

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA  
CURSO DE AGRONOMIA

**COINOCULAÇÃO DE *Rhizobium tropici* E *Azospirillum  
brasilense* VISANDO A SUSTENTABILIDADE DA  
PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO EM SOLO ARENOSO**

**Acadêmica: Hellen Cristina Pereira Ferreira**

Cassilândia-MS

Junho/2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL

UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA

CURSO DE AGRONOMIA

**COINOCULAÇÃO DE *Rhizobium tropici* E *Azospirillum  
brasilense* VISANDO A SUSTENTABILIDADE DA  
PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO EM SOLO ARENOSO**

**Acadêmica: Hellen Cristina Pereira Ferreira**

**Orientador: Prof. Dr. Fábio Steiner**

“Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte das exigências do Curso de Agronomia para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo”.

Cassilândia-MS

Junho de 2016

## EPÍGRAFE

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”

Pv 16:3

## DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, que é o principal responsável por essa conquista, o qual cuidou de todos os detalhes e encaminhou todas as coisas até aqui.

À minha mãe Abadia e ao meu pai João Olympio por acreditar em mim, pelo investimento, apoio, dedicação e amor.

Ao meu marido Wesley pelo carinho, apoio, ajuda nos momentos difíceis, compreensão, cuidado e amor.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar meus passos e pelo amor incondicional.

Ao meu marido Wesley, que me apoiou e acreditou em mim não me deixando desistir.

Aos meus pais e irmãos, que amo muito e sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Steiner, por me orientar, pela paciência e ajuda.

À Fernanda, Viviane e Mariana, pela convivência, ajuda, paciência e aprendizado.

Aos meus colegas de classe, pelas vezes que me ajudaram durante o curso.

À Célia e Adilson, pela ajuda e carinho.

Ao meu pastor Paulo de Tarso, Thaís, Lidiane, Joice e todos demais que diversas vezes me motivaram.

À todos os professores e funcionários da UEMS, em especial aos professores Dr. Tiago Zoz e Dr. Diógenes Martins por aceitarem fazer parte da minha banca examinadora.

À todos, o meu muito obrigado!

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE APÊNDICES .....	ix
1. RESUMO.....	x
2. ABSTRACT .....	xi
3. INTRODUÇÃO.....	1
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	4
4.1. Localização e Caracterização da Área Experimental .....	4
4.2. Delineamento Experimental e Tratamentos .....	4
4.3. Implantação e Condução do Experimento .....	5
4.4. Avaliações Realizadas .....	6
4.4.1. Estado nutricional das plantas .....	6
4.4.2. Nodulação e Produção de matéria seca das plantas .....	6
4.4.3. Componentes da produção e produtividade de grãos.....	7
4.5. Análises Estatísticas .....	7
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	9
5.1. Nodulação e Produção de Matéria Seca das Plantas .....	10
5.2. Nutrição das Plantas, Componentes de Produção e Produtividade de Grãos	13
6. CONCLUSÃO .....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	18
FIGURAS DO APÊNDICE .....	22

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultado da análise química do Neossolo Quartzarênico na camada de 0,0–0,20 m de profundidade antes da implantação do experimento ..... 4
- Tabela 2.** Resumo da análise de variância para as variáveis número de nódulos por planta (NNP), matéria seca de nódulos por planta (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca das raízes (MSR), teor de nitrogênio (N), população final de plantas (PF), número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de 100 grãos (M100) e produtividade de vagens (PROD) para os efeitos de inoculação de rizobactérias e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) em um Neossolo Quartzarênico ..... 9

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito da coinoculação das sementes com rizobactérias no número de nódulos (A), na matéria seca dos nódulos (B) e na produção de matéria seca da parte aérea (C) e das raízes (D) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. Barras seguidas pela mesma não diferem pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação..... 11
- Figura 2.** Efeito da adubação nitrogenada em cobertura no número de nódulos por planta (A), na matéria seca dos nódulos (B) e na produção de matéria seca da parte aérea (C) e das raízes (D) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. <sup>ns</sup>: não significativo. \*\*: significativo a 1%. CV: Coeficiente de variação. .... 12
- Figura 3.** Efeito da coinoculação das sementes com rizobactérias no teor de nitrogênio nas folhas (A), na população final de plantas (B), número de vagens por planta (C), número de grãos por vagem (D), massa de 100 grãos (E) e na produtividade de grãos (F) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. Barras seguidas pela mesma não diferem pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de variação..... 14
- Figura 4.** Efeito da adubação nitrogenada em cobertura no teor de nitrogênio nas folhas (A), na população final de plantas (B), número de vagens por planta (C), número de grãos por vagem (D), massa de 100 grãos (E) e na produtividade de grãos (F) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo a 5%. \*\*: significativo a 1%. CV: Coeficiente de variação. ... 16



## LISTA DE APÊNDICES

- Apêndice 1.** Cultura do feijoeiro aos 50 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Área de recuperação de pastagem degradada, com baixo teor de matéria orgânica resultando em estande com porte baixo. .... 22
- Apêndice 2.** Cultura do feijoeiro aos 50 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Detalhe para o adequado estande plantas por unidade de área. .... 23
- Apêndice 3.** Cultura do feijoeiro aos 54 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Detalhe para o aparecimento dos sintomas de doenças, principalmente de mancha de *Alternaria* sp., em virtude da elevada precipitação pluvial durante o período de cultivo do feijoeiro..... 23

# COINOCULAÇÃO DE *Rhizobium tropici* E *Azospirillum brasilense* VISANDO A SUSTENTABILIDADE DA PRODUÇÃO DO FEIJOEIRO EM SOLO ARENOSO

Hellen Cristina Pereira Ferreira & Fábio Steiner

## 1. RESUMO

Técnicas de manejo que possibilitem a maximização de absorção de nitrogênio (N) pelo feijoeiro são de extrema importância, em razão do alto custo dos fertilizantes nitrogenados e das perdas de N, que podem representar prejuízos aos produtores e riscos ao ambiente. Nesse sentido, o uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas em associação de bactérias do gênero *Rhizobium* pode ser alternativa viável para melhorar a eficiência da fixação biológica de N e reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e da adubação nitrogenada em cobertura na nutrição de N e na produtividade de grãos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivado em um Neossolo Quartzarênico. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por quatro tratamentos de inoculação: 1) controle (sem inoculação); 2) inoculação com *Rhizobium tropici*; 3) inoculação com *Azospirillum brasilense*; e, 4) coinoculação com *R. tropici* e *A. brasilense*. As subparcelas foram constituídas da aplicação de cinco doses de N em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha<sup>-1</sup>), divididas em duas aplicações aos 25 e 40 DAE. Foram avaliados a nodulação, nutrição nitrogenada das plantas, componentes de produção e produtividade de grãos. Os resultados evidenciaram que a coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* e a inoculação de *R. tropici* promoveu maior nodulação das raízes e aumentou o número de vagens e produtividade de grãos do feijoeiro, cultivado em um Neossolo Quartzarênico. A dose de nitrogênio em cobertura de 77 kg ha<sup>-1</sup> proporcionou maior produtividade dos grãos, independentemente da inoculação das sementes com rizobactérias.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Phaseolus vulgaris* L., fixação biológica de nitrogênio, rizobactérias, bactérias promotoras de crescimento da planta.

## CO-INOCULATION *Tropici rhizobium* and *Azospirillum brasilense* AIMING THE SUSTAINABILITY OF COMMON BEAN PRODUCTION IN SANDY SOIL

### 2. ABSTRACT

Management techniques that allow the maximization of nitrogen absorption (N) by the bean are extremely important, because of the high cost of nitrogen fertilizers and N losses, which may represent losses to producers and risks to the environment. In this sense, the use of growth promoting bacteria in plants *Rhizobium* bacteria association can be a viable alternative to improve the efficiency of biological N fixation and reduce the use of nitrogen fertilizers. This study aimed to evaluate the efficiency of co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization on nutrition N and common bean beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in a Neossolo Quartzarênico. The experimental design was a randomized block in a split plot design with four replications. The plots consisted of four inoculation treatments: 1) control (no inoculation); 2) inoculation with *Rhizobium tropici*; 3) Inoculation with *Azospirillum brasilense*; and, 4) co-inoculation with *R. tropici* and *A. brasilense*. The subplots were constituted of application of five doses of N (0, 30, 60, 90 and 120 kg ha<sup>-1</sup>), divided in two doses at 25 and 40 DAE. They evaluated the nodulation, nitrogen nutrition of plants, production of components and common bean grains. The results showed that the co-inoculation *R. tropici* and *A. brasilense* and inoculation of *R. tropici* promoted greater nodulation of roots and increased the number of pods and common bean grains grown in a Neossolo Quartzarênico. Nitrogen dose coverage of 77 kg ha<sup>-1</sup> provided higher grain yield, regardless of seed inoculation with rhizobacteria.

**INDEX TERMS:** *Phaseolus vulgaris* L., biological nitrogen fixation, rhizobacteria, bacteria promoting plant growth.

### 3. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de feijão do mundo, superado apenas por Myanmar e Índia. No entanto, apesar do país figurar entre os maiores produtores de feijão do mundo, apresenta produtividade média relativamente baixa. Na safra 2014/2015, a produção nacional de feijão alcançou 3,4 milhões de toneladas, ocupando uma área de 3,2 milhões de hectares (CONAB, 2015), com produtividade média de  $1.025 \text{ kg ha}^{-1}$ , considerada baixa, uma vez que a cultura tem potencial para produtividades acima de  $3.500 \text{ kg ha}^{-1}$ . Um dos fatores dessa baixa produtividade é que a maior parte do feijão produzido no Brasil, cerca de 60% da produção nacional, é proveniente de pequenas propriedades (agricultura familiar) que fazem pouca utilização de insumos agrícolas e tecnologia.

O adequado crescimento e desenvolvimento do feijoeiro e a obtenção de altas produtividades de grãos dependem do emprego de tecnologias apropriadas, sendo que a suplementação adequada de nitrogênio (N) destaca-se. O N é o nutriente requerido em maiores quantidades pela planta de feijão e, embora o feijoeiro tenha capacidade de suprir parte da sua demanda de N, cerca de 20 a 40%, pela associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, a quantidade fornecida por esse processo normalmente é insuficiente (FANCELLI; DOURADO-NETO, 2007). Assim, a adubação nitrogenada é considerada uma das principais práticas para se obter altas produtividades do feijoeiro, especialmente quando cultivado em áreas com uso de alta tecnologia (MAIA et al., 2013). Contudo, por ser um nutriente que apresenta grande dinâmica no sistema solo-planta-atmosfera, devido à variabilidade dos processos de mineralização, lixiviação, volatilização, desnitrificação e absorção pela cultura, o manejo adequado do N (época de aplicação e a quantidade a ser aplicada), é tido como um dos mais difíceis (MAIA et al., 2012).

Técnicas de manejo que possibilitem a maximização de absorção de N pelo feijoeiro são de extrema importância, em razão do alto custo dos fertilizantes nitrogenados e das perdas de N no sistema solo-planta, que podem representar prejuízos aos produtores e riscos ao ambiente pela contaminação de mananciais de água (HUNGRIA et al., 2007; MAIA et al., 2012). Nesse sentido, uma alternativa para melhorar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN) e, conseqüentemente, reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados na cultura do feijão, consiste na utilização de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas

(RPCP), capazes de promover efeito sinérgico na nodulação e no crescimento das plantas de feijão (HUNGRIA et al., 2013).

Atualmente, o inoculante comercial para o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil é produzido com uma espécie de rizóbio adaptada aos solos tropicais, o *Rhizobium tropici* (FERREIRA et al., 2000; STRALIOTTO et al., 2003). No entanto, ainda há preocupações sobre a capacidade de nodulação e a eficiência simbiótica das estirpes de *R. tropici* em condições de campo para a cultura do feijoeiro. As principais limitações da simbiose *Rhizobium*–feijoeiro são atribuídas ao melhoramento das plantas com ênfase a aplicação de fertilizante nitrogenado, população nativa de rizóbios do solo altamente competitiva, mas pouco eficiente em fixar N atmosférico e a alta suscetibilidade a doenças e estresses ambientais (HUNGRIA; VARGAS, 2000). Porém, aumentos significativos na nodulação, fixação de nitrogênio atmosférico e produção de grãos podem ser obtidos quando estirpes mais específicas e eficientes são usadas como inoculantes (HUNGRIA et al., 2003).

A partir da concretização do uso de *R. tropici* na cultura do feijoeiro comum no Brasil, novas rizobactérias foram estudadas para a inoculação de plantas leguminosas, destacando-se as estirpes da espécie *Azospirillum brasilense* (CASSÁN et al., 2008; HUNGRIA; NOGUEIRA, 2013), uma rizobactéria até então conhecida no Brasil por sua ação promotora de crescimento em gramíneas. Essa RPCP pode estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de N (HUERGO et al., 2008); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008); produção de fitohormônios como auxinas, citocininas (CROZIER et al., 1988; CACCIARI et al., 1989), giberilinas (BOTTINI et al., 1989), etileno (STRZELCZYK et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (PERRIG et al., 2007); solubilização de fosfato (RODRIGUEZ et al., 2004; INAGAKI et al., 2014); e por atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008). Em geral, tem sido relatado que as RPCP beneficiam o crescimento das plantas e a produtividade das culturas por uma combinação de todos esses mecanismos (DOBBELAERE et al., 2003).

Considerando as limitações da FBN do feijoeiro inoculado com *R. tropici* e os efeitos benéficos das rizobactérias *A. brasilense* no crescimento das plantas, iniciou-se, nos últimos anos, os estudos com coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* em leguminosas, buscando ganho em nodulação e suprimento de nitrogênio, resultando

em maior produção da planta (HUNGRIA et al., 2013). A tecnologia de coinoculação do feijoeiro consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem efeito sinérgico, em que se superam os resultados produtivos obtidos quando utilizados na forma isolada (BÁRBARO et al., 2009; HUNGRIA et al., 2013). Nos casos onde se tem utilizado *A. brasilense* em leguminosas, o efeito benéfico da associação com o *R. tropici* se deve, na maior parte, a capacidade que a rizobactéria tem de produzir fitohormônios, que resulta em maior crescimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo (BÁRBARO et al., 2009; CASSÁN et al., 2009; BULEGON et al., 2014).

Hungria et al. (2013) avaliando a eficiência agrônômica da coinoculação de *R. tropici* e *A. brasiliense* em feijão, verificaram que a inoculação das sementes com *R. tropici* aumentou a produtividade em 98 kg ha<sup>-1</sup> (8,3%), enquanto que a coinoculação com *A. brasiliense* no sulco de semeadura resultou no incremento de 285 kg ha<sup>-1</sup> (19,6%) em relação ao tratamento não inoculado. No entanto, apesar de relatos dos efeitos benéficos da coinoculação de *R. tropici* e *A. brasiliense*, poucos experimentos de campo foram realizados com *Rhizobium* e *Azospirillum* na cultura do feijoeiro, e nenhum nas condições do cerrado brasileiro.

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e da adubação nitrogenada em cobertura na nutrição de nitrogênio das plantas, nos componentes de produção e na produtividade de grãos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivado em um Neossolo Quartzarênico.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Localização e Caracterização da Área Experimental

O experimento foi conduzido em Presidente Prudente – SP (51°22' W, 22°07' S e altitude média de 430 m), no período de Novembro de 2015 a Março de 2016. O clima da região, segundo classificação de Köppen, é do tipo Cwa com verão chuvoso e inverno seco (precipitação no inverno menor que 60 mm), com precipitação pluvial e temperatura média anual de 1.380 mm e 25,0 °C, respectivamente.

O solo da área experimental foi classificado como Neossolo Quartzarênico seguindo a classificação da EMBRAPA (2006), profundo e bem drenado (125 g kg<sup>-1</sup> de argila, 105 g kg<sup>-1</sup> de silte e 770 g kg<sup>-1</sup> de areia). Antes do início do experimento, a área experimental vinha sendo cultivada com sistema de integração lavoura pecuária com a cultura do milho no verão e com o cultivo de braquiária (*Urochloa brizantha*) no período de outono-inverno. Em setembro de 2015, antes da implantação do experimento, foram coletadas amostras de solo na camada de 0,0–0,20 m de profundidade, as quais foram enviadas para o Laboratório de Solos da UNOESTE para a realização das análises químicas, seguindo metodologia de Raij et al. (2001). O resultado da análise química do solo é mostrado na Tabela 1.

TABELA 1. Resultado da análise química do solo na camada de 0,0–0,20 m de profundidade antes da implantação do experimento

pH	P <sub>Resina</sub>	MO	H + Al	Al	K	Ca	Mg	CTC	V
CaCl <sub>2</sub>	mg dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>	----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			-----			%
5,8	28,0	18,0	2,12	0,0	0,35	2,30	0,78	5,55	62
S-SO <sub>4</sub>	Micronutrientes								
	B	Cu	Zn	Fe	Mn				
-----	----- mg dm <sup>-3</sup> -----								
4,0	0,16	2,60	2,30	16,00	8,70				

### 4.2. Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. As parcelas com uma área de 62,5 m<sup>2</sup> (5,0 x 12,5 m), foram constituídas por quatro tratamentos de inoculação: i) controle (sem inoculação); ii) inoculação das sementes com *Rhizobium tropici*; iii) inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*; e, iv) coinoculação das sementes com *R. tropici* e *A. brasilense*. As subparcelas tiveram uma área de 12,5 m<sup>2</sup> (5,0 x 2,5 m), e foram constituídas da aplicação de cinco doses de N em

cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 g ha<sup>-1</sup>), divididas em duas aplicações aos 25 e 40 dias após a emergência das plantas (DAE).

Cada unidade experimental foi constituída de 5,0 m de comprimento por 2,5 m de largura (5 linhas de semeadura de feijão com espaçamento entrelinhas de 0,50 m). Para as avaliações foram consideradas as três linhas centrais desprezando-se 0,5 m na extremidade de cada fileira de plantas e duas fileiras de cada lado da unidade experimental [totalizando uma área útil de 6,0 m<sup>2</sup> (4,0 × 1,5 m)].

### **4.3. Implantação e Condução do Experimento**

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) foi semeado mecanicamente, no dia 21 de novembro de 2015, utilizando-se o espaçamento entrelinhas de 0,50 m e quantidade de sementes suficientes para obtenção de densidade de 12 a 15 plantas por metro. A emergência das plantas ocorreu no dia 27/11/2015 (6 dias após a semeadura). A adubação de semeadura foi realizada de acordo com as recomendações de Raij (1997), com aplicação de 600 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 04-14-08 no sulco de semeadura. As doses de N em cobertura (30, 60, 90 e 120 kg ha<sup>-1</sup>) foram aplicadas nas subparcelas em duas parcelas iguais, aos 25 DAE (22/12/2015) e 40 DAE (06/01/2016).

O cultivar utilizado foi o Pérola, que apresenta grão tipo Carioca, peso médio de 100 sementes de 23-25 g, hábito de crescimento indeterminado II/III, porte semi-ereto a prostrado e ciclo normal (RAMALHO; ABREU, 2006).

A inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* foi realizada com o inoculante comercial turfoso NITRO1000<sup>®</sup> FEIJÃO com a estirpe Semia 4080, na dose de 200 g para 25 kg de sementes. Para a inoculação com *Azospirillum brasilense* foi utilizado o inoculante comercial líquido NITRO1000<sup>®</sup> GRAMÍNEAS que contém as estirpes AbV5 e AbV6, na dose de 200 mL para 25 kg de sementes. A coinoculação foi realizada misturando as duas rizobactérias, nas mesmas proporções utilizadas quando inoculadas isoladamente, ou seja, 200 g de inoculante turfoso contendo *R. tropici* + 200 mL de inoculante líquido contendo *A. brasilense* para 25 kg de sementes. A inoculação do inoculante turfoso foi realizada misturando o inoculante com solução açucarada a 10% na proporção de 250 mL da solução para 500 g de inoculante. A solução açucarada tem a finalidade de contribuir para maior adesão do inoculante a superfície da semente (STRALIOTTO, 2003).

O controle de plantas daninhas durante o experimento foi realizado com a



aplicação de fuazilop-p-butil + fomesafen (200 + 250 g ha<sup>-1</sup> do i.a.) aos 35 dias após a emergência das plantas (DAE). Para o controle de pragas foram realizadas quatro aplicações dos inseticidas deltametrina + triazofós (0,4 + 140 g ha<sup>-1</sup> do i.a.), nos dias 17/12/2015, 11/01/2016, 22/01/2016 e 08/02/2016. Para o controle de doenças foram utilizados os fungicidas propiconazol + trifloxitrobina (75 + 75 g ha<sup>-1</sup> do i.a.), no dia 17/12/2015, mancozeb (1.600 g ha<sup>-1</sup> do i.a.) no dia 11/01/2016 e azoxistrobina (60 g ha<sup>-1</sup> do i.a.) nos dias 22/01/2015 e 08/02/2016.

A colheita do feijão foi realizada manualmente, no dia 03/03/2016, totalizando um ciclo de 96 dias após a emergência das plantas.

#### **4.4. Avaliações Realizadas**

##### **4.4.1. Estado nutricional das plantas**

No estágio de florescimento pleno (R6), aos 46 DAE (13/01/2016), foram efetuadas amostragens do tecido foliar para avaliação dos teores de N nas plantas de feijão. Foram coletadas 20 folhas por unidade experimental, de acordo com Malavolta et al. (1997). As folhas coletadas foram lavadas em água destilada, acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secagem em estufa com circulação forçada de ar à 55 °C por 72 horas. Em seguida, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, e submetidas a determinação dos teores de N conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

##### **4.4.2. Nodulação e Produção de matéria seca das plantas**

*Número de nódulos por planta:* no estágio de florescimento pleno, aos 46 DAE (13/01/2016), foram coletadas 5 plantas sucessivas contidas na área útil de cada subparcela, utilizando-se um enxadão na profundidade de 0,0 a 0,30 m. Em seguida, as plantas foram levadas ao laboratório para lavagem do sistema radicular e contagem do número de nódulos por planta.

*Matéria seca de nódulos por planta:* após avaliação do número de nódulos por planta, os nódulos foram secados em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C, por 72 horas, e posteriormente pesados. Os dados foram expressos em gramas por planta (g planta<sup>-1</sup>).

*Matéria seca da parte aérea e das raízes:* no estágio de florescimento pleno, aos 46 DAE (13/01/2016), foram coletadas em sequência cinco plantas na área útil de cada subparcela, utilizando-se um enxadão na profundidade de 0 a 30 cm. Em

seguida, as plantas foram lavadas com água corrente utilizando-se peneiras, e posteriormente, acondicionadas em saco de papel, e submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65 °C, até atingir massa constante. Posteriormente, foram determinadas a massa da matéria seca da parte aérea e das raízes e os valores convertidos em g planta<sup>-1</sup>.

#### **4.4.3. Componentes da produção e produtividade de grãos**

*População final de plantas:* determinada por ocasião da colheita através da contagem das plantas contidas em duas linhas de 4,0 m de comprimento da área útil de cada unidade experimental, e posteriormente, os resultados foram convertidos para mil plantas por hectare (plantas ha<sup>-1</sup>).

*Número de vagens por planta:* foi obtido por meio da contagem do número total de vagens contidas em 10 plantas coletadas na área útil de cada unidade experimental e, posteriormente, dividido pelo número total de plantas.

*Número de grãos por vagem:* foi obtido por meio da contagem do número total de grãos dividido pelo número total de vagens contidas nas 10 plantas coletadas na área útil de cada unidade experimental.

*Massa de 100 grãos:* foi obtido por meio da coleta ao acaso e pesagem de três amostras de 100 grãos por unidade experimental, corrigindo-se o teor de água para 130 g kg<sup>-1</sup> (base úmida).

*Produtividade de grãos:* foi obtido por meio da pesagem dos grãos debulhados das vagens coletadas na área útil das subparcelas experimentais (duas linhas de 4,0 m de comprimento) e, posteriormente, convertido para kg ha<sup>-1</sup> e padronizada para 130 g kg<sup>-1</sup> de teor de água (base úmida).

#### **4.5. Análises Estatísticas**

Os dados foram previamente testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk a 5% de significância, posteriormente, submetidos à análise de variância seguindo o esquema de parcelas subdivididas, aplicando-se o teste F em nível de 5% de probabilidade. As médias do fator inoculação das sementes com rizobactérias foram comparadas pelo teste t (LSD), a 5% de probabilidade. Os dados do fator doses de nitrogênio em cobertura foram submetidos a análises de regressão e as equações significativas ( $p \leq 0,05$ ) com os maiores coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram ajustadas. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software

estatístico Sisvar versão 5.3 para Windows (Software de Análises Estatísticas, UFLA, Lavras, MG, BRA) (FERREIRA, 2010).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram que a inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* de forma isolada e combinada resultou em efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) para o número de nódulos por planta (NNP), matéria seca de nódulos por planta (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca das raízes (MSR), número de vagens por planta (NVP) e produtividade de grãos (PROD) da cultura do feijoeiro (Tabela 2). Para a adubação nitrogenada em cobertura houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) apenas para as variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA), teor foliares de nitrogênio (N), número de vagens por planta (NVP) e produtividade de grãos (PROD) de feijão (Tabela 2). A análise de variância, ainda, evidenciou que não houve efeitos significativos ( $P > 0,05$ ) para a interação entre os fatores inoculação e aplicação de N em cobertura para nenhuma das variáveis mensuradas (Tabela 2). A ausência de efeito significativo para a interação entre os fatores estudados indica que a aplicação de N em cobertura possui resposta semelhante na cultura do feijoeiro, independentemente da inoculação ou não das sementes com *R. tropici* e *A. brasilense* de forma isolada e combinada.

TABELA 2. Resumo da análise de variância para as variáveis número de nódulos por planta (NNP), matéria seca de nódulos por planta (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca das raízes (MSR), teor de nitrogênio (N), população final de plantas (PF), número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de 100 grãos (M100) e produtividade de vagens (PROD) para os efeitos de inoculação de rizobactérias e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) em um Neossolo Quartzarênico

Causas de variação	Probabilidade > F				
	NNP	MSN	MSPA	MSR	N
Bloco	0,274	0,617	0,163	0,461	0,372
Inoculação (I)	0,016	0,002	0,042	0,024	0,135
Nitrogênio (N)	0,184	0,272	<0,000	0,172	<0,000
I x N	0,263	0,118	0,186	0,353	0,116
CV <sub>Parcela</sub> (%)	12,75	13,83	11,28	24,34	8,73
CV <sub>Subparcela</sub> (%)	11,41	15,59	12,94	27,61	7,48
	PF	NVP	NGV	M100	PROD
Bloco	0,134	0,167	0,132	0,365	0,213
Inoculação (I)	0,220	<0,000	0,347	0,328	<0,000
Nitrogênio (N)	0,431	0,008	0,431	0,069	<0,000
I x N	0,726	0,236	0,249	0,486	0,096
CV <sub>Parcela</sub> (%)	7,93	15,46	3,82	9,74	13,52
CV <sub>Subparcela</sub> (%)	6,91	11,28	4,27	7,17	11,45

Os coeficientes de variação (CV) obtidos para a maioria das variáveis mensuradas são classificados como baixos e médios, uma vez que foram inferiores à 20%, exceto para a variável matéria seca das raízes (Tabela 2).

### **5.1. Nodulação e Produção de Matéria Seca das Plantas**

A inoculação com *R. tropici* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada influenciou significativamente ( $P < 0,05$ ) o número de nódulos por planta, matéria seca de nódulos, matéria seca da parte aérea e das raízes do feijoeiro (Figura 1). O maior número de nódulos por planta foi obtido com a coinoculação das sementes com *R. tropici* e *A. brasilense*, enquanto que os menores valores de número de nódulos por planta foram obtidos no tratamento controle (sem inoculação) (Figura 1A). Este aumento no estabelecimento de nódulos nas raízes das plantas de feijão pode ter sido melhorado em decorrência do baixo número de rizóbios nativos no solo, pois pode-se verificar baixa nodulação das plantas no tratamento controle. A fixação biológica de N atmosférico ( $N_2$ ) é um processo altamente energético, podendo as bactérias nodulares utilizar cerca de 30% dos fotoassimilados produzidos pela planta hospedeira (SCHUBERT; RYLE, 1980). Assim qualquer fator que interfira na produção de assimilados da planta, por conseguinte interfere também na fixação simbiótica do  $N_2$ . Da mesma forma, se as condições forem adversas aos microorganismos fixadores de nitrogênio, a nutrição nitrogenada da cultura pode ser prejudicada.

A inoculação com *R. tropici* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada resultou nos maiores valores de matéria seca dos nódulos (Figura 1B), matéria seca da parte aérea (Figura 1C) e das raízes (Figura 1D) em comparação ao tratamento controle (sem inoculação). Estes resultados reportam que a inoculação das sementes com rizobactérias pode ser um fator determinante para o aumento do desenvolvimento das plantas de feijão em solos arenosos do Cerrado brasileiro. Veronezi et al. (2012) avaliando diferentes estirpes de *Rhizobium* sp. e *A. brasilense* no feijoeiro, verificaram que a coinoculação das sementes com o isolado CPAO 19.5 L3 em associação as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* apresentou maior nodulação das raízes das plantas em comparação com as sementes inoculadas com estas estirpes de forma isolada.

Santos et al. (2014) avaliando o efeito da inoculação de diferentes estirpes de rizóbio no crescimento inicial do amendoim cv. IAC Tatu em condições de casa-de-

vegetação, também verificaram que a inoculação das sementes resultou no aumento do número de nódulos e na matéria seca de nódulos por planta. Por sua vez, Santos et al. (2005) avaliando diferentes isolados de rizóbios nativos da região nordeste do Brasil, verificaram que a quantidade e a massa de nódulos por planta foram muito dependentes da cultivar e do isolado utilizado. Segundo Fancelli e Dourado-Neto (2007), a cultura do feijoeiro pode estabelecer simbiose com várias estirpes do gênero *Rhizobium* sp. No entanto, para aumentar a eficiência da inoculação é de fundamental importância que as estirpes do inoculante tenha elevada capacidade de competir com as estirpes nativas de rizóbios do solo.

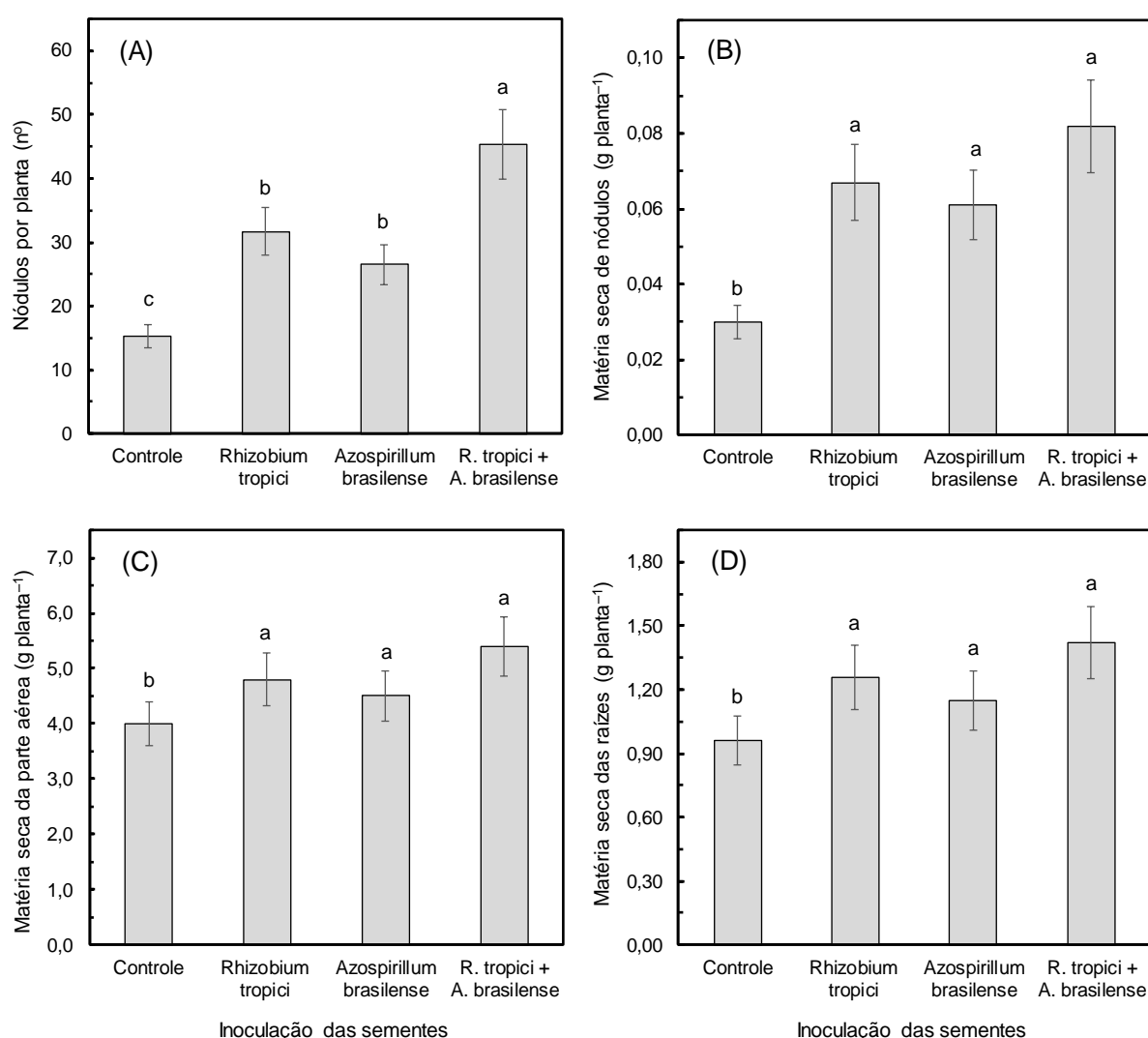


FIGURA 1. Efeito da coinoculação das sementes com rizobactérias no número de nódulos (A), na matéria seca dos nódulos (B) e na produção de matéria seca da parte aérea (C) e das raízes (D) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. Barras seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade.

. A aplicação de doses de N em cobertura não resultou em efeito significativo ( $P > 0,05$ ) nas variáveis número de nódulos por planta (Figura 2A), matéria seca de nódulos (Figura 2B) e na matéria seca das raízes (Figura 2D). Resultados semelhantes foram constatados por Pelegrin et al. (2009), os quais avaliando a resposta do feijoeiro a adubação nitrogenada, verificaram que a aplicação de N não influenciou o número de nódulos e matéria seca de nódulos.

A máxima produção de matéria seca da parte aérea ( $5,50 \text{ g planta}^{-1}$ ) foi obtida com a aplicação de  $77,5 \text{ kg ha}^{-1}$  de N (Figura 2C).

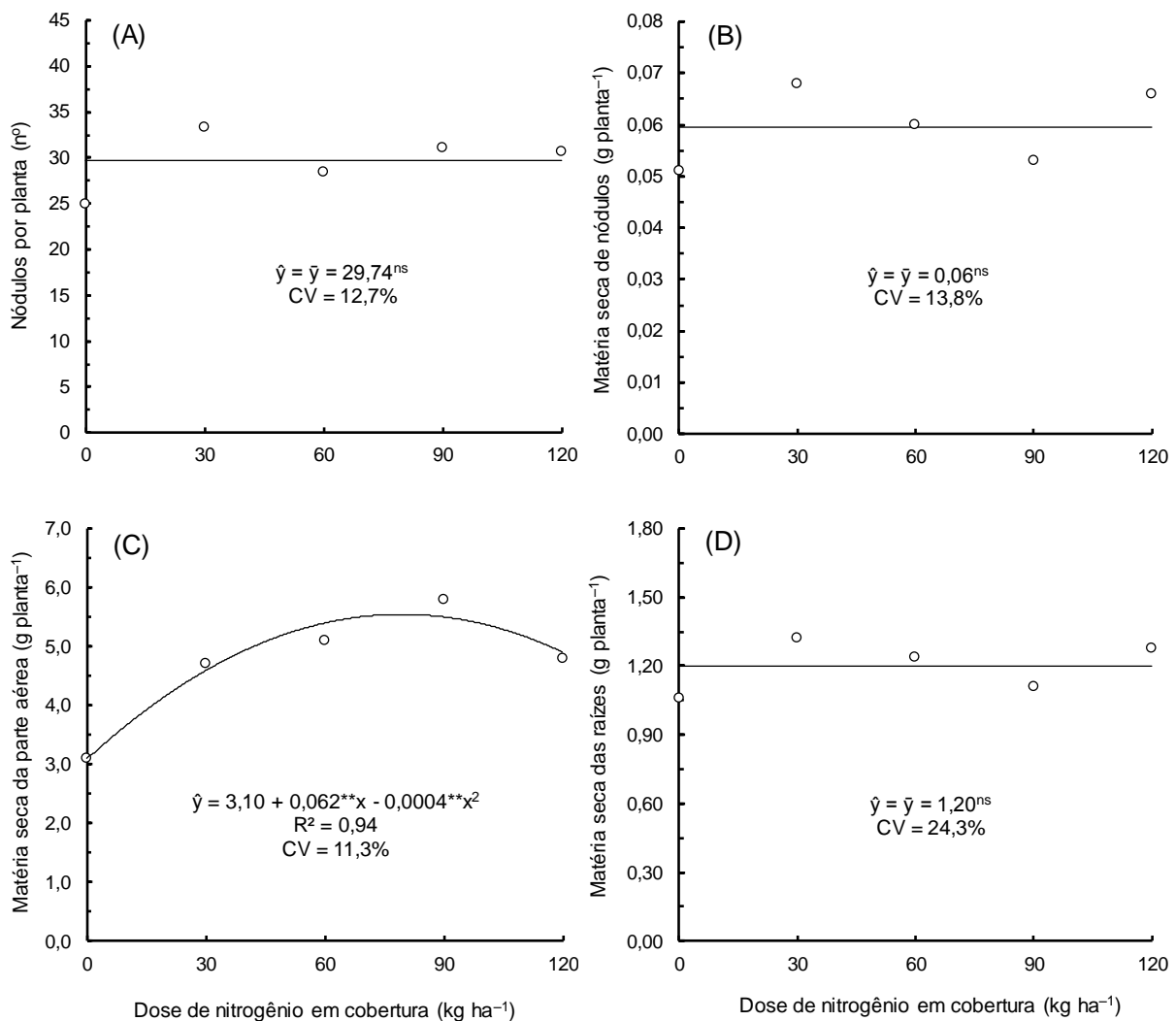


FIGURA 2. Efeito da adubação nitrogenada em cobertura no número de nódulos por planta (A), na matéria seca dos nódulos (B) e na produção de matéria seca da parte aérea (C) e das raízes (D) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. <sup>ns</sup>: não significativo. \*\*: significativo a 1% pelo teste T. CV: Coeficiente de variação.

## **5.2. Nutrição das Plantas, Componentes de Produção e Produtividade de Grãos**

A inoculação com *R. tropici* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada não resultou em efeito significativo ( $P > 0,05$ ) no teor de N nas folhas (Figura 3A), produção final de plantas (Figura 3B), número de grãos por vagem (Figura 3D) e massa de 100 grãos (Figura 3E). Resultados semelhantes foram reportados por Veroneze et al. (2014), os quais não observaram efeito significativo da coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* nos teores de N nas folhas feijão.

A inoculação com *R. tropici* e *A. brasilense* de forma isolada ou combinada afetou significativamente ( $P < 0,05$ ) o número de vagens por planta (Figura 3C) e a produtividade de grãos da cultura do feijoeiro (Figura 3F). O maior número de vagens por planta foi obtido com a coinoculação das sementes com *R. tropici* e *A. brasilense*, enquanto que os menores valores foram obtidos no tratamento controle (sem inoculação) (Figura 3C). A maior produtividade de grãos foi obtida com a coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* e com a inoculação de *R. tropici*, enquanto que os menores valores foram obtidos no tratamento controle (sem inoculação) (Figura 3F).

Embora, não houve diferença entre o tratamento de coinoculação e a inoculação de *R. tropici*, fica evidenciado maiores valores médios quando as plantas foram submetidos ao tratamento de coinoculação. Este fato, pode estar relacionado aos benefícios oriundos da coinoculação, por meio da associação da capacidade de fixação de N pelo *R. tropici* com a produção de fitohormônios das bactérias *A. brasilense*. Segundo Ferlini (2006) e Bárbaro et al. (2008), a coinoculação consiste na utilização de combinações de diferentes microorganismos, aos quais produzem um efeito sinérgico, em que quando utilizados superam os resultados produtivos obtidos com os mesmos, quando em forma isolada. Cabe salientar, que entre os hormônios vegetais, o *A. brasilense* tem capacidade em produzir de auxinas, giberelinas, citocininas em condições “in vitro” (MASCIARELLI et al., 2013).



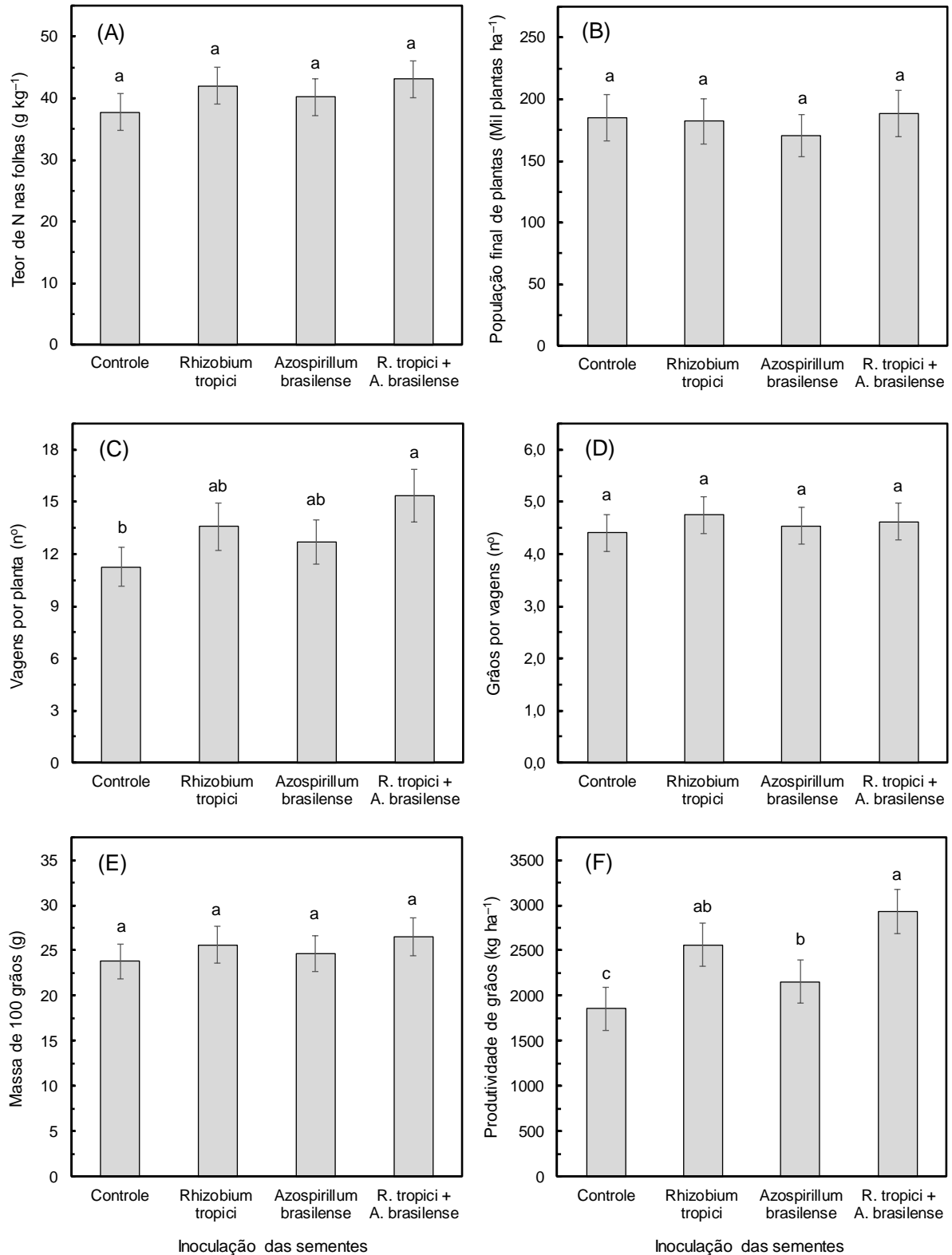


FIGURA 3. Efeito da coinoculação das sementes com rizobactérias no teor de nitrogênio nas folhas (A), na população final de plantas (B), número de vagens por planta (C), número de grãos por vagem (D), massa de 100 grãos (E) e na produtividade de grãos (F) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. Barras seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade.

A aplicação de doses de N em cobertura não resultou em efeito significativo ( $P > 0,05$ ) nas variáveis população final de plantas (Figura 4B) e número de grãos por vagem (Figura 4D). Ausência do efeito significativo de doses de N no número de grãos por vagens também foi verificado por Meira et al. (2005). Provavelmente, o número de grãos por plantas está relacionado com as características intrínsecas de cada cultivar, sendo pouco influenciado pela adubação nitrogenada.

No entanto, a aplicação de N em cobertura resultou em efeitos significativos ( $P < 0,05$ ) nos teores foliares de N (Figura 4A), número de vagens por planta (Figura 4C), massa de 100 grãos (Figura 4D) e produtividade de grãos (Figura 4F) do feijoeiro. Os teores mais elevados de N nas folhas de feijão ( $45,7 \text{ g kg}^{-1}$  de N) foram obtidos com a aplicação de  $76 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, enquanto que o maior número de vagens (15,5 vagens por planta) e massa de 100 grãos (26,8 g) foram obtidos com a aplicação de 66 e  $95 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, respectivamente. Pelegrin et al. (2009) avaliando doses de N no feijoeiro não observaram diferenças significativas na massa de 100 grãos entre as doses aplicadas de N.

A maior produtividade do feijoeiro foi obtida com a aplicação de  $77 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrogênio em cobertura, resultando em uma produção de  $2780 \text{ kg ha}^{-1}$  de feijão (Figura 4F). Pelegrin et al. (2009) obteve a maior produtividade com a dose de  $160 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, chegando aos  $795 \text{ kg ha}^{-1}$ .

O maior teor de nitrogênio estimado nos tecidos foliares com a aplicação da dose de  $76 \text{ kg ha}^{-1}$  de N (Figura 4A), provavelmente, resultou em maior fotossíntese no feijoeiro. Haja vista, que o N é componente da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. As clorofilas atuam na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP (adenosina trifostato) e NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida) (BLANKENSHIP, 2009), sendo assim, as clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas. Portanto, os maiores teores de N nos tecidos foliares promoveram uma maior quantidade de clorofila, resultando em um aumento na taxa fotossintética na planta (ZUFFO et al. 2015), na qual, proporcionam ganhos na produção de fotoassimilados e conseqüentemente, uma maior produtividade de grãos (Figura 4F).

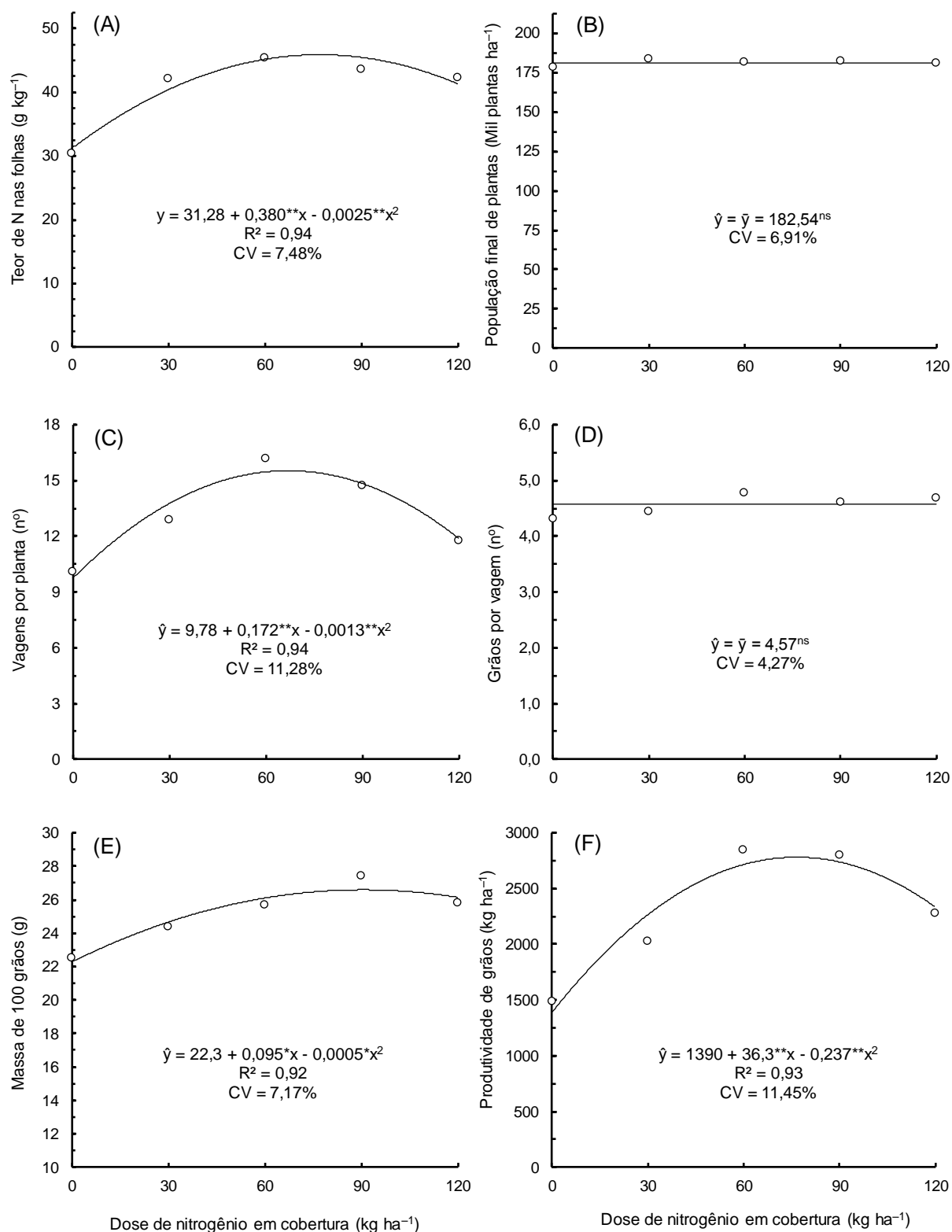


FIGURA 4. Efeito da adubação nitrogenada em cobertura no teor de nitrogênio nas folhas (A), na população final de plantas (B), número de vagens por planta (C), número de grãos por vagem (D), massa de 100 grãos (E) e na produtividade de grãos (F) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Pérola) cultivado em um Neossolo Quartzarênico. <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo a 5%. \*\*: significativo a 1% pelo teste T. CV: Coeficiente de variação.

## 6. CONCLUSÃO

A coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e a inoculação de *R. tropici* promoveu maior número de vagens e produtividade de grãos do feijoeiro, cultivado em um Neossolo Quartzarênico.

A aplicação de 77 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio em cobertura resultou na maior produtividade dos grãos, independentemente da inoculação de rizobactérias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO S.R.; TICELLI M.; MIGUEL F.B. E SILVA J.A.A.D. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**, 2008. Artigo Hypertexto [Citado 13/06/16] Disponível em: <<http://www.infobibos.com/Artigos/20084/coinoculacao/index.htm>>.

BÁRBARO, I.M.; MACHADO, P.C.; BÁRBARO JUNIOR, L.S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.

BLANKENSHIP, R.E. **Fotossíntese: As Reações Luminosas**. In: Taiz, L. and Zeiger E. (Ed.) - Fisiologia Vegetal. 4ª ed. Porto Alegre, Artmed, p.147-181, 2009.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 90, p. 45–47, 1989.

BULEGON, L.G., KLEIN, J., RAMPIM, L., GUIMARÃES, V.F., BATTISTUS, A.G., KESTRING, D., Desenvolvimento inicial de plântulas de soja inoculadas e co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, p. 26–37, 2014.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, v. 115, p. 151–153, 1989.

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F.D.; SALAMONE, I.G. de (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 61-86.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2009.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **7º Levantamento - Safra 2014/15: grãos**. 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: 28 Abr. 2015.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense* - plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and**

agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A M.; SANDBERG, G. Analysis of Indole-3-Acetic Acid and Related Indoles in Culture Medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 54, p. 2833–2837, 1988.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, p. 107-149, 2003.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**, 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 306p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. 2. ed. Piracicaba: Livro Ceres, 2007. 386 p.

FERLINI, H.A. - **Co-Inoculación en Soja (*Glicyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. Artículos Técnicos – Agricultura, 2006 [Citado 13/06/16. Disponível em: <[http://www.engormix.com/co\\_inoculacion\\_soja\\_glicyne\\_s\\_articulos\\_800\\_AGR.htm](http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glicyne_s_articulos_800_AGR.htm)>

FERREIRA, D. F. **SISVAR** - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

FERREIRA, A.N.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C.; ARAÚJO, R.S.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 507-512, 2000.

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

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2, p. 151–164, 2000.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Efeitos da co-inoculação. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 170, n. 1, p. 40-41, 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 2, p. 88-93, 2003.

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

INAGAKI, A.M.; GUIMARÃES, V.F.; RODRIGUES, L.F.O.S.; SILVA, M.B.; DIAMANTE, M.S.; RAMPIM, L.; MIORANZA, T.M.; DUARTE JÚNIOR, J.B. Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 48, p. 3480-3487, 2014.

MASCIARELLI, O.; URBANI, L.; REINOSO, H.; LUNA, V. Alternative Mechanism for the Evaluation of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by *Azospirillum brasilense* Strains and Its Effects on the Germination and Growth of Maize Seedlings. **Journal Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 590-597, 2013.

MAIA, S.C.M.; SORATTO, R.P.; BIAZOTTO, F.O.; ALMEIDA, A.Q. Estimativa da necessidade de nitrogênio em cobertura no feijoeiro IAC Alvorada com clorofilômetro portátil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, p. 2229-2238, 2013.

MAIA, S.C.M.; SORATTO, R.P.; NASTARO, B.; FREITAS, L.B. The nitrogen sufficiency index underlying estimates of nitrogen fertilization requirements of common bean. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 183-191, 2012.

MALAVOLTA, E.A.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: Princípios e aplicações. Piracicaba: Potafos, 1997. 201p.

MEIRA, F.A.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; ARF, O. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.40, n.4, p.383-388, 2005.

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 219-226, 2009.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.75, p.1143-1150, 2007.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552–555, 2004.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 416 p.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G.; MERCANTE, F.M. **Cultivo do feijoeiro comum**: fixação biológica de nitrogênio. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. (Sistemas de Produção, 2). Disponível em <<http://www.cnpaf.embrapa.br>>. Acesso em: 28 Abr. 2015.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v. 149, p. 55–60, 1994.

VERONEZI, S. D. F.; COSTA, M. R.; SILVA, A. T.; MERCANTE, F. M. Co-inoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 7, n. 2, 2012. 4p.

ZUFFO, A.M.; REZENDE, P.M.; BRUZI, A.T.; OLIVEIRA, N.T.; SOARES, I.O.; NETO, G.F.G.; CARDILLO, B.E.S.; SILVA, L.O. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. **Revista Ciências Agrárias (Lisboa)**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.



## FIGURAS DO APÊNDICE



**Apêndice 1.** Cultura do feijoeiro aos 50 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Área de recuperação de pastagem degradada, com baixo teor de matéria orgânica resultando em estande com porte baixo.



**Apêndice 2.** Cultura do feijoeiro aos 50 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Detalhe para o adequado estande plantas por unidade de área.



**Apêndice 3.** Cultura do feijoeiro aos 54 DAE, no estágio de florescimento pleno (R6), em um Neossolo Quartzarênico. Detalhe para o aparecimento dos sintomas de doenças, principalmente de mancha de *Alternaria* sp., em virtude da elevada precipitação pluvial durante o período de cultivo do feijoeiro.