI, 2013). Essa prática apresenta riscos ambientais, uma vez que a introdução de elementos inorgânicos no solo pode alterar sistematicamente o equilíbrio do ecossistema local (PACHECO et al., 2013; PANACHUKI et al., 2011). A lixiviação, as alterações do pH do solo e a liberação de compostos, como amônia e óxido de nitrogênio, além de dificultar a fotossíntese de plantas, são também agentes altamente poluidores de rios e lagos (ALTIERI, et al., 2012). Em adição, a utilização de fertilizantes químicos e de agrotóxicos também é capaz de afetar o ciclo de vida de polinizadores naturais, que pode levar a desequilíbrios ecológicos (ANDERSSON et al., 2014).

O impacto ambiental causado pelo excesso de adubação solúvel no solo leva à necessidade em desenvolver novas alternativas agrícolas mais sustentáveis para minimizar os efeitos de degradação ambiental (PACHECO et al., 2013; VILLA et al., 2020; SAAD et al., 2020). A adubação orgânica com a utilização de esterco de animais ou compostos orgânicos é capaz de conferir a melhora na qualidade física, química e biológica do solo e da cultura (RAJKUMAR et al., 2012). Esse efeito benéfico da adubação orgânica ocorre devido aos processos de degradação e de biodisponibilidade da matéria orgânica pela ação dos microrganismos que ocorrem naturalmente na natureza (ZILLI et al., 2003; RAJKUMAR et al., 2012).

Estudos que buscam introduzir práticas agrícolas dentro de um sistema autorregulado e eficiente como agroflorestas também vêm ganhando espaço dentro do meio científico, por apresentar vantagens no manejo e na manutenção da área de cultivo (LAUDARES et al., 2017; NORRGROVE et al., 2016; ROSENSTOCK et al., 2019; VILLA et al., 2020). A utilização de sistemas de plantio direto de hortaliças também reduz os danos ocasionados pelo uso exacerbado do solo. Estudos mostram que o plantio direto de hortaliça é capaz de aumentar teores de carbono orgânico total no solo, além de formar macro-agregados estáveis de água. Isso contribui para um solo mais úmido e propício para a sobrevivência e estabelecimento dos microrganismos benéficos do solo que contribuem para o desenvolvimento das hortaliças (LOSS et al., 2015).

Outro processo que emprega relações ecológicas comuns na natureza é a utilização de microrganismos associados às raízes das plantas (BACKER et al., 2018; DUMITRESCU et al., 2009; SANTOS et al., 2019). A interação da planta com os microrganismos do solo, além de culminar em uma maior proteção da planta, também potencializa sua absorção de nutrientes do solo (BACKER et al., 2018; SAAD et al., 2020). Esse efeito promove o crescimento da planta contribuindo com o equilíbrio ecológico, pois elimina a necessidade de repetidas aplicações de fertilizantes.

Outros estudos apontam que os microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV), podem ser utilizados como inoculantes, também chamados de biofertilizantes (DUMITRESCU et al., 2009; SANTOS et al., 2019). Eles podem ser isolados do próprio solo, de associação direta presente na rizosfera ou, ainda, podem ser isolados a partir de compostagem, já que esse processo favorece o crescimento e desenvolvimento de microrganismos presentes em resíduos orgânicos (DUMITRESCU et al., 2009; DONG et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2019). Dessa forma, a utilização de inoculantes microbianos pode ser facilmente incorporada nas práticas de produção, por dispersão de substrato ou, ainda, por imersão de mudas e sementes em meio chamado de caldo inoculante, contendo os microrganismos selecionados.

Os MPCV podem agir por meio de mecanismos para promover o crescimento vegetal após colonizar a rizosfera das plantas. Eles podem aumentar a biodisponibilidade de compostos absorvíveis pela planta, estimular o metabolismo vegetal contra fitopatógenos, aumentar a área de absorção das raízes, auxiliando na captação de nutrientes (RAJKUMAR et al., 2012; BAKKER et al., 2013), fixar nitrogênio, produzir enzimas, como ACC desaminase e hormônios de crescimento, como ácido indol-3-acético (AIA) e ácido cianídrico (HCN) (RAJKUMAR et al., 2012; BAKKER et al., 2013). A capacidade de MPCV em acelerar o crescimento vegetal e conferir resistência à planta é viável e pode repercutir

positivamente na saúde do solo, aumentando a biodiversidade e a eficiência dos processos de decomposição e nutrição vegetal (DONG et al., 2019).

Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade da inoculação com consórcio microbiano isolado a partir de solo adubado por compostagem orgânica em promover o crescimento vegetal de rúculas, cenouras e rabanetes.

O isolamento do consórcio microbiano foi feito a partir de dez gramas de solo adubado por compostagem orgânica, escolhido com base na umidade e coloração característica de solo com elevado teor de matéria orgânica em decorrência da decomposição microbiana, retirado de uma amostra da horta da Obra Social Célio Lemos, situada em São José dos Campos-SP. A amostra foi colocada em 500 ml de meio TSB ("Tryptone Soya Broth") para crescimento microbiano por 15 horas sob agitação de 120 rpm e 30 °C. Uma alíquota de 1,0 ml desse meio homogeneizado foi inoculada em tubos de 50 ml contendo meio TSB. Os tubos foram, então, incubados por 15 horas sob agitação de 120 rpm a 30 °C e, após esse período, o crescimento microbiano foi determinado pela medida da densidade óptica a 650 nm (ODELL, 1993).

Para realizar o preparo do MPCV, os tubos contendo o consórcio em meio TSB foram centrifugados a 4.500 rpm por cinco minutos, o sobrenadante descartado e o volume reajustado com água destilada. A mistura foi homogeneizada em um vórtex até a solubilização completa do consórcio microbiano. Após, foi realizada a quantificação de microrganismos pela análise de turbidez (ODELL, 1993), com a utilização da Escala Nefelométrica, correspondendo a um valor de  $12 \times 10^8$  UFC/ml (Unidades Formadoras de Colônias por ml de meio).

O experimento foi realizado na horta de produção orgânica da Obra Social Célio Lemos em São José dos Campos-SP de outubro a dezembro de 2015 (Latitude: 23°11'20.47"S e Longitude: 45°52'18.12"O).

O delineamento experimental utilizado foi em bloco casualizado. Para tal, rúcula, cenoura e rabanete foram semeadas em canteiros contendo solo sem tratamento prévio (sem aplicação de compostagem orgânica ou outros adubos) em sulcos de, aproximadamente, 1,0 cm de profundidade. Os tratamentos foram constituídos da aplicação de 50 ml do MPCV ( $12 \times 10^8$  UFC/ml) ou de 50 ml de água destilada (controle) sobre as sementes por canteiro de  $2 \times 1 \text{ m}^2$ . A rega dos canteiros com água foi feita duas vezes por dia até quatorze dias após a germinação e uma vez por dia até a colheita das plantas. O experimento foi realizado em triplicata, ou seja, foram utilizados 6 canteiros para cada hortaliça (3 canteiros receberam o MPCV e 3 receberam a água destilada).

As rúculas foram colhidas 32 dias após o plantio, as cenouras 40 dias e os rabanetes 45 dias após o plantio. Após a colheita, as amostras foram levadas para o Laboratório de Microbiologia Aplicada e Nutrição de Abelhas da Universidade Federal de São Paulo, onde foram lavadas com água destilada e submetidas às análises comparativas de morfologia.

Vinte plantas do grupo experimental das rúculas e das cenouras (tratadas ou não com MPCV) foram coletadas de forma aleatória. Para analisar se o uso do MPCV melhoraria a produção das hortaliças, foram avaliados os seguintes parâmetros: número de folhas contendo limbo e pecíolo, contadas visualmente; altura da parte aérea, determinada com trena graduada, medindo-se a distância entre o colo e o ápice da planta; tamanho da raiz, determinado também com o auxílio de trena graduada, medindo-se a distância do colo da planta até a extremidade da raiz principal; largura da maior folha, determinado com o auxílio de trena graduada, medindo-se a distância de uma extremidade do limbo à outra, da folha no plano frontal. Além disso, também foi avaliada a massa fresca total, obtida por meio da pesagem em balança digital da raiz, juntamente com a parte aérea das hortaliças. Dez plantas do grupo experimental dos rabanetes também foram coletadas de forma aleatória. E foi analisado o tamanho da raiz, a largura da maior folha dos rabanetes e massa total fresca da mesma maneira descrita para rúculas e cenouras. Adicionalmente, todas as amostras foram fotodocumentadas.

Os resultados foram analisados pelo teste estatístico *T-student* do programa GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, Estados Unidos), e foram considerados valores estatisticamente significantes aqueles com  $p\text{-value} \leq 0,05$ .

Os resultados demonstraram que o uso de MPCV nas rúculas não alterou o tamanho da raiz ( $18,40 \pm 2,78$  cm) quando comparado com o controle ( $16,99 \pm 2,52$  cm). No entanto, houve aumento da altura da parte aérea ( $p < 0,001$ ) e da largura da folha (Teste t,  $p < 0,0001$ ), como mostra a figura 1. Houve, ainda, aumento do número de folhas das rúculas inoculadas ( $p < 0,005$ ).

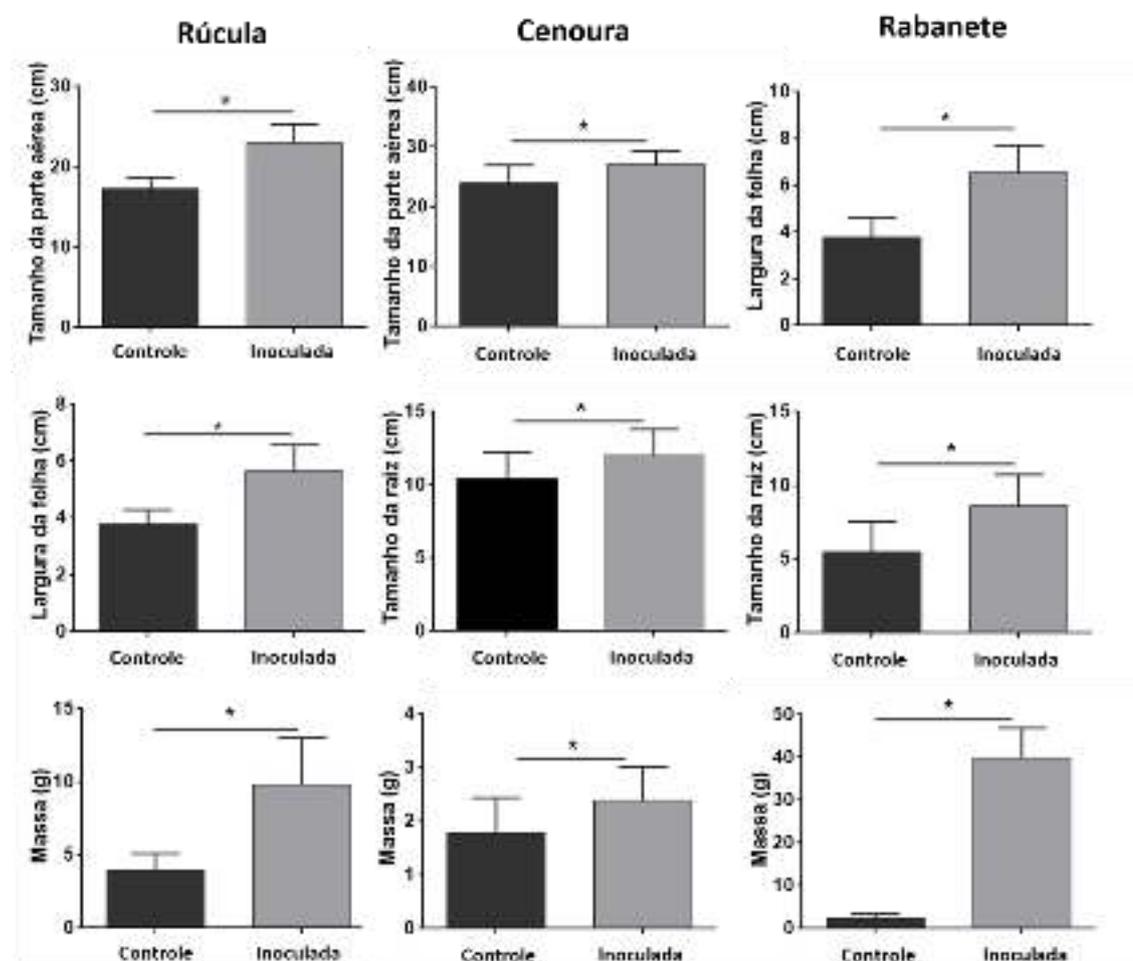


Figura 1: Efeito do uso de MPCV no crescimento de rúcula (tamanho da parte aérea, largura da folha e massa total fresca), cenoura (tamanho da parte aérea e da raiz e massa total fresca) e rabanete (Largura da folha, tamanho da raiz e massa total fresca). Os asteriscos representam diferença estatística entre os grupos;  $p < 0,05$ .

O tamanho da raiz das cenouras e dos rabanetes inoculados com MPCV foi maior ( $p < 0,01$ ) comparado com as amostras controle (Figura 1). Houve um aumento de tamanho da raiz em, aproximadamente, 14% nas cenouras e 36% nos rabanetes. O tamanho da parte aérea de rúculas e de cenouras também apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,01$ ), com um aumento de 24% e 11%, respectivamente, quando comparado com as amostras controle.

As rúculas e rabanetes tratados com o MPCV apresentaram aumento na largura da folha de 33% e 42%, respectivamente, quando comparadas às amostras não tratadas ( $p < 0,005$ ), com aumento na largura da folha de 33% e 42%, respectivamente. Esses resultados sugerem que o aumento das folhas nas hortaliças inoculadas pode estar relacionado ao aumento do tamanho da parte aérea do vegetal, uma vez que os microrganismos do solo podem atuar disponibilizando nutrientes necessários para processos metabólicos como a síntese de carboidratos e moléculas orgânicas que serão armazenados na parte aérea do vegetal (BANIK et al., 2019; SAAD et al., 2020; SAMADDAR et al. 2019). Em relação à largura da folha e ao número total de folhas das cenouras, os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos. É importante ressaltar que as cenouras foram colhidas antes do prazo médio de colheita, o que pode ter influenciado o resultado. Em relação à massa total fresca, foi observado que as três hortaliças (cenoura, rabanete e rúcula) tratadas com MPCV,

apresentaram aumento em sua massa total de 2,5 vezes para as rúculas ( $p < 0,0001$ ), 1,3 vezes para as cenouras ( $p < 0,01$ ) e 16 vezes para os rabanetes ( $p < 0,0001$ ), quando comparadas às amostras controle (Figura 2). Resultados similares para cultura de rabanetes mostraram que tubérculos podem apresentar uma vantagem ainda maior quando submetidos à inoculação com MPCV, já que a região de armazenamento de matéria orgânica (raiz) fica em contato direto com os MPCV (ORHAN, 2016).



Figura 2: Comparação visual de plantas de rúculas, cenouras e rabanetes tratadas com MPCV (à direita) plantasse controles não tratadas (à esquerda). Barra métrica em centímetros.

O uso de microrganismos na produção agrícola tem sido uma prática comum nos últimos anos. Estudos evidenciaram o papel de bactérias promotoras do crescimento vegetal como *Azospirillum brasilense*, *Herbaspirillum seropedicea* e *Burkholderia phytofirmans* aplicados a mudas de tomate, alface e pepino, promoveram melhoria do crescimento e desenvolvimento das plantas (MANGMANG et al., 2014; MANGMANG et al., 2015, MANGMANG et al., 2016). Efeitos semelhantes no crescimento radicular, foram observados com o inoculante *Azospirillum* aplicado a sementes de trigo, canola, girassol e outras espécies vegetais (ABBASS e OKON, 1993, VIKRAM et al., 2007; MANGMANG et al., 2014). O diferencial de nossa proposta, foi a utilização de um consórcio microbiano ao invés de apenas um promotor de crescimento vegetal.

Tomados em conjunto, os resultados demonstraram uma alternativa sustentável aos métodos convencionais de cultivo, que poderá ser testada futuramente para fins comerciais. Essa metodologia pode ser adaptada a outros agroecossistemas, como agricultura sintrópica ou sistemas agrofloretais.

### Considerações finais

O uso do MPCV melhorou o crescimento vegetal das três hortaliças testadas indicando sua eficiência como promotor de crescimento vegetal.

### Referências

- ABBASS, Z.; OKON, Y. Plant growth promotion by *Azotobacter paspali* in the rhizosphere. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 25, p. 1075-1083, 1993.
- ALTIERI, M. A.; NICHOLLS, C. Agroecologia, única esperanza para la soberania alimentaria y la resiliencia socioecológica. **Agroecología**, v. 7, n. 2, p. 65-83, 2012.
- ANDERSSON, G. K. S.; et al. Effects of farming intensity, crop rotation and landscape heterogeneity on field bean pollination. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 184, p. 145-148, 2014.
- BACKER, R.; et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Scienc**, 9: 1473, 2018.
- BAKKER, P. A. H. M.; et al. The rhizosphere revisited: root microbiomics. **Frontiers in Plant Scienc**, 4:165, 2013.
- BANIK, A.; et al. Application of rice (*Oryza sativa L.*) root endophytic diazotrophic *Azotobacter* sp. strain Avi2 (MCC 3432) can increase rice yield under green house and field condition. **Microbiological Research**, v. 219, p. 56-65, 2019.
- DONG, L.; et al. Biofertilizers regulate the soil microbial community and enhance *Panax ginseng* yields. **Chinese Medicine**, 14:20, 2019.
- DUMITRESCU, L.; et al. Obtaining biofertilizer by composting vegetable waste, sewage sludge and sawdust. **Bulletin of the Transilvania University of Braşov**, v. 2, n. 51, p. 117-122, 2009.

- GUPTA, R.; et al. Effect of Agricultural Amendments on *Cajanus cajan* (Pigeon Pea) and Its Rhizospheric Microbial Communities – A Comparison between Chemical Fertilizers and Bioinoculants. **PLOS One**, v. 10, n. 7, p. 1-17, 2015.
- LAUDARES, S. S. DE ALCANTRA; et al. Agroforestry as a sustainable alternative for environmental regularization of rural consolidates occupations. **CERNE** v. 23, n. 3, p. 161–174, 2017.
- LOSS, A.; et al. Carbono orgânico total e agregação do solo em sistema de plantio direto agroecológico e convencional de cebola. **Ciência do Solo**, v. 39, p. 1212-1224, 2015.
- MANGMANG, J. S; et al. *Azospirillum brasilense* Enhances recycling of fish effluent to support growth of tomato seedlings. **Horticulturae**, v. 1, p. 14-26, 2015.
- MANGMANG, J. S; et al. Effects of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination characteristics of tomato and lettuce. **Journal of Tropical Crop Science**, v. 1, n. 2, 2014
- MANGMANG, J. S; et al. Germination characteristics of cucumber influenced by plant growth promoting Rhizobacteria. **International Journal of Vegetable Science**, v. 22, n. 1, p. 66–75, 2016.
- MONDAL, T.; et al. Chemical fertilizer in conjunction with biofertilizer and vermicompost induced changes in morpho-physiological and bio-chemical traits of mustard crop. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 2, p. 135-144, 2017.
- NORGROVE, L.; BECK, J. Biodiversity Function and Resilience in Tropical Agroforestry Systems Including Shifting Cultivation. **Curr Forestry Rep**, v. 2, p. 62–80, 2016.
- O'DELL, J. W. Method 180.1: Determination of turbidity by Nephelometry. **EPA - United States Environmental Protection Agency**, v. 1, p. 1-10, 1993.
- ORHAN, F. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 621–627, 2016.
- PACHECO, L. P.; et al. Produção de fitomassa e acúmulo de nutrientes por plantas de cobertura no cerrado piauiense. **Fitotecnia**, v. 72, n. 3, p. 23-246, 2013.
- PANACHUKI, E.; et al. Perdas de solo e de água e infiltração de água em latossolo vermelho sob sistemas de manejo. **Ciência do Solo**, v. 35, p. 1777-1785, 2011.
- RAJKUMAR, M.; et al. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. **Biotechnol Advances**, v. 30, n. 6, p. 1562-1574, 2012.
- ROSENSTOCK, T. S.; et al. A Planetary Health Perspective on Agroforestry in Sub-Saharan Africa. **One Eart**, v. 1, n. 22, p. 330-344, 2019.
- SAAD, M. M.; et al. Tailoring plant-associated microbial inoculants in agriculture: a roadmap for successful application. **Journal of Experimental Botany**, p. 1-24. 2020.
- SAMADDAR, S.; et al. Interactions between *Pseudomonas* spp. and their role in improving the red pepper plant growth under salinity stress. **Microbiological Research**, v. 219, p. 66-73, 2019.
- SANTOS, M. S.; et al. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 205, p. 1-22, 2019.
- SAVCI, S. An Agricultural Pollutant: Chemical Fertilizer. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 3, n.1, p.73–80, 2013.
- TEIXEIRA, A. L. S.; et al. Agrofloresta e seus benefícios salientando as vantagens ambientais. **Meio Ambiente, Sustentabilidade e Agroecologia**. Atena Editora, p. 38–51, 2019.
- VIKRAM, A.; et al. Production of plant growth promoting substances by phosphate solubilizing bacteria isolated from vertisols. **Journal of Plant Sciences**, v. 2, p. 326-333, 2007.
- VILLA, P. M.; et al. Policy forum: Shifting cultivation and agroforestry in the Amazon: Premises for REDD+. **Forest Policy and Economics**, v. 118, p. 1-11, 2020
- ZILLI, J. É.; RUMJANEK, N. G.; RIBEIRO XAVIER, G.; DA COSTA COUTINHO, H. L.; PRATA NEVES, M. C. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Caderno de Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 3, p. 391–411, 2003.