

**AMANDA PRADO GILABEL**

**CO-INOCULAÇÃO DE *Rhizobium* E *Azospirillum* E ADUBAÇÃO NITROGENADA  
NA CULTURA DO FEIJÃO COMUM**

**Botucatu - SP**

**2018**



**AMANDA PRADO GILABEL**

**CO-INOCULAÇÃO DE *Rhizobium* E *Azospirillum* E ADUBAÇÃO NITROGENADA  
NA CULTURA DO FEIJÃO COMUM**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Rogério Peres Soratto

Coorientador: Adalton Mazetti Fernandes

**Botucatu - SP**

**2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G463c Gilabel, Amanda Prado, 1991-  
Co-inoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* e adubação nitrogenada na cultura do feijão comum / Amanda Prado Gilabel. - Botucatu: [s.n.], 2018  
85 p.: grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2018

Orientador: Rogério Peres Soratto

Coorientador: Adalton Mazetti Fernandes

Inclui bibliografia

1. Feijão - Cultivo. 2. Feijão - Adubação. 3. Nitrogênio na agricultura. 4. *Rhizobium*. 5. *Azospirillum*. I. Soratto, Rogério Peres. II. Fernandes, Adalton Mazetti. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**


**TÍTULO:** CO-INOCULAÇÃO DE *Rhizobium* E *Azospirillum* E ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO FEIJÃO COMUM


**AUTORA:** AMANDA PRADO GILABEL

**ORIENTADOR:** ROGÉRIO PERES SORATTO

**COORIENTADOR:** ADALTON MAZETTI FERNANDES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. ADALTON MAZETTI FERNANDES  
CERAT / Universidade Estadual Paulista - UNESP

  
Prof. Dr. DIRCEU MAXIMINO FERNANDES  
Depto de Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

  
Prof. Dr. JOSÉ LAVRES JUNIOR  
Centro de Energia Nuclear na Agricultura / Universidade de São Paulo

Botucatu, 22 de fevereiro de 2018.



*Aos meus amados pais, Márcia e Márcio, pelos ensinamentos, broncas, amor, amizade, dedicação e por serem meus maiores incentivadores, batalhando ao meu lado para vencer cada etapa, dedico.*





## **AGRADECIMENTOS**

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida por sempre derramarem suas graças sobre mim, iluminando meu caminho e me dando forças para superar os obstáculos e foco para vencer os desafios.

Aos meus pais, Márcio e Márcia, pelo companheirismo, apoio incondicional e por me ensinarem que com trabalho duro podemos alcançar os nossos objetivos. Obrigada por acreditarem no meu sonho em todos os momentos dessa caminhada. Eu amo muito vocês!

À minha “prima-irmã” Ana Paula, ao meu “primo-cunhado” Gabriel e aos meus “sobrinhos” Vitor e Isadora pela amizade, amor e apoio dedicados a mim e a meus pais. Vocês são muito importantes para mim!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Peres Soratto, e coorientador, Prof. Dr. Adalton Mazetti Fernandes, por acreditarem no meu potencial, pelos ensinamentos, paciência, amizade, por serem exemplos de profissionais e por estarem, realmente, presentes em cada etapa desse trabalho.

Aos alunos de iniciação científica, Guilherme Gomes, Carolina Maniero, Rodrigo Alves, Beatriz Naimaite e José Tomba, pelo trabalho duro ao longo dos vários experimentos realizados e pela amizade. Vocês contribuíram muito para que este trabalho pudesse ser concluído com êxito.

Aos amigos de pós-graduação, Jéssica Pigatto, Fabiana Morbi, Isabô Melina, Renan Parecido e Fernando Guidorizzi, pelo companheirismo, amizade, auxílio nos experimentos e boas risadas durante esses dois anos de convivência.

Aos funcionários do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, Casimiro Alves, Ciro de Oliveira (Cirinho), Antônio Camargo, e aos funcionários das Fazendas de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) que estiveram presentes da semeadura a colheita do feijão, auxiliando nos tratos culturais e inúmeras avaliações realizadas ao longo deste trabalho.

Ao técnico Dorival de Arruda e aos estagiários do laboratório Relações Solo-Planta, Júlia Briquezi, Vinícius Vieira, Darieli Moreto e Thalia dos Santos, pelo auxílio nas análises laboratoriais.

À Dra. Mariangela Hungria e Dra. Paula Cerezini, pesquisadoras da Embrapa Soja, pelo oferecimento de treinamento e auxílio com as análises de ureídeos.

As funcionárias do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, Eliane Gonçalves, Valéria Giandoni, Amanda Bedette, Lara Brito e Adelina Gonçalves que sempre auxiliaram, de uma forma ou de outra, para que o projeto pudesse ser desenvolvido.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Agricultura), da Faculdade de Ciências Agrônomicas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCA/Unesp), pela oportunidade de realização do curso de mestrado e execução desta pesquisa.

A todo o corpo docente da pós-graduação, pelos conhecimentos transmitidos, orientações e incentivo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo apoio financeiro, concedido por meio de bolsa de mestrado (Processo nº 2016/07591-2).

À Embrapa Arroz e Feijão, Laboratório Farroupilha e Total Biotecnologia pela doação de sementes e inoculantes que foram utilizados neste trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) e aos professores da graduação, em especial ao meu primeiro orientador de iniciação científica Prof. Dr. Francisco Antonio Monteiro, meu muito obrigada. Essa escola, as pessoas que dela fazem parte e o árduo trabalho durante os cinco anos de graduação me proporcionaram a realização de um sonho com a obtenção do tão desejado título de Engenheira Agrônoma.

Aos amigos que fiz durante a graduação, em especial Rafaela Migliavacca, Clovis Pierozan, Silas Maciel e Gressa Chinelato, pela parceria, amizade e boas risadas.

Enfim, agradeço a todos aqueles que participaram direta ou indiretamente em alguma etapa ao longo deste percurso.

**Muito obrigada!**

*“E mesmo que meus passos sejam falsos, mesmo que os meus caminhos sejam errados, eu sei quem sou e pelo que devo lutar. Se você acha que meu orgulho é grande, é porque nunca viu o tamanho da minha fé!”*

José Dias Nunes (Tião Carreiro)



## RESUMO

Devido ao alto custo e baixa eficiência de aproveitamento dos fertilizantes nitrogenados pelas plantas, existe grande interesse em estratégias, como a fixação biológica de N<sub>2</sub> (FBN), para a redução da aplicação de nitrogênio (N) inorgânico nas culturas. A co-inoculação consiste na combinação de bactérias do gênero *Rhizobium* (simbióticas) com as do gênero *Azospirillum* (associativas), aos quais podem produzir efeito sinérgico proporcionando resultados superiores àqueles obtidos quando utilizadas de forma isolada. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da co-inoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, bem como da adubação nitrogenada de sementeira, no crescimento, nodulação, nutrição mineral e produtividade de grãos do feijoeiro comum. Foram conduzidos dois experimentos em condições de campo, durante as safras "das águas" e "da seca" do ano agrícola 2016/2017; e um experimento em condições de casa de vegetação durante o período de janeiro a março de 2017, no município de Botucatu-SP. Em todos os experimentos, o delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Foram estudadas nove formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura [1: controle absoluto (sem inoculação e sem N em cobertura); 2: 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; 3: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; 4: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; 5: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; 6: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; 7: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; 8: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; 9: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>], combinadas com a aplicação ou não de 20 kg ha<sup>-1</sup> N na sementeira. Em condições de casa de vegetação, o fornecimento de N, em sementeira ou cobertura, reduziu o número e a matéria seca de nódulos e aumentou o teor e o acúmulo de N na parte aérea do feijoeiro. A aplicação de N na base proporcionou incrementos em termos de matéria seca de parte aérea, comprimento radicular e matéria seca de raízes do feijão comum. A inoculação apenas com *A. brasilense*, combinada com o fornecimento de N na sementeira incrementou o número de nódulos e, sem N na sementeira, proporcionou maior matéria seca de nódulos e teor de ureídios no feijão "das águas". As co-inoculações com *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> e *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup> combinadas com adição de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na sementeira aumentaram a matéria seca de nódulos e teor de ureídios do feijoeiro comum na safra "das águas". A adição de N na sementeira incrementou os teores foliares de Ca e Mg, área foliar e matéria seca de parte aérea e reduziu o teor de N na parte aérea do feijoeiro. O fornecimento de N em cobertura aumentou o teor foliar de Zn e reduziu o índice relativo de clorofila. A aplicação de N em cobertura, com ou sem a adição do nutriente na base, aumentou o comprimento e a superfície radicular. Apesar da discrepância entre alguns tratamentos, as formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura não afetaram significativamente a produtividade de grãos do feijoeiro comum cultivado em sistema de sementeira direta.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*. *Rhizobium tropici*. *Azospirillum brasilense*. Fixação biológica de nitrogênio. Nutrição mineral. Produtividade de grãos.



## ABSTRACT

Due to the high cost and low use efficiency of nitrogen (N) fertilizers by plants, there is great interest in strategies to reduce N application in crops, such as biological N<sub>2</sub> fixation (BNF). Co-inoculation consists in combination of bacteria of the genus *Rhizobium* (symbiotics) with those of the genus *Azospirillum* (associatives), which can produce a synergistic effect, providing higher performance of the plants than those obtained using *Rhizobium* alone. The aim of this study was to evaluate the effect of co-inoculation with *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense*, as well as N fertilization at sowing, in growth, nodulation, mineral nutrition, and grain yield of common bean. Two experiments were conducted under field conditions in "spring" and "summer-fall" growing seasons of the 2016/2017 harvest, and an experiment under greenhouse conditions during the period from January to March of 2017, in Botucatu-SP, Brazil. In all experiments, the design was in randomized blocks, with four replications. Nine forms of inoculation/co-inoculation and topdressing N application were studied [1: absolute control (without inoculation and without topdressing N) 2: 60 kg ha<sup>-1</sup> of topdressing N in V4; 3: inoculation with *R. tropici* 2.5 × 10<sup>6</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 4: inoculation with *A. brasilense* 5.2 × 10<sup>4</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 5: inoculation with *A. brasilense* 2.5 × 10<sup>5</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 6: inoculation with *A. brasilense* 5.0 × 10<sup>5</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 7: co-inoculation *R. tropici* + *A. brasilense* 5.2 × 10<sup>4</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 8: co-inoculation *R. tropici* + *A. brasilense* 2.5 × 10<sup>5</sup> cells seed<sup>-1</sup>; 9: co-inoculation *R. tropici* + *A. brasilense* 5.0 × 10<sup>5</sup> cells seed<sup>-1</sup>], combined with the application or not of 20 kg ha<sup>-1</sup> of N at sowing furrow. Under greenhouse conditions, the N supply at sowing or topdressing reduced the number and dry matter of nodules and increased N concentration and accumulation in the common bean shoot. Nitrogen application at sowing provided increases in shoot dry matter, root length and root dry matter of common bean. The inoculation with *A. brasilense* alone, combined with the N supply at sowing increased the number of nodules and without N at sowing provided higher dry matter of nodules and ureides content in "spring" growing season. Co-inoculations with *R. tropici* + *A. brasilense* 2.5 × 10<sup>5</sup> cells seed<sup>-1</sup> and *R. tropici* + *A. brasilense* 5.2 × 10<sup>4</sup> cells seed<sup>-1</sup> combined with the application of 20 kg ha<sup>-1</sup> of N at sowing increased dry matter of nodules and ureides content of common bean in "spring" growing season. Addition of N at sowing increased the leaf concentrations of Ca and Mg, leaf area, and shoot dry matter and reduced the N concentration in the common bean shoot. Topdressing N application increased the leaf concentration of Zn and reduced the chlorophyll relative index. Topdressing N application, with or without N application at sowing furrow, increased the root length and surface. In spite of the discrepancy between some treatments, the inoculation/co-inoculation forms and topdressing N application did not affect significantly the grain yield of the common bean cultivated under a no-tillage system.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*. *Rhizobium tropici*. *Azospirillum brasilense*. Biological nitrogen fixation. Mineral nutrition. Grain yield.





## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Precipitação pluviométrica (■), irrigação (■), temperatura máxima (—) e temperatura mínima diária (—) entre os meses de agosto de 2016 a março de 2017, para o feijão cultivado nas safras “das águas” e “da seca” do ano agrícola 2016/2017..... 36



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Atributos químicos do solo, na profundidade de 0 a 0,20 m, antes da instalação dos experimentos, em cada safra de cultivo.....36
- Tabela 2 - Tratamentos aplicados no feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante as safras “das águas” e “da seca” do ano agrícola 2016/2017.....38
- Tabela 3 - Tratos fitossanitários realizados na cultura do feijão comum submetido a diferentes formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em cada safra de cultivo....40
- Tabela 4 - Atributos químicos do solo utilizado para experimento em condições de casa de vegetação durante o período de janeiro a março de 2017.....45
- Tabela 5 - Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de casa de vegetação.....48
- Tabela 6 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para número de nódulos (NN) e matéria seca de nódulos (MSN) do feijoeiro comum conduzido em condições de casa de vegetação.....49
- Tabela 7 - Comprimento radicular (CR), diâmetro médio de raízes (DMR), superfície radicular (SR) e matéria seca de raízes (MSR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de casa de vegetação.....50
- Tabela 8 - Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e teor de ureídeos nos pecíolos (TU) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....51
- Tabela 9 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e teor de ureídeos nos pecíolos (TU) do feijoeiro comum, em condições de campo durante a safra “das águas”.....52
- Tabela 10 - Teor dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....55

- Tabela 11 - Teor dos macronutrientes cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....56
- Tabela 12 - Teor dos micronutrientes cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....58
- Tabela 13 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para teor de cobre (Cu) e teor de ferro (Fe) na folha diagnóstica do feijoeiro conduzido em condições de campo nas safras “das águas” e “da seca”.....59
- Tabela 14 - Comprimento radicular (CR) e diâmetro médio de raízes (DMR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....60
- Tabela 15 - Superfície radicular (SR) e matéria seca de raízes (MSR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....61
- Tabela 16 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para comprimento radicular (CR) e superfície radicular (SR) do feijoeiro conduzido em condições de campo na safra “das águas”.....62
- Tabela 17 - Índice relativo de clorofila (IRC), área foliar (AF) e matéria seca de parte aérea (MSPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....63
- Tabela 18 - Teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....65
- Tabela 19 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) na safra “da seca”.....66

- Tabela 20 - População final de plantas (PF), número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV) e massa de 100 grãos (M100G) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....67
- Tabela 21 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para número de vagens por planta (NV) e número de grãos por vagem (NG) do feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante a safra “da seca” .....68
- Tabela 22 - Produtividade de grãos, teor de proteína bruta nos grãos (TPB) e produtividade de proteína bruta dos grãos (PPB) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, conduzido em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).....69
- Tabela 23 - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para produtividade de grãos e produtividade de proteína bruta (PPB) do feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante a safra “da seca” .....70



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1 Importância do feijão comum.....	24
2.2 Nitrogênio em feijoeiro.....	26
2.3 Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro comum.....	28
2.4 Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR).....	31
2.5 Co-inoculação de <i>Rhizobium</i> e <i>Azospirillum</i> na cultura do feijão comum.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Experimentos em condições de campo.....	35
3.1.1 Localização e caracterização edafoclimática das áreas experimentais.....	35
3.1.2 Caracterização da cultivar de feijão comum.....	37
3.1.3 Delineamento experimental e tratamentos.....	37
3.1.4 Instalação e condução dos experimentos.....	37
3.1.5 Avaliações.....	41
3.1.5.1 Avaliações realizadas em R6 (florescimento pleno).....	41
3.1.5.2 Avaliações realizadas no final do ciclo.....	42
3.2 Experimento em condições de casa de vegetação.....	44
3.2.1 Configuração experimental e condução do experimento.....	44
3.2.2 Avaliações.....	46
3.3 Análise estatística.....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1 Experimento em condições de casa de vegetação.....	47
4.1.1 Nodulação, matéria seca de parte aérea, teor e quantidade acumulada de N na parte aérea.....	47
4.1.2 Crescimento radicular.....	49
4.2 Experimentos em condições de campo.....	50
4.2.1 Nodulação e teor de ureídeos.....	50
4.2.2 Teor de macro e micronutrientes na folha diagnóstica.....	54
4.2.3 Crescimento radicular.....	59
4.2.4 Índice relativo de clorofila, área foliar, matéria seca de parte aérea, teor e quantidade de N acumulada na parte aérea.....	63

4.2.5 Componentes da produção, produtividade de grãos, teor e produtividade de proteína bruta.....	66
5 CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS.....	73



## 1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é o nutriente exigido em maior quantidade pelo feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). As principais fontes de N para a cultura do feijão são o solo, por meio da decomposição da matéria orgânica; a aplicação de adubos nitrogenados e a fixação biológica de N<sub>2</sub> atmosférico (FBN), quando em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*. Os fertilizantes nitrogenados apresentam elevado custo, alto gasto de fontes energéticas na sua fabricação, baixa eficiência de utilização pelas plantas e risco ambiental, uma vez que, parte do N aplicado pode ser perdido por diversas vias como desnitrificação, volatilização de amônia (NH<sub>3</sub>) e lixiviação de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

Dessa forma, existe grande interesse em estratégias que visem à redução na aplicação de adubos inorgânicos e, conseqüentemente, melhorias em termos de sustentabilidade nas áreas de produção agrícola. Uma alternativa para reduzir a necessidade de fertilizantes nitrogenados no feijoeiro é a FBN, que é realizada por um grupo restrito de bactérias denominadas diazotróficas (REIS, 2007). A fim de maximizar a FBN na cultura, vários estudos têm sido realizados para identificar estirpes eficientes de rizóbios capazes de suprir as exigências nutricionais da planta e que sejam geneticamente mais estáveis, boas competidoras por sítios de infecção em relação às estirpes nativas do solo, tolerantes a estresses e que apresentem boa sobrevivência e adaptação as condições edafoclimáticas tropicais. No campo, porém, os resultados com FBN em feijoeiro tem sido controversos, demonstrando a necessidade de outros estudos para viabilizar a prática de inoculação, possibilitando a redução ou eliminação da adubação nitrogenada mineral na cultura.

É possível que algumas bactérias, denominadas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR), dentre elas as do gênero *Azospirillum*, beneficiem o crescimento da planta por uma combinação de vários mecanismos. Segundo estudiosos, o aumento de produtividade pode ocorrer e é atribuído às seguintes hipóteses: (i) potencialização da nodulação e/ou a atividade dos nódulos (BURDMAN; HAMAOU; OKON, 2000; FERLINI, 2006); e/ou (ii) ampliação da superfície radicular e, assim, aumento do volume de solo explorado e absorção de N (FERLINI, 2006). Nesse sentido, outra técnica que começa a ser explorada na cultura do feijão comum é o uso associado de bactérias do gênero *Azospirillum* com as do gênero *Rhizobium*. Esta técnica é denominada co-inoculação ou inoculação mista, a qual é feita a fim de obter benefícios múltiplos, superiores àqueles

alcançados somente pela FBN via inoculação com *Rhizobium* (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008). No entanto, diversos fatores podem interferir na eficiência da inoculação/co-inoculação, dentre esses a aplicação de N inorgânico (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001). Trabalhos vêm demonstrando que pequenas doses de N na semeadura podem beneficiar o desenvolvimento do sistema radicular do feijoeiro, de forma a aumentar os sítios de infecção radicular e, conseqüentemente, a taxa de N fixado, porém os resultados ainda são controversos (TSAI et al., 1993; FULLIN et al., 1999; SOARES, 2011; FIGUEIREDO et al., 2016; BRITO; MURAOKA; SILVA, 2011; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003). Diante do exposto, em termos do emprego da técnica de co-inoculação, não se sabe ao certo qual das hipóteses mencionadas é mais importante para o benefício observado, bem como da compatibilidade entre inoculação/co-inoculação e adição de fertilizante nitrogenado na semeadura do feijoeiro comum, razão pela qual se propôs a realização desta pesquisa.

Sendo assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da co-inoculação com a bactéria simbiótica (*Rhizobium*) e a bactéria associativa (*Azospirillum*), bem como da adubação nitrogenada de semeadura, no crescimento, nodulação, nutrição mineral e produtividade de grãos do feijoeiro comum, e entender como a tecnologia pode beneficiar o desempenho da cultura.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Importância do feijão comum**

O feijoeiro é uma planta anual, originária das Américas, considerada como espécie não cêntrica, ou seja, não possui um centro específico de origem, mas sim centros de domesticação independentes (HARLAN, 1971). A espécie é uma dicotiledônea, pertencente à família *Fabaceae*, possui metabolismo C3 e sistema radicular pivotante com sua maior parte concentrada na camada 20 a 25 cm de profundidade. O ciclo do feijoeiro é dividido em fases vegetativa (V) e reprodutiva (R), que por sua vez são subdivididas em dez etapas ou estádios (V0, V1, V2, V3, V4, R5, R6, R7, R8 e R9) (FERNÁNDEZ; GEPTS, 1986). A espécie se desenvolve melhor em temperaturas amenas e apresenta baixo ponto de compensação luminosa (WILLIAN, 1973).

A cultura do feijão comum é um dos alimentos mais tradicionais na alimentação e culinária brasileiras, constituindo, juntamente com o arroz, a base da alimentação da população. Essa leguminosa apresenta alto teor de proteína (aproximadamente 25%), bom conteúdo de carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos com ação antioxidante que podem reduzir a incidência de doenças (ABREU, 2005), além de ser rico em ferro (BORÉM; CARNEIRO, 2006), sendo importante na dieta humana, principalmente, em países em desenvolvimento.

Conforme dados registrados pela FAO (2015), a produção mundial média de feijão no período de 1993 a 2014 foi 19,9 milhões de toneladas por ano. Os cinco principais países produtores de feijão, que juntos respondem por cerca de 56% da produção mundial são: Índia (17%), Brasil (15%), Myanmar (11%), China (8%) e Estados Unidos (6%). No Brasil, estima-se que foram cultivados 3,2 milhões de hectares de feijão, com produção próxima de 3,4 milhões de toneladas de grãos e produtividade média de  $1.069 \text{ kg ha}^{-1}$ , na safra 2016/2017. Os estados do Paraná e Minas Gerais destacam-se por apresentarem as maiores produções, 710.500 t e 535.000 t, respectivamente. Goiás e São Paulo, por sua vez, apresentaram as maiores produtividades,  $2507 \text{ kg ha}^{-1}$  e  $2434 \text{ kg ha}^{-1}$ , sendo muito superiores à média nacional (CONAB, 2017).

A produção de feijão é variável entre os anos, o que provoca perturbações e inconstância no cenário comercial brasileiro. Entre os principais fatores limitantes da produtividade da cultura do feijoeiro no país, destacam-se aqueles relacionados ao nível técnico empregado pelos produtores (CTSBF, 2012) e ao cultivo do feijoeiro em solos de baixa fertilidade, especialmente pobres em N (MERCANTE et al., 1999; PELEGRIN et al., 2009).

O feijoeiro comum é cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção, níveis tecnológicos distintos e em todas as regiões brasileiras (VALADÃO et al., 2009). Assim, a utilização e adaptação dessa cultura em um sistema de cultivo agrícola que visa à sustentabilidade na produção desperta interesse crescente, tanto de pesquisadores, como de agricultores. Nas principais regiões produtoras de feijão, o cultivo é realizado em três épocas distintas (safra “das águas”, “da seca” e “de inverno”), de acordo com o zoneamento agroclimático de cada região (MELO et al., 2007).

## 2.2 Nitrogênio em feijoeiro

O feijoeiro é considerado uma planta exigente em nutrientes, devido ao sistema radicular pouco desenvolvido e superficial e ao ciclo curto, sendo fundamental que os nutrientes sejam colocados à disposição da planta em tempo e local adequados (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994). Dentre os nutrientes exigidos pelo feijoeiro, o N é o mais absorvido (SORATTO et al., 2013) e desempenha diversas funções na planta, dentre elas: constituinte de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos (TAIZ; ZEIGER, 2013); participa dos processos de absorção iônica, fotossíntese, respiração, sínteses em geral, multiplicação e diferenciação celular, estimula o crescimento de raízes e a formação e o desenvolvimento de gemas floríferas e frutíferas (GRASSI FILHO, 2010). Portanto, a deficiência de N inibe, rapidamente, o crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2013).

As condições de alta temperatura e umidade, típicas de clima tropical, aceleram os processos de decomposição da matéria orgânica e perdas de N, resultando em solos com baixos teores do elemento, o que implica em necessidade de reposição do nutriente durante os ciclos de cultivo (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001). Por conseguinte, o uso de fertilizantes nitrogenados é uma prática comum para aumentar a produtividade da cultura e, ainda, alternativa para elevar o teor proteico dos grãos colhidos, melhorando o seu valor nutritivo (ARF, 1994). Porém, é responsável por elevar os custos da produção agrícola e pode gerar danos ao ambiente, uma vez que, parte do total aplicado é geralmente perdido (CHAVARRIA; MELLO, 2011). A eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados na produção das culturas anuais, como o feijoeiro, é em média de 50%, e as causas para esse baixo valor estão relacionadas com doses e épocas de aplicação inadequadas e também com as diversas vias pela qual o elemento pode ser perdido como: volatilização de amônia, desnitrificação, erosão, imobilização microbiana, lixiviação de nitrato e escoamento superficial, provocado pela água das chuvas e/ou irrigações (FAGERIA; BALIGAR, 2005; FURTINI et al., 2006; SANTOS; FAGERIA, 2007; LAGO et al., 2009; REIS JUNIOR et al., 2011). O N perdido nesse último processo é altamente poluente e, uma vez carregado, pode provocar a contaminação de aquíferos subterrâneos, rios e lagos (STRALIOTTO; TEIXEIRA; MERCANTE, 2002).

A recomendação de adubação nitrogenada, comumente adotada para a cultura do feijão, tem sido a aplicação de parte do N no sulco, juntamente ao fósforo (P) e

ao potássio (K) por ocasião da semeadura, e parte em cobertura (AMBROSANO et al., 1997; BARBOSA FILHO; FAGERIA; SILVA, 2005; VIEIRA, 2006). Porém, em alguns casos, a utilização de doses elevadas de N no sulco de semeadura, especialmente associadas à adubação potássica, pode comprometer a população de plantas (SANTOS; FAGERIA, 2007). A aplicação em cobertura onera o custo de produção e pode provocar danos à cultura, em razão do tráfego de maquinário agrícola (KLUTHCOUSKI et al., 2006).

Os boletins técnicos para recomendações de adubação, geralmente, preconizam doses de 0 a 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura do feijoeiro comum e 20 a 90 kg ha<sup>-1</sup> do nutriente em cobertura até os 30 dias após a emergência das plantas (AMBROSANO et al., 1997; SOUZA; LOBATO, 2004). No entanto, para os cultivos irrigados, de alta produtividade, tem-se verificado resposta do feijoeiro a doses de N superiores a 120 kg ha<sup>-1</sup> (OLIVEIRA; FAGERIA, 2003).

Meira et al. (2005), ao estudarem doses e épocas de aplicação de N em feijoeiro irrigado cultivado em sistema plantio direto, concluíram que a máxima produtividade de grãos foi obtida com 164 kg ha<sup>-1</sup> de N, independentemente do estágio de desenvolvimento em que o elemento foi aplicado. Já Valderrama et al. (2009), com o objetivo de avaliar o efeito de doses e fontes de N e P sobre os componentes de produção e a produtividade do feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto, observaram que houve efeito linear crescente na produtividade de grãos de feijão com o aumento da dose de N, sendo que a maior dose (120 kg ha<sup>-1</sup> de N) proporcionou incremento de 14,5% em relação a dose zero. Soratto et al. (2017), avaliando o efeito da densidade de plantas e da adubação nitrogenada na nutrição e desempenho produtivo das cultivares de feijoeiro IPR 139 e Pérola, verificaram que com incremento nas doses de N (até 180 kg N ha<sup>-1</sup>) houve aumento linear da produtividade de grãos, em ambas as cultivares de feijão comum, independentemente da densidade de plantas.

No entanto, muitas leguminosas podem estabelecer uma relação simbiótica com bactérias específicas, que são comumente chamadas de rizóbios. O feijoeiro, sendo uma leguminosa, apresenta condições de se beneficiar da FBN, quando em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (DÖBEREINER; DUQUE, 1980). Esse é um mecanismo biológico capaz de substituir, pelo menos parcialmente, a adubação nitrogenada, com conseqüente redução dos custos de produção,

resultando em benefício para o agricultor (STRALIOTTO; TEIXEIRA; MERCANTE, 2002).

### **2.3 Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro comum**

O ar atmosférico é, na realidade, uma mistura de gases, composto por N (78%), oxigênio (21%), dióxido de carbono (0,03%) e outros gases (0,97%). Embora o N<sub>2</sub> seja abundante, nenhum animal ou planta consegue utilizá-lo como nutriente devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos de N, que é uma das mais fortes de que se tem conhecimento na natureza (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; FAGAN et al., 2007; HOFFMAN et al., 2014). No entanto, microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos, que podem ser de vida livre, estar associados a espécies vegetais ou estabelecer simbiose com leguminosas (MOREIRA et al., 2010), possuem um complexo enzimático (nitrogenase) que lhes permite capturar o N atmosférico, reduzi-lo à amônia e, em seguida, incorporá-la às formas de N que podem ser assimiladas pela planta hospedeira (HUNGRIA et al., 2005, 2006a, b).

Na associação com leguminosas, a bactéria (rizóbio) tem como característica principal a capacidade de interação com o sistema radicular da planta hospedeira por meio do desenvolvimento de estruturas hipertróficas altamente especializadas, os nódulos radiculares, local onde ocorre a FBN. Essa interação representa uma simbiose, ou, mais especificamente, uma interação mutualística, já que a bactéria se beneficia do suprimento de fotossintatos fornecidos pela planta hospedeira, enquanto a planta recebe o N fixado pelo rizóbio na forma amoniacal, transformando-o em compostos nitrogenados que podem ser translocados para suas diferentes partes (CASSINI; FRANCO, 2006). O metabolismo da bactéria diazotrófica e da planta se complementam, sendo que cada qual estimula o outro a produzir substâncias específicas para que a associação aconteça (KERBAUY, 2008).

A nodulação é um processo complexo que tem início logo após a germinação, com a presença do rizóbio no solo ou aderido às sementes, e envolve três etapas principais (CASSINI; FRANCO, 2006): a) pré-infecção (reconhecimento dos simbioss e interação entre superfícies da bactéria e da planta); b) infecção da planta pela bactéria e formação do nódulo e c) funcionamento do nódulo e FBN (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A incorporação de N via FBN, aos diferentes ecossistemas do planeta, é bastante significativa, resultando em uma economia substancial de energia fóssil normalmente empregada na produção de fertilizantes nitrogenados necessários para atender a demanda da agricultura mundial (ALCÂNTARA et al. 2009), representando redução dos custos de produção e contribuindo para a preservação do ambiente (HUNGRIA; VARGAS, 2000).

Apesar do feijoeiro comum ser considerado pouco eficiente na FBN, resultados de pesquisa obtidos em condições de campo indicam que é possível a planta se beneficiar da inoculação com rizóbio e atingir níveis de produtividade entre 1500 e 2000 kg ha<sup>-1</sup> (STRALIOTTO, 2003). Acredita-se que a FBN não é capaz de suprir todo o N necessário para a obtenção de elevados rendimentos de grãos pelo feijoeiro devido à falta de carboidratos para suportar altas taxas de FBN após o início da fase reprodutiva, época de maior demanda por N pela cultura. Nesse momento, toda a atividade metabólica da planta é direcionada para suportar o crescimento dos órgãos reprodutivos e, conseqüentemente, não há fornecimento adequado de carboidratos para suprir a FBN (LAWN; BRUN, 1974; MOREIRA; STONE; BIAVA, 2003).

De acordo com Malavolta (1987), o feijoeiro consegue fixar de 20 a 30% do N que necessita através da FBN, podendo contribuir com 20 a 40 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). Esses valores estão de acordo com aqueles verificados por Raposeiras et al. (2006), que ao conduzirem estudos envolvendo a competitividade de cepas de rizóbio na nodulação do feijão concluíram que a inoculação com as estirpes de *R. tropici* SLA 2.2 e CIAT 899 contribuíram para obtenção de produtividades comparáveis as observadas com a utilização de 20 a 40 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Várias espécies pertencentes ao gênero *Rhizobium* são reportadas na literatura como sendo capazes de nodular e fixar N<sub>2</sub> em simbiose com plantas de feijão comum, dentre elas: *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984); *R. tropici* (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991); *R. etli* bv. *phaseoli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTÍNEZ-ROMERO, 1993); *R. Gallicum* (bv. *gallicum* e bv. *phaseoli*); *R. giardinii* (bv. *giardinii* e bv. *phaseoli*) (AMARGER; MACHERET; LAGUERRE, 1997) e *R. leucaenae* (RIBEIRO et al., 2012). No entanto, problemas relacionados à instabilidade genética de muitas estirpes de rizóbio podem causar perdas na eficiência ou na capacidade de nodulação durante períodos de estresse (PEREIRA

et al., 1984;.. PELEGRIN et al., 2009). Estudos demonstraram que estirpes de *R. tropici* são consideradas mais tolerantes a estresses, como temperatura elevada e acidez do solo, e são simbioticamente mais estáveis (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991). Por esse motivo, essa espécie é recomendada para produção de inoculantes comerciais para a cultura do feijoeiro comum no Brasil (STRALIOTTO, 2002; BRITO; MURAOKA; SILVA, 2011).

*Rhizobium tropici* são bactérias gram-negativas, aeróbicas, na qual as condições ótimas para o crescimento são pH de 5 a 7 e temperatura de até 40 °C (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991). Existem estirpes de *R. tropici* com alto desempenho em FBN, selecionadas para as condições edafoclimáticas brasileiras e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento (MAPA) para a produção de inoculantes comerciais no Brasil (HUNGRIA; MENDES; MERCANTE, 2013). As estirpes recomendadas e aprovadas pelo MAPA para inoculação do feijoeiro comum no Brasil são: SEMIA 4077 (=CIAT 899), SEMIA 4080 (=PRF 81) e SEMIA 4088 (=H 12) (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

A recomendação técnica para a cultura do feijão, quando a inoculação for feita via semente, é que a dose de inoculante forneça pelo menos  $1,2 \times 10^6$  células semente<sup>-1</sup>; já quando a inoculação for realizada no sulco de semeadura, a concentração deve ser maior, no mínimo  $2,5 \times 10^6$  células semente<sup>-1</sup>. Inoculantes à base de *Rhizobium* devem conter, até a data de vencimento, no mínimo,  $1 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia (ufc) por g ou mL do produto (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

Diversos fatores biológicos, químicos e físicos podem interferir na simbiose entre bactérias e planta, dentre eles: temperatura, umidade, salinidade, uso de fertilizantes nitrogenados, efeito de toxicidade de fungicidas e inseticidas aplicados às sementes, solos ácidos, preparo do solo, deficiências nutricionais e elementos tóxicos; além das características da espécie hospedeira (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001). No caso do feijoeiro comum, a existência generalizada e diversificada de rizóbios nativos nos solos, que interagem diferencialmente com os diversos cultivares utilizados, acarreta variabilidade de resposta à inoculação e constitui um fator limitante a FBN (CASSINI; FRANCO, 2006). Por conseguinte, a FBN em feijoeiro comum tem demonstrado certa instabilidade em cultivos em condições de campo (MOSTASSO et al., 2002; HAFEEZ et al., 2005).



A demanda energética para a FBN é alta, representando um dos processos metabólicos mais caros para a planta; por isso, não é observada fixação eficiente na presença de fontes de N mineral, uma vez que o N do fertilizante está prontamente disponível e será preferencialmente absorvido, em detrimento da FBN (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). De maneira geral, aplicações de doses elevadas de N, principalmente na semeadura, prejudicam a nodulação e a FBN (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Brito, Muraoka e Silva (2011) avaliaram doses de N entre 5,3 e 160 kg ha<sup>-1</sup> e observaram que a porcentagem de N proveniente da FBN era inversamente proporcional à dose de N mineral aplicada.

Com relação ao efeito do N aplicado na semeadura do feijoeiro comum, tem sido observado que pequenas doses de N na semeadura, como adubação de arranque, beneficiam o desenvolvimento do sistema radicular do feijoeiro, de forma a aumentar os sítios de infecção radicular e, assim, beneficiar as bactérias inoculadas às sementes e, conseqüentemente, aumentar a taxa de N fixado (TSAI et al., 1993). Tal fato foi evidenciado com doses de 10 kg ha<sup>-1</sup> de N (FULLIN et al., 1999), 20 kg ha<sup>-1</sup> de N (SOARES, 2011; FIGUEIREDO et al., 2016) e 40 kg ha de N (BRITO; MURAOKA; SILVA, 2011). Entretanto, Hungria, Campo e Mendes (2003), avaliando os efeitos da inoculação e adição de fertilizante nitrogenado no feijoeiro comum cultivar IAPAR 14, verificaram que a aplicação de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura proporcionou redução na nodulação das plantas de feijão. Diante desses resultados controversos, verifica-se a necessidade de outros estudos em condições de campo visando avaliar a utilização conjunta de inoculação e N mineral na semeadura do feijoeiro comum.

#### **2.4 Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR)**

Há uma associação constante entre plantas e microrganismo habitantes do solo, numa região denominada rizosfera, que consiste na zona de solo próxima às raízes. Nessa região existe intensa atividade microbiana devido à presença de exsudados radiculares (HARTMANN; ROTHBALLER; SCHMID, 2008). A diversidade de organismos que vivem na rizosfera propicia uma variedade de interações entre a microbiota do solo e as plantas. Os microrganismos da rizosfera são classificados como: neutros, benéficos ou deletérios para o crescimento das plantas (RAAIJMAKERS et al., 2008).

As bactérias benéficas, as quais promovem o crescimento vegetal, são denominadas de PGPR e podem ser isoladas tanto da rizosfera como do interior dos tecidos das plantas (DODD; ZINOVKINA; SAFRONOVA, 2010). Dentre os microorganismos tidos como PGPR, as espécies do gênero *Azospirillum* constituem um dos grupos mais estudados (HARTMANN; BALDAM, 2006). As bactérias do gênero *Azospirillum* tiveram destaque mundial a partir da década de 1970, com a descoberta pela pesquisadora da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), da capacidade de FBN dessas bactérias quando em associação com gramíneas (HUNGRIA, 2011).

*Azospirillum* são bactérias gram-negativas; de vida livre no solo, rizosfera, rizoplano e filosfera; espiraladas; móveis, com flagelo polar e cílios laterais; com metabolismo de carbono e N bastante versáteis, o que lhes confere competitividade durante o processo de colonização. Utilizam no seu metabolismo fontes de N como amônia, nitrato, nitrito, aminoácidos e N molecular. A forma de ação dessas bactérias ainda não foi totalmente compreendida. Até o momento, sabe-se que possuem capacidade de fixar N atmosférico quando associadas com plantas da família *Poaceae*. Inicialmente foram consideradas como bactérias exclusivamente tropicais, mas apesar de terem preferência pelas áreas quentes, também foram encontradas em clima temperado, sendo atualmente denominadas de cosmopolitas (DROZDOWICZ, 1997; ELMERICH; NEWTON, 2007). O *Azospirillum* é um colonizador geral de raízes; sendo assim, não é uma bactéria específica, uma vez que não apresenta preferência por plantas cultivadas, daninhas, anuais ou perenes (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

O estímulo ao crescimento da planta pode ocorrer por diversas razões, entre elas: síntese dos fitormônios auxinas, citocininas (TIEN; GASKINS; HUBBELL, 1979), giberilinas (BOTTINI et al., 1989) e etileno (STRZELCZYK; KAMPERT; LI, 1994); produção de maior quantidade de flavonoides e isoflavonoides, os quais estimulam a nodulação (BURDMAN et al. 1996); solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2004); aumento da resistência a condições adversas como seca, salinidade e compostos tóxicos; aumento da permeabilidade da raiz e melhorias na absorção de nutrientes em geral (BASHAN; BASHAN, 2005); influência sob a FBN (HUERGO et al., 2008); aumento da atividade da redutase do nitrato (CASSÁN; GARCIA DE SALAMONE, 2008) e atuação no controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008).

Estudos têm demonstrado que a habilidade das PGPR em promover o crescimento vegetal é altamente específica para certas espécies, cultivares e genótipos de plantas (BASHAN, 1998). Segundo Okon e Labandera-Gonzales (1994), bactérias do gênero *Azospirillum* estimulam a densidade e comprimento dos pêlos radiculares, a taxa de aparecimento de raízes laterais e área de superfície das raízes; sendo que a intensidade desses efeitos sobre a morfologia radicular é dependente da espécie de planta e cultivar e, mais importante, da concentração de inóculo. Concentrações elevadas de inóculo podem prejudicar o alongamento de raízes (OKON; KAPULNIK, 1986), bem como o crescimento da planta (BURDMAN et al., 1997), além de reduzir a massa fresca de raízes (VEDDER-WEISS et al., 1999).

As estirpes de *Azospirillum brasilense* selecionadas e aprovadas pelo MAPA para produção de inoculantes comerciais no Brasil são Ab-V5 e Ab-V6. A exigência legal para inoculantes contendo *Azospirillum* é dez vezes menor do que para aqueles à base de rizóbios; portanto,  $1 \times 10^8$  ufc g<sup>-1</sup> ou mL<sup>-1</sup> do produto comercial (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

## **2.5 Co-inoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* na cultura do feijão comum**

Com o intuito de melhorar o desempenho do rizóbio e, conseqüentemente, a eficiência da FBN no feijoeiro comum, dentre outros benefícios, a técnica de co-inoculação ou inoculação mista começa a ser explorada na cultura. A co-inoculação consiste na combinação de bactérias do gênero *Rhizobium* (simbióticas) com as do gênero *Azospirillum* (associativas), aos quais produzem efeito sinérgico que superam os resultados produtivos obtidos quando utilizadas de forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008).

A co-inoculação de *A. brasilense* e estirpes de rizóbios tem demonstrado que essa classe de microorganismos, tidos como PGPR, pode influenciar de forma positiva algumas leguminosas (DARDANELLI et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2010). Durante as últimas décadas, o uso de PGPR vem se tornando comum em países como Argentina e África do Sul, resultando em aumento expressivo no crescimento e produtividade de culturas de importância agrônômica (REIS, 2007). O uso de fixadores eficazes de N<sub>2</sub> juntamente com microorganismos promotores do crescimento vegetal tem se mostrado economicamente viável e ambientalmente seguro. Os incrementos na produtividade das culturas observados com a co-inoculação representam, simultaneamente, um elevado ganho monetário para o

agricultor, além de contribuir com os compromissos governamentais em diminuir as emissões de gases do efeito estufa (HUNGRIA; MENDES; MERCANTE, 2013).

O aumento de produtividade pode ocorrer e é atribuído à potencialização da nodulação e/ou a atividade dos nódulos (BURDMAN; HAMAOU; OKON, 2000; FERLINI, 2006) e/ou à ampliação da superfície radicular e, assim, aumento do volume de solo explorado e absorção de N (FERLINI, 2006). Entretanto, não se sabe ao certo qual das hipóteses mencionadas é mais importante para o benefício observado.

O *Azospirillum* tem uma forte atração microaerofílica ao nicho rizosférico das raízes das leguminosas e mobilidade mais rápida do que *Rhizobium*; sendo assim, as raízes das leguminosas podem ser ocupadas primeiramente por *Azospirillum*, permitindo pré-condicionamento das mesmas para colonização mais eficaz pelo *Rhizobium* (OKON; ITZIGSOHN, 1995). Volpin e Kapulnik (1994), a partir de uma revisão de literatura, relataram que na presença do *Azospirillum* spp., obteve-se nodulação precoce, aumento no número e matéria seca de nódulos e potencialização da atividade dos nódulos em soja [*Glycine max* (L.) Merrill], alfafa (*Medicago sativa* L.) e outras espécies.

A co-inoculação estimula a nodulação e potencializa a atividade dos nódulos, número total e massa de nódulos, diferenciação das células epidérmicas em pêlos radiculares, área da superfície radicular e produtividade em soja, feijão, alfafa, amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e outras culturas (BASHAN; BASHAN, 2005).

O maior desenvolvimento do sistema radicular do feijoeiro, em decorrência da inoculação de *Azospirillum* spp., foi constatado por German et al. (2000), que obtiveram aumento em 95 e 66% do comprimento e peso fresco de raízes, em relação ao tratamento sem inoculação.

Hungria, Nogueira e Araujo (2013), ao conduzirem experimentos com feijoeiro em dois locais (Londrina e Ponta Grossa) e por três estações de cultivo (2009/2010, 2010 e 2010/11), observaram que a co-inoculação de *R. tropici*, via sementes, e *A. brasilense*, via sulco de semeadura, resultou em aumento na produtividade de grãos, em média de 19,6% em comparação com a população de rizóbios nativos, e 14,7% quando comparado com a inoculação exclusivamente com rizóbios.

Diante do exposto, a produção agrícola pode ser melhorada com o emprego de microrganismos, os quais, já representam importantes ferramentas no cenário atual e, provavelmente, terão ainda mais destaque num futuro próximo. Dentre essas, a

inoculação de bactérias fixadoras de N, simbióticas e assimbióticas, isoladas ou co-inoculadas, fornece N às plantas, reduzindo o uso de adubos nitrogenados e, com isso, os custos de produção; além de contribuir para a preservação do ambiente. Contudo, os resultados acerca de inoculação/co-inoculação na cultura do feijão comum e sua compatibilidade com a adubação nitrogenada de semeadura ainda são incipientes e contraditórios, demonstrando a necessidade da realização de outros estudos envolvendo essa temática.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

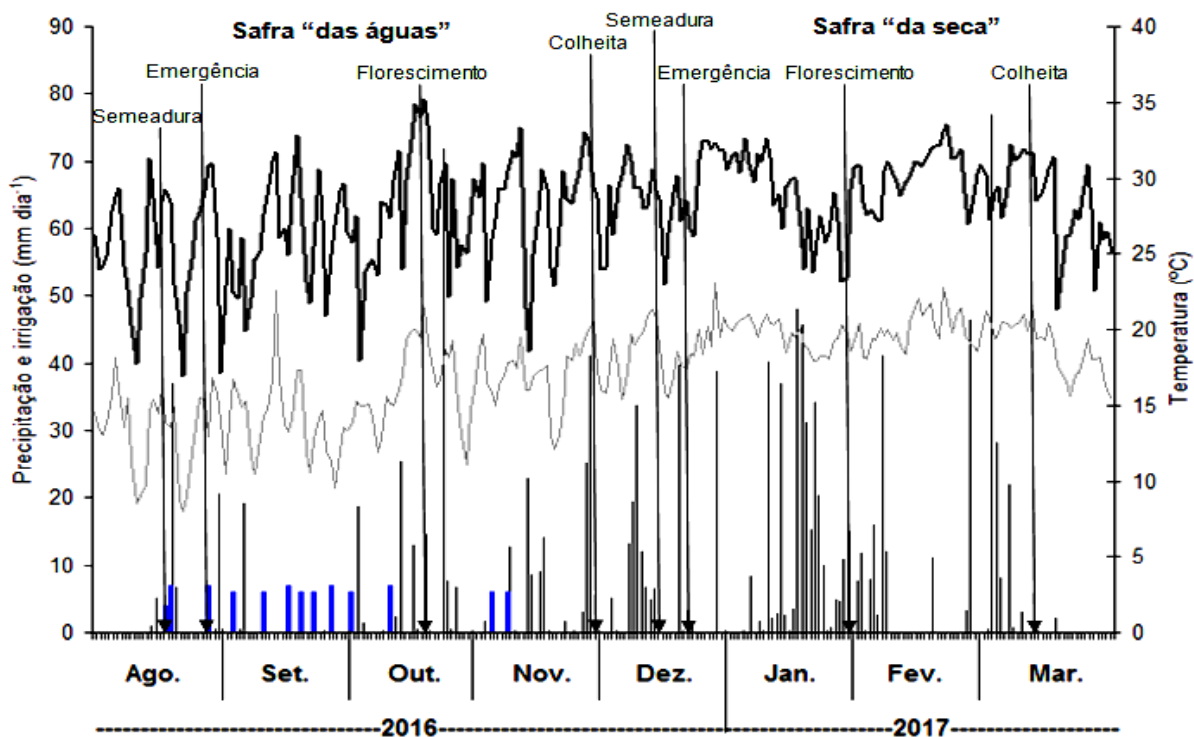
O presente trabalho foi composto por três experimentos, sendo dois em condições de campo durante as safras “das águas” (primeira safra) e “da seca” (segunda safra), do ano agrícola 2016/2017, e um em condições de casa de vegetação, durante o período de janeiro a março de 2017.

#### **3.1 Experimentos em condições de campo**

##### **3.1.1 Localização e caracterização edafoclimática das áreas experimentais**

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo, na Fazenda Experimental Lageado, da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA/UNESP), campus de Botucatu, no município de Botucatu-SP, latitude 22°51' S, longitude 48°26' W e altitude de 740 m, durante as safras “das águas” e “da seca” do ano agrícola 2016/2017. Segundo a classificação de Köeppen, o clima da região é Cwa, que se caracteriza pelo clima tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e chuvoso (LOMBARDI NETO; DRUGOWICH, 1994). Os dados climáticos registrados durante a condução dos experimentos estão apresentados na Figura 1.

Mediante levantamento detalhado realizado por Carvalho, Espindola, Paccola (1983) e utilizando-se o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013), o solo das áreas experimentais foi classificado como Nitossolo Vermelho distroférico e Latossolo Vermelho distroférico, para os experimentos conduzidos nas safras “das águas” e “da seca”, respectivamente. Antes da instalação dos experimentos, em cada safra de cultivo, foram coletadas amostras de solo na camada de 0 a 0,20 m de profundidade para a análise química, segundo metodologia proposta por Raij et al. (2001), cujos resultados estão apresentados na Tabela 1.



**Figura 1** - Precipitação pluviométrica (■), irrigação (■), temperatura máxima (—) e temperatura mínima diária (—) entre os meses de agosto de 2016 a março de 2017, para o feijão cultivado nas safras “das águas” e “da seca” do ano agrícola 2016/2017.

**Tabela 1** - Atributos químicos do solo, na profundidade de 0 a 0,20 m, antes da instalação dos experimentos, em cada safra de cultivo.

Experimento	pH(CaCl <sub>2</sub> )	M.O.	P(resina)	S	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	V
		g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	—	—	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	—	—	—	%
“Águas”	4,8	25	33	7	26	3,9	21	12	63	59
“Seca”	5,2	27	22	14	35	6,8	38	17	96	63
		<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>			<b>Zn</b>			
		mg dm <sup>-3</sup>								
“Águas”		10	10	27			2,3			
“Seca”		12	19	26			2,4			

Previamente à instalação dos experimentos, foi realizada coleta de amostras de solo da camada 0 a 0,20 m, para a estimativa do número de células viáveis de rizóbios no solo, conforme metodologia proposta por Vincent (1970), cujos resultados foram  $2,397 \times 10^4$  rizóbios g<sup>-1</sup> para a safra “das águas” e  $3,570 \times 10^1$  rizóbios g<sup>-1</sup> para a safra “da seca”.

### 3.1.2 Caracterização da cultivar de feijão comum

A cultivar BRS Estilo apresenta as seguintes características: grupo carioca; hábito de crescimento indeterminado (tipo II); arquitetura de planta ereta, ciclo normal (85 – 95 dias); floração média de 44 dias; grãos mais claros do que os da cultivar Pérola (bege claro), mas com forma semelhante; massa de 100 grãos igual a 26 gramas; resistência moderada à antracnose e ferrugem; suscetível ao crestamento bacteriano, mancha angular, mosaico dourado, murcha de fusarium e murcha de *curtobacterium* (EMBRAPA, 2014).

### 3.1.3 Delineamento experimental e tratamentos

Em ambos os experimentos o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por nove formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura, combinadas com a aplicação ou não de N na semeadura (20 kg ha<sup>-1</sup> de N) (Tabela 2).

Cada parcela experimental possuía as dimensões de 6 × 3,60 m, perfazendo uma área de, aproximadamente, 22 m<sup>2</sup>, na qual foram semeadas oito fileiras de feijão espaçadas de 0,45 m e a distância entre parcelas era de 1 m, para evitar contaminações. Para as avaliações foram consideradas as quatro linhas centrais desprezando 0,5 m na extremidade de cada fileira de plantas e uma fileira de cada lado da unidade experimental.

### 3.1.4 Instalação e condução dos experimentos

Os experimentos foram instalados em sistema plantio direto, em áreas anteriormente ocupadas pelas culturas de milho [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.], na safra “das águas”, e braquiária [*Urochloa ruziziensis* (R. Germ. & C.M. Evrard) Morrone & Zuloaga (syn. *Brachiaria ruziziensis*)], na safra “da seca”. O manejo das áreas foi realizado cerca de 15 dias antes da semeadura do feijão, por meio da dessecação das plantas com herbicida glifosato nas doses de 1440 g ha<sup>-1</sup> do ingrediente ativo (i.a.), na safra “das águas”, e 2880 g do i.a. ha<sup>-1</sup>, na safra “da seca”, e uniformização mecânica utilizando triturador de palha.

**Tabela 2** - Tratamentos aplicados no feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante as safras “das águas” e “da seca” do ano agrícola 2016/2017.

Trat.	Descrição	— células semente <sup>-1</sup> —		Aplicação de N
		<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i>	
T0	Controle absoluto (sem inoculação e sem adubação com N)	-	-	-
T1	Com N (sem inoculação e com 60 kg ha <sup>-1</sup> de N)	-	-	60 kg ha <sup>-1</sup> de N em V4
T2	Inoculação com <i>R. tropici</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	-	-
T3	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	5,2 × 10 <sup>4</sup>	-
T4	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	2,5 × 10 <sup>5</sup>	-
T5	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	5,0 × 10 <sup>5</sup>	-
T6	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	5,2 × 10 <sup>4</sup>	-
T7	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	2,5 × 10 <sup>5</sup>	-
T8	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	5,0 × 10 <sup>5</sup>	-
T9	Controle com N (sem inoculação e com 20 kg ha <sup>-1</sup> de N)	-	-	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T10	Com N (sem inoculação e com 80 kg ha <sup>-1</sup> de N)	-	-	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura e 60 kg ha <sup>-1</sup> de N em V4
T11	Inoculação com <i>R. tropici</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	-	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T12	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	5,2 × 10 <sup>4</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T13	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	2,5 × 10 <sup>5</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T14	Inoculação com <i>A. brasilense</i>	-	5,0 × 10 <sup>5</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T15	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	5,2 × 10 <sup>4</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T16	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	2,5 × 10 <sup>5</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura
T17	Co-inoculação <i>R. tropici</i> + <i>A. brasilense</i>	2,5 × 10 <sup>6</sup>	5,0 × 10 <sup>5</sup>	20 kg ha <sup>-1</sup> de N na semeadura

A semeadura do feijão no primeiro experimento foi realizada no dia 18/08/2016 e no segundo experimento no dia 14/12/2016, com o auxílio de uma semeadora-adubadora tratorizada modelo SHP 249, marca Semeato, regulada com



espaçamento de 0,45 m entre fileiras e densidade de 14 sementes por metro (“águas”) e 16 sementes por metro (“seca”).

Na safra “das águas”, as sementes foram tratadas com o fungicida carboxina + tiram (60 + 60 g do i.a. por 100 kg de sementes), com o inseticida tiametoxam (105 g do i.a. por 100 kg de semente) e cobalto + molibdênio (4,7 + 47 g por 100 kg de sementes) dois dias antes da semeadura. Já na semeadura “da seca”, as sementes foram tratadas com o fungicida difenoconazol (5 g do i.a por 100 kg de sementes) e com o inseticida tiametoxam (105 g do i.a. por 100 kg de semente) dois dias antes da semeadura. O fornecimento de cobalto (3,53 g ha<sup>-1</sup>) e molibdênio (35,25 g ha<sup>-1</sup>) para o feijão “da seca” foi feito via aplicação foliar, com auxílio de um pulverizador tratorizado, quando as plantas alcançaram o estágio V4.

A adubação de semeadura constou da aplicação, em todos os tratamentos, de 60 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 50 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio), de acordo com as recomendações de Ambrosano et al. (1997). A adubação nitrogenada de semeadura (20 kg ha<sup>-1</sup> de N) foi realizada apenas nos tratamentos 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 17. A aplicação de N em cobertura no estágio V4 (60 kg ha<sup>-1</sup> de N) foi feita somente nos tratamentos 1 e 10 (Tabela 2). A fonte de N utilizada foi o nitrato de amônio (32% N). Os demais tratamentos não receberam adubação nitrogenada.

A inoculação das sementes de feijão com *Rhizobium tropici* SEMIA 4088 e *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 foi feita via inoculante líquido na safra “das águas” e via inoculante turfoso na safra “da seca”. A mistura dos inoculantes às sementes, nas doses propostas em cada um dos tratamentos, foi realizada a sombra, imediatamente (1 a 3 horas) antes da semeadura. A emergência das plântulas ocorreu em 28/08/2016 (10 dias após a semeadura (DAS)) “nas águas” e em 21/12/2016 (7 DAS) “na seca”.

O controle de plantas daninhas foi realizado através da associação do método químico e de capinas manuais durante o crescimento e desenvolvimento da cultura. Com relação ao controle de pragas e doenças, foi feito através do monitoramento da cultura, utilizando pulverizador tratorizado e produtos recomendados para o feijoeiro. Todos os tratamentos fitossanitários realizados na cultura do feijão comum, nas safras “das águas” e “da seca”, bem como ingredientes ativos e doses aplicadas, estão descritos na Tabela 3.

**Tabela 3** - Tratos fitossanitários realizados na cultura do feijão comum submetido a diferentes formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em cada safra de cultivo.

Data	Classe	Ingrediente ativo (concentração)	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )
<u>Safra “das águas”</u>			
05/09/16	Herbicida	Fomesafem (250 g L <sup>-1</sup> )	125
05/09/16	Herbicida	Fluazifope-p-butílico (250 g L <sup>-1</sup> )	175
05/09/16	Inseticida	Tiametoxam (250 g kg <sup>-1</sup> )	37,5
12/09/16	Herbicida	Fomesafem (250 g L <sup>-1</sup> )	175
12/09/16	Herbicida	Fluazifope-p-butílico (250 g L <sup>-1</sup> )	175
15/09/16	Fungicida	Azoxistrobina (200 g L <sup>-1</sup> ) + Difenoconazol (125 g L <sup>-1</sup> )	100 + 62,5
28/09/16	Herbicida	Bentazona (600 g L <sup>-1</sup> ) + Imaxamoxi (28 g L <sup>-1</sup> )	540 + 25,2
28/09/16	Herbicida	Tepraloxidim (200 g L <sup>-1</sup> )	75
30/09/16	Inseticida	Tiametoxam (200 g L <sup>-1</sup> ) + Clorotraniliprole (100 g L <sup>-1</sup> )	50 + 25
05/10/16	Fungicida	Tiofanato-metílico (200 g kg <sup>-1</sup> ) + Clorotalonil (500 g kg <sup>-1</sup> )	300 + 750
07/11/16	Fungicida	Piraclostrobina (250 g L <sup>-1</sup> )	75
07/11/16	Inseticida	Tiametoxam (141 g L <sup>-1</sup> ) + Lambda-cialotrina (106 g L <sup>-1</sup> )	21,2 + 15,9
21/11/16	Herbicida (dessecação pré-colheita)	Glufosinato - sal de amônio (200 g L <sup>-1</sup> )	400
<u>Safra “da seca”</u>			
03/01/17	Inseticida	Tiametoxam (250 g kg <sup>-1</sup> )	50
03/01/17	Fungicida	Azoxistrobina (200 g L <sup>-1</sup> ) + Difenoconazol (125 g L <sup>-1</sup> )	100 + 62,5
09/01/17	Herbicida	Fomesafem (250 g L <sup>-1</sup> )	175
09/01/17	Herbicida	Fluazifope-p-butílico (250 g L <sup>-1</sup> )	175
13/01/17	Herbicida	Fomesafem (250 g L <sup>-1</sup> )	150
13/01/17	Herbicida	Fluazifope-p-butílico (250 g L <sup>-1</sup> )	175
20/01/17	Fungicida	Tiofanato-metílico (200 g kg <sup>-1</sup> ) + Clorotalonil (500 g kg <sup>-1</sup> )	400 + 1000
20/01/17	Inseticida	Acefato (750 g kg <sup>-1</sup> )	562,5
06/02/17	Fungicida	Procimidona (500 g kg <sup>-1</sup> )	750
06/02/17	Inseticida	Clorotraniliprole (200 g L <sup>-1</sup> )	10
16/02/17	Inseticida	Flubendiamida (480 g L <sup>-1</sup> )	48
16/02/17	Inseticida	Cipermetrina (250 g L <sup>-1</sup> )	37,5
24/02/17	Fungicida	Piraclostrobina (250 g L <sup>-1</sup> )	75
08/03/17	Herbicida (dessecação pré-colheita)	Paraquate (200 g L <sup>-1</sup> )	400

O fornecimento de água, para o feijão “das águas”, foi realizado por um sistema de irrigação convencional por aspersão (irrigação de complementação), aplicando-se uma lâmina de cerca de 7 mm em cada irrigação e sempre durante as primeiras horas da manhã, de acordo com a necessidade da cultura (Figura 1). Já o feijão “da seca” foi conduzido em condição de sequeiro.

O florescimento pleno do feijoeiro ocorreu no dia 18/10/2016 (51 DAE) na safra “das águas”, e 31/01/2017 (41 DAE) na “da seca”. A colheita foi realizada no dia

30/11/16 (94 DAE), no primeiro experimento, e no dia 13/03/2017 (82 DAE), no segundo experimento.

### **3.1.5 Avaliações**

#### **3.1.5.1 Avaliações realizadas em R6 (florescimento pleno)**

##### **a) Índice relativo de clorofila**

Foram realizadas as leituras indiretas do índice relativo de clorofila (IRC), com o aparelho SPAD-502. As determinações do IRC foram feitas no período da manhã (8:00-10:00h), sombreando o aparelho com o corpo para evitar interferência da luz solar. Dez plantas foram amostradas por unidade experimental, sendo que, em cada planta foram realizadas três leituras por trifólio de cada folha trifoliolada avaliada como diagnóstica (terceira folha trifoliolada completamente expandida a partir do ápice), em todo o limbo, exceto nervuras, somando, assim, 30 leituras por parcela.

##### **b) Diagnose foliar**

Foram coletadas 10 folhas do terço médio das plantas por parcela (AMBROSANO et al., 1997), secas em estufa a 60 °C, por 72 horas e, em seguida, submetida à análise para determinação dos teores dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn), segundo os métodos descritos por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

##### **c) Número e matéria seca de nódulos**

Foram coletados os sistemas radiculares de oito plantas em sequência por parcela, com o auxílio de uma pá reta. O material foi cuidadosamente lavado e, posteriormente, foram determinados o número de nódulos por planta, mediante contagem, e a matéria seca de nódulos por meio de secagem dos mesmos em estufa a 60 °C, por 72 horas e, em seguida, pesagem.

##### **d) Crescimento radicular**

Das plantas coletadas para avaliação da nodulação, as raízes, após lavadas, foram amostradas e acondicionadas em coletor universal, com solução de 30% de álcool + 70% de água, e refrigeradas para posteriores avaliações. As análises foram realizadas em *scanner*, desenvolvido para este fim, acoplado a um computador

dotado do software WinRhizo, que utiliza como princípio a metodologia proposta por Tennant (1975). Neste equipamento, foram determinados comprimento (cm planta<sup>-1</sup>), diâmetro médio de raízes (mm) e superfície radicular (cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>).

#### **e) Área foliar**

As plantas coletadas para determinação do número e matéria seca de nódulos tiveram as folhas retiradas e, imediatamente, encaminhadas para um integrador de área foliar de bancada LICOR, modelo 3100, para leitura da área foliar.

#### **f) Matéria seca de raízes e parte aérea**

Todo o material coletado foi seco em estufa de circulação forçada a 60 °C por 72 horas e, em seguida, pesado.

#### **g) Quantificação do teor de ureídos nos pecíolos**

Das plantas coletadas para as avaliações anteriormente citadas, foram retirados alguns pecíolos, encaminhados para secagem em estufa de circulação forçada a 60°C por 72 horas e, em seguida, moídos, em moinho tipo Willey, para realização da análise de ureídos nos tecidos, baseada na metodologia de Vogels e van der Drift (1970). Por essa técnica, os ureídos são estimados pela hidrólise seletiva a glioxilato, pela reação Rimini-Schryve, seguida pela medida do glioxilato resultante (HUNGRIA, 1994).

#### **h) Teor e quantidade acumulada de N na parte aérea**

O material utilizado para determinação da matéria seca, depois de moído em moinho tipo Willey, foi submetido à análise para determinação do teor de N (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). Posteriormente, os teores foram multiplicados pela matéria seca para o cálculo da quantidade acumulada.

### **3.1.5.2 Avaliações realizadas no final do ciclo**

#### **a) Componentes da produção**

##### **- População final de plantas**

A determinação da população final foi realizada na véspera da colheita, considerando duas fileiras centrais com comprimento de 2 m em cada unidade experimental, sendo os resultados convertidos em plantas  $\text{ha}^{-1}$ .

**- Número de vagens por planta**

Determinado mediante a relação entre número total de vagens e o número total de plantas avaliado em dez plantas dentro da área útil de cada parcela experimental.

**- Número de grãos por vagem**

Determinado mediante a relação entre número total de grãos e o número total de vagens, avaliado em dez plantas dentro da área útil de cada área experimental.

**- Massa de 100 grãos (g)**

Foi avaliada através da pesagem de duas amostras, de 100 grãos cada uma, em cada unidade experimental. Os dados obtidos foram transformados para 13% de umidade (base úmida).

**b) Produtividade de grãos**

Para esta avaliação foram colhidas, manualmente, as plantas contidas na área útil de cada unidade experimental (duas linhas de 2 metros). Após esta operação, as plantas foram secas ao sol e, posteriormente trilhadas mecanicamente. Os grãos, após abanação, foram pesados e foi calculada a produtividade em  $\text{kg ha}^{-1}$ , corrigida para 13% de umidade (base úmida).

**c) Teor de proteína nos grãos**

Após a determinação do teor de N dos grãos, segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), o teor de proteína foi determinado mediante a multiplicação do valor de N pelo índice 6,25 (AOAC, 1990).

**d) Produtividade de proteína**

O teor de proteína dos grãos foi multiplicado pela produtividade de grãos (matéria seca), para o cálculo da produtividade de proteína, sendo o resultado expresso em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

### 3.2 Experimento em condições de casa de vegetação

O experimento em vasos, conduzido em condições de casa de vegetação, foi instalado com o intuito de avaliar a nodulação, parâmetros de crescimento radicular, matéria seca de raízes e parte aérea, teor e quantidade de N acumulada pela parte aérea do feijoeiro comum; e assim, fornecer dados que auxiliassem a explicar, de maneira mais embasada, os resultados obtidos em campo em função da co-inoculação e adubação nitrogenada de sementeira.

#### 3.2.1 Configuração experimental e condução do experimento

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP), campus de Botucatu, durante o período de janeiro a março de 2017. Foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por nove formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura [1: controle absoluto; 2: 60 mg dm<sup>-3</sup> de N em cobertura em V4 (N cobertura); 3: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup> (Rhizo); 4: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup> (Azo 1); 5: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> (Azo 2); 6: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> (Azo 3); 7: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 1); 8: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 2); 9: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 3)] (Tabela 2), combinadas com a aplicação ou não de N na sementeira (20 mg dm<sup>-3</sup> de N), totalizando 18 tratamentos.

Uma porção de um solo classificado como Latossolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2013) foi coleta e peneirada (peneira com malha de 2,0 mm). A fim de reduzir a população de rizóbios nativos do solo, a camada superficial do solo (aproximadamente 0,2 m) foi retirada e procedeu-se a coleta da camada subsuperficial. Posteriormente, uma amostra desse solo foi submetida à análise química segundo Raij et al. (2001), cujos resultados estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Atributos químicos do solo utilizado para experimento em condições de casa de vegetação durante o período de janeiro a março de 2017.

<b>pH(CaCl<sub>2</sub>)</b>	<b>M.O.</b> g dm <sup>-3</sup>	<b>P(resina)</b> mg dm <sup>-3</sup>	<b>S</b>	<b>H+Al</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>CTC</b>	<b>V</b> %
4,1	11	3	54	71	0,7	6	2	79	11
<b>Cu</b>		<b>Fe</b>		<b>Mn</b>			<b>Zn</b>		
mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>									
7,7		12		20,4			0,6		

Previamente a instalação do experimento, foi realizada coleta de amostra de solo para estimativa do número de células viáveis de rizóbios no solo (Vincent, 1970), cujo resultado foi menos que 10 rizóbios g<sup>-1</sup>.

O solo recebeu calagem (PRNT 75%), objetivando saturação por bases de 70% (AMBROSANO et al., 1997), e incubado com umidade próxima de 80% da capacidade de retenção de água, por um período de 88 dias.

Após a incubação, o solo foi adubado com 200 mg dm<sup>-3</sup> de P e 150 mg dm<sup>-3</sup> de K, na forma de superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. Foram aplicados 30 mg dm<sup>-3</sup> de FTE BR 12 (1,8% B; 0,8% Cu; 2,0 % Mn; 0,1% Mo; 9,0% Zn e 3% S) como fonte de micronutrientes. Após essa etapa, o solo foi acomodado em vasos com capacidade de 12 dm<sup>3</sup> de volume. A adubação nitrogenada de sementeira (20 mg dm<sup>-3</sup> de N) foi realizada apenas nos tratamentos 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 17. A aplicação de N em cobertura no estágio V4 (60 mg dm<sup>-3</sup> de N) foi feita somente nos tratamentos 1 e 10 (Tabela 2). A fonte de N utilizada foi o nitrato de amônio (32% N). Os demais tratamentos não receberam adubação nitrogenada.

As sementes foram tratadas com o fungicida difenoconazol (5 g do i.a por 100 kg de sementes) e com o inseticida tiametoxam (105 g do i.a. por 100 kg de semente) dois dias antes da sementeira. O fornecimento de cobalto (2,12 × 10<sup>-5</sup> g vaso<sup>-1</sup>) e molibdênio (2,12 × 10<sup>-4</sup> g vaso<sup>-1</sup>) foi feito via aplicação foliar, utilizando pulverizador costal pressurizado por CO<sub>2</sub>, quando as plantas alcançaram o estágio V4.

A inoculação das sementes de feijão com *R. tropici* SEMIA 4088 e *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 foi feita via inoculante turfoso. A mistura dos inoculantes às sementes, nas doses propostas em cada tratamentos, foi realizada a sombra, imediatamente (1 a 3 horas) antes da sementeira. A sementeira da cultivar de feijão BRS Estilo foi realizada no dia 10/01/2017, utilizando-se seis sementes por vaso, na profundidade de 3 cm. A emergência das plântulas ocorreu em 15/01/2017 (5 DAS).

No dia 19/01/2017 (4 DAE) foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso. O florescimento pleno do feijoeiro ocorreu no dia 18/02/2017 (34 DAE).

A suplementação hídrica foi realizada periodicamente, sempre adicionando o mesmo volume de água em todos os vasos.

### **3.2.2 Avaliações**

Por ocasião do estágio R6 foram realizadas as seguintes avaliações:

#### **a) Número e matéria seca de nódulos**

As raízes e nódulos foram separados do solo por lavagem em água corrente sobre peneiras. Posteriormente, os nódulos foram separados das raízes e contados. A matéria seca de nódulos foi determinada mediante pesagem, após secagem dos mesmos em estufa a 60 °C por 72 horas.

#### **b) Crescimento radicular**

Das plantas coletadas para avaliação da nodulação, as raízes, após lavadas, foram amostradas e acondicionadas em coletor universal, com solução de 30% de álcool + 70% de água, e refrigeradas para posteriores avaliações. As análises foram realizadas em *scanner*, desenvolvido para este fim, acoplado a um computador dotado do software WinRhizo, que utiliza como princípio a metodologia proposta por Tennant (1975). Neste equipamento, foram determinados comprimento (cm planta<sup>-1</sup>), diâmetro médio de raízes (mm) e superfície radicular (cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>).

#### **c) Matéria seca de raízes e parte aérea**

Todo o material coletado foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 60°C por 72 horas e, em seguida, pesado.

#### **d) Teor e quantidade acumulada de N na parte aérea**

O material utilizado para determinação da matéria seca, depois de moído em moinho tipo Willey, foi submetido à análise para determinação do teor de N (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). Posteriormente, os teores foram multiplicados pela matéria seca para o cálculo da quantidade acumulada.



### 3.3 Análise estatística

Para cada experimento separadamente, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Experimento em condições de casa de vegetação

#### 4.1.1 Nodulação, matéria seca de parte aérea, teor e quantidade acumulada de N na parte aérea

Houve interação significativa entre inoculação e N na semeadura para número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN) do feijão comum (Tabela 5). O tratamento com N em cobertura afetou negativamente o NN e a MSN em relação aos demais tratamentos, com ou sem a aplicação de N na semeadura (Tabela 6). O fornecimento de N na base proporcionou menor NN nos tratamentos controle e co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 3) e também reduziu a MSN em todos os tratamentos, exceto o N cobertura.

Em termos de nodulação, o efeito do N aplicado na semeadura ou em cobertura no feijoeiro comum pode variar de acordo com a dose empregada. No entanto, sabe-se que na presença de adubo nitrogenado, o estímulo à nodulação é reduzido, uma vez que, o N do fertilizante está prontamente disponível e a demanda energética para FBN é alta, representando um dos processos metabólicos mais caros para a célula (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Hungria, Campo e Mendes (2003), avaliando os efeitos da inoculação e adição de fertilizante nitrogenado no feijoeiro comum cultivar IAPAR 14, observaram que a aplicação de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura proporcionou redução na nodulação das plantas de feijão. Valadão et al. (2009) verificaram que o N fornecido via adubação (10 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura + 50 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura) reduziu o estabelecimento das bactérias simbiotes, afetando negativamente o NN e a MSN. Souza, Soratto e Pagani (2011) concluíram que o acréscimo das doses de N em cobertura diminuiu o NN e a MSN em feijoeiro cultivado no sistema plantio direto, em sucessão ao milho safrinha consorciado com braquiária. Os resultados obtidos por esses autores corroboram com aqueles observados neste trabalho, na qual o fornecimento de 60

kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura e também a aplicação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura reduziram a nodulação do feijão comum (Tabela 6).

**Tabela 5** - Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de casa de vegetação.

Tratamento	NN	MSN	MSPA	NPA	NAPA
	nº planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>					
Controle	142bc <sup>(2)</sup>	0,056b	9,5	21,5b	206,6b
N cobertura	38d	0,006c	10,2	30,1a	305,4a
Rhizo	131c	0,056b	9,3	21,1b	197,9b
Azo 1	145bc	0,072ab	9,4	21,6b	202,2b
Azo 2	213a	0,060ab	9,1	22,5b	205,2b
Azo 3	165bc	0,076a	10,3	20,9b	214,8b
Rhizo+Azo 1	183ab	0,076a	10,1	20,8b	209,1b
Rhizo+Azo 2	162bc	0,067ab	9,5	22,1b	206,6b
Rhizo+Azo 3	159bc	0,061ab	9,5	21,8b	207,3b
N semeadura (NS)					
Com N	138b	0,032b	10,2a	23,0a	234,6a
Sem N	159a	0,086a	9,1b	21,9b	199,9b
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>				
I	<0,001	<0,001	0,445	<0,001	<0,001
NS	0,001	<0,001	<0,001	0,014	<0,001
I x NS	0,015	<0,001	0,548	0,721	0,454
CV (%)	17,7	21,0	12,6	8,0	15,5

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O fornecimento de N na semeadura proporcionou incrementos na matéria seca (MSPA), no teor de N (NPA) e na quantidade de N acumulada pela parte aérea (NAPA) (Tabela 5). A aplicação de N em cobertura aumentou o NPA e a NAPA quando comparado aos demais tratamentos. O N é nutriente chave para aumentar o índice de área foliar e, conseqüentemente, as taxas de fotossíntese, promovendo assim maior acúmulo de matéria seca pelas plantas (MARSCHNER, 2012). Soratto, Carvalho e Arf (2006), Crusciol et al. (2007) e Soratto et al. (2017) relataram aumento linear na biomassa de matéria seca do feijoeiro com aumento nas doses de N. A adubação nitrogenada aumenta a disponibilidade do nutriente no solo e, assim,

a absorção deste pelo sistema radicular é maior, resultando em incrementos no teor de N na parte aérea do feijoeiro comum. Souza, Soratto e Pagani (2011) observaram que com o acréscimo das doses de N em cobertura houve aumento na MSPA, NPA e NAPA do feijoeiro.

**Tabela 6** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para número de nódulos (NN) e matéria seca de nódulos (MSN) do feijoeiro comum conduzido em condições de casa de vegetação.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na semeadura			
	Com N		Sem N	
	— NN (n° planta <sup>-1</sup> ) —	— MSN (g planta <sup>-1</sup> ) —	— NN (n° planta <sup>-1</sup> ) —	— MSN (g planta <sup>-1</sup> ) —
Controle	98dB <sup>(2)</sup>	185abA	0,028abB	0,084bA
N cobertura	36eA	40cA	0,004bA	0,008cA
Rhizo	115cdA	148bA	0,027abB	0,086bA
Azo 1	152bcdA	139bA	0,045aB	0,099abA
Azo 2	216aA	210aA	0,037aB	0,083bA
Azo 3	159abcA	172abA	0,031abB	0,122aA
Rhizo+Azo 1	179abA	186abA	0,050aB	0,102abA
Rhizo+Azo 2	150bcdA	174abA	0,026abB	0,108abA
Rhizo+Azo 3	138bcdB	181abA	0,043aB	0,080bA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.2 Crescimento radicular

A adição de N na semeadura aumentou o comprimento radicular (CR) e a matéria seca de raízes (MSR) do feijoeiro, independentemente da inoculação (Tabela 7). O diâmetro médio de raízes (DMR) e a superfície radicular (SR) não foram afetados pelos fatores estudados. Ao encontrar uma fração de solo rica em nutrientes (particularmente N ou P), as raízes de muitas espécies de plantas respondem com aumento na taxa de crescimento e ramificação radicular (ROBINSON, 1994). Esta resposta permite que a planta otimize a alocação de recursos, concentrando o crescimento radicular na região do solo que resultará em maior benefício em termos de captura de nutrientes (HODGE et al., 1999; ROBINSON et al., 1999). Corsini (2014), testando ausência de inoculação e sementes inoculadas com *A. brasilense*, *R. tropici* e co-inoculação com *A. brasilense* + *R. tropici*, em esquema fatorial combinado

com cinco doses de N (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha<sup>-1</sup>), observou, em uma das safras de cultivo, que as doses de N influenciaram de maneira linear positiva a MSR.

**Tabela 7** - Comprimento radicular (CR), diâmetro médio de raízes (DMR), superfície radicular (SR) e matéria seca de raízes (MSR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de casa de vegetação.

Tratamento	CR	DMR	SR	MSR
	cm planta <sup>-1</sup>	mm	cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>				
Controle	18.508 <sup>(2)</sup>	0,392	2213	1,14
N cobertura	20.862	0,372	2416	1,20
Rhizo	19.718	0,386	2394	1,11
Azo 1	18.755	0,370	2193	1,09
Azo 2	21.365	0,383	2552	1,23
Azo 3	17.447	0,401	2190	1,13
Rhizo+Azo 1	20.981	0,398	2604	1,23
Rhizo+Azo 2	18.048	0,392	2217	1,16
Rhizo+Azo 3	22.373	0,390	2726	1,24
N semeadura (NS)				
Com N	20.927a	0,381	2492	1,23a
Sem N	18.641b	0,393	2287	1,11b
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>			
I	0,190	0,834	0,300	0,632
NS	0,018	0,216	0,097	0,006
I x NS	0,938	0,609	0,943	0,833
CV (%)	20,0	10,5	21,5	15,5

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 4.2 Experimentos em condições de campo

### 4.2.1 Nodulação e teor de ureídeos

Na safra “das águas”, houve interação significativa entre inoculação e N na semeadura para NN e MSN e para teor de ureídeos nos pecíolos (TU) do feijoeiro comum (Tabela 8). Na presença da aplicação de N na semeadura, a inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> (Azo 3) proporcionou maior NN que o tratamento Rhizo+Azo 3 (Tabela 9). Na ausência da aplicação de N na base, não houve diferença entre as formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura. O não fornecimento de N na semeadura proporcionou incremento no NN nos tratamentos inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup> (Rhizo), co-

inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 1) e Rhizo+Azo 3. Na safra “da seca”, o NN não foi afetado pelos fatores estudados.

**Tabela 8** - Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e teor de ureídeos nos pecíolos (TU) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	NN		MSN		TU	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	nº planta <sup>-1</sup>		g planta <sup>-1</sup>		µmol g <sup>-1</sup>	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>						
Controle	56b <sup>(2)</sup>	57	0,051cd	0,054a	6,23abc	12,40a
N cobertura	68ab	50	0,044d	0,033b	5,47abc	8,37b
Rhizo	72ab	64	0,069bc	0,043ab	4,55c	11,37ab
Azo 1	69ab	55	0,068bcd	0,042ab	7,66a	13,06a
Azo 2	69ab	45	0,053bcd	0,034b	5,24bc	13,76a
Azo 3	86a	45	0,076ab	0,047ab	7,36ab	11,06ab
Rhizo+Azo 1	65ab	68	0,058bcd	0,051ab	6,13abc	12,23a
Rhizo+Azo 2	71ab	55	0,093a	0,046ab	5,81abc	12,02a
Rhizo+Azo 3	60b	54	0,055bcd	0,046ab	4,35c	10,35ab
N semeadura (NS)						
Com N	60b	56	0,062	0,045	5,51b	11,05b
Sem N	77a	53	0,063	0,043	6,22a	12,19a
Fonte de variação	P > F					
I	0,041	0,069	<0,001	0,007	<0,001	<0,001
NS	<0,001	0,421	0,825	0,326	0,029	0,029
I × NS	0,035	0,611	<0,001	0,102	<0,001	0,080
CV (%)	19,3	28,0	20,3	26,5	19,6	18,5

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici*  $2,5 \times 10^6$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense*  $2,5 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $2,5 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra “das águas”, o desdobramento da interação para MSN mostrou que, com a aplicação de N na semeadura, a co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $2,5 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup> (Rhizo+Azo 2) se destacou positivamente em relação aos demais tratamentos (Tabela 9). Por outro lado, na ausência de N na base, o tratamento Azo 3 proporcionou incremento na MSN comparado ao controle e N cobertura. A adição de N na semeadura aumentou a MSN nos tratamentos controle e Rhizo+Azo 2 reduziu na presença de Rhizo+Azo 3. Na safra “da seca”, o tratamento com aplicação de N em cobertura e a inoculação com *A. brasilense*  $2,5 \times$

$10^5$  células semente<sup>-1</sup> (Azo 2) reduziram a MSN em comparação com o controle, independentemente da aplicação de N na semente (Tabela 8).

**Tabela 9** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semente do feijoeiro para número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e teor de ureídeos nos pecíolos (TU) do feijoeiro comum, em condições de campo durante a safra “das águas”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na semente					
	Com N	Sem N	Com N	Sem N	Com N	Sem N
	- NN (n <sup>o</sup> planta <sup>-1</sup> ) -		- MSN (g planta <sup>-1</sup> ) -		- TU (μmol g <sup>-1</sup> ) -	
Controle	51abA <sup>(2)</sup>	62aA	0,072bA	0,029cB	4,54bcdB	7,91abA
N cobertura	66abA	69aA	0,040bA	0,048bcA	5,71abcdA	5,24bcA
Rhizo	50abB	94aA	0,065bA	0,072abA	3,74cdA	5,36bcA
Azo 1	62abA	76aA	0,059bA	0,077abA	6,16abcB	9,16aA
Azo 2	69abA	69aA	0,057bA	0,049abcA	2,92dB	7,56abA
Azo 3	82aA	89aA	0,068bA	0,083aA	6,98abA	7,74abA
Rhizo+Azo 1	50abB	80aA	0,052bA	0,065abA	8,49aA	3,77cB
Rhizo+Azo 2	69abA	73aA	0,108aA	0,078abB	6,25abcA	5,37bcA
Rhizo+Azo 3	40bB	80aA	0,042bB	0,068abA	4,81bcdA	3,89cA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici*  $2,5 \times 10^6$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense*  $2,5 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $2,5 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados observados para NN e MSN do feijão na safra “das águas” diferem daqueles verificados no experimento em vasos, na qual, o efeito mais nítido foi o prejuízo causado pela aplicação de N na semente e em cobertura à nodulação, sendo que o efeito da inoculação ou co-inoculação sobre essas duas variáveis não ficou muito claro (Tabelas 5 e 6). Por outro lado, no feijão “das águas” pode-se observar que a inoculação isolada de Azo 3 com o fornecimento de N na semente incrementou o NN e sem N na base proporcionou maior MSN, já o tratamento Rhizo+Azo 2 com a adição de N na semente se destacou em relação aos demais quanto à MSN. Uma possível explicação para os resultados obtidos em termos de nodulação do feijoeiro com a inoculação isolada de *Azospirillum* é que a população de rizóbios nativos no solo já era bastante elevada ( $2,397 \times 10^4$  rizóbios g<sup>-1</sup>) e então o fornecimento da PGPR potencializou o efeito das bactérias diazotróficas, resultando em aumento do NN e MSN no feijão “das águas” (Tabela 9). *Azospirillum* tem forte atração microaerófila pelo nicho rizosférico das raízes das leguminosas e mobilidade mais rápida que *Rhizobium*; desta forma, podem ocupar a rizosfera das

leguminosas em um primeiro momento, pré-condicionando as raízes para colonização pelo *Rhizobium* (OKON; ITZIGSOHN, 1995).

Hungria, Nogueira e Araujo (2013), ao estudarem o efeito da co-inoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* no feijoeiro comum cultivar IPR Colibri observaram maior NN e MSN com as inoculações mistas de rizóbio, via sementes, e *Azospirillum* nas doses  $2,5 \times 10^5$  e  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>, via sulco de semeadura. A inoculação apenas com rizóbio também resultou em maior NN e MSN e não diferiu da co-inoculação. Em um dos locais de experimento, também foi observado aumento da MSN pela inoculação isolada de *Azospirillum*  $5,0 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup> no sulco. Yadegari et al. (2010) verificaram que a co-inoculação com PGPR (*Rhizobium* + *Pseudomonas fluorescens* P-93) promoveu incrementos no NN e MSN quando comparada ao tratamento com aplicação isolada de *Rhizobium*.

Acerca da compatibilidade entre inoculação/co-inoculação e adubação nitrogenada, o efeito do N sobre a nodulação do feijoeiro comum pode variar de acordo com a dose empregada, conforme discutido anteriormente. Os resultados obtidos para NN e MSN do feijoeiro na safra “das águas” (Tabela 9) estão de acordo com os observados por Figueiredo et al. (2016), que também verificaram que a aplicação de  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  na semeadura não afetou nodulação do feijoeiro comum inoculado com rizóbio. Brito, Muraoka e Silva (2011) concluíram que a associação simbiótica em feijão comum com *R. tropici* CIAT 899 necessita de uma dose de N de arranque para a obtenção de produtividade economicamente aceitável.

Para o TU no feijoeiro cultivado “nas águas”, o tratamento Rhizo+Azo 1 foi superior ao controle, Rhizo, Azo 2 e Rhizo+Azo 3, quando da presença de N na semeadura; mas na ausência deste, a inoculação com *A. brasilense*  $5,2 \times 10^4$  células semente<sup>-1</sup> (Azo 1) proporcionou o maior valor ( $9,16 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), quando comparado aos demais tratamentos, exceto controle, Azo 2 e Azo 3 (Tabela 9). O não fornecimento de N na base aumentou o TU no controle, Azo 1 e Azo 2 e reduziu em Rhizo+Azo 1. Na safra “da seca”, a aplicação de N em cobertura ou na semeadura proporcionou menores valores para o TU nos pecíolos do feijoeiro comum (Tabela 8). A soja e o feijão, quando nodulados, transportam o N proveniente da FBN, principalmente, na forma de ureídos (alantoína e ácido alantóico), sendo sugerido que a análise desses compostos pode ser utilizada para a quantificação da FBN (HUNGRIA, 1994). A inoculação apenas com *Azospirillum*, sem aplicação de N na semeadura, proporcionou incremento na MSN no feijão “das

águas”, resultando em maior taxa de FBN, traduzida pelo aumento do TU, uma vez que maior MSN pode estar correlacionada com a potencialização da sua atividade. Hansen et al. (1993) observaram que um mutante supernodulante de feijoeiro apresentou MSN duas vezes maior e NN seis vezes maior que os parentais. Entretanto, a FBN foi semelhante, sugerindo que a elevada nodulação resulta em formação de nódulos menores com menor eficiência relativa.

A aplicação de N em cobertura reduziu a MSN do feijoeiro na safra “da seca”, resultando em menor taxa de FBN, representada pelo menor teor de ureídos nos pecíolos das plantas (Tabela 8). Na presença de adubo nitrogenado, o estímulo à nodulação é reduzido, uma vez que o N do fertilizante está prontamente disponível e a demanda energética para FBN é alta, visto que os nódulos demandam carbono como fonte de energia ao microssimbionte e para fornecer esqueletos de carbono à assimilação do amônio produzido (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; SCHUBERT, 2002; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Mendes et al. (2008) relataram que sempre que a disponibilidade de N no solo é abundante, este é absorvido em detrimento ao N da FBN, enquanto o N-fixado é a maior fonte do nutriente quando o N do solo torna-se limitante.

As variações observadas nos resultados obtidos para o experimento conduzido em condições de casa de vegetação e para os dois experimentos de campo (Tabelas 5, 6, 8 e 9) podem ser atribuídas a diversos fatores tais como: influência de temperaturas elevadas, estresse hídrico, acidez do solo, elementos tóxicos ou outros fatores bióticos e abióticos aos quais são sensíveis tanto as plantas de feijão comum, quanto as bactérias fixadoras (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001; OLIVEIRA et al., 2011; DEVI et al., 2013).

#### **4.2.2 Teor de macro e micronutrientes na folha diagnóstica**

Não houve efeito de nenhum dos fatores estudados nos teores foliares de N e P nas duas safras e no teor foliar de K no feijão “da seca” (Tabela 10). O teor de K na folha diagnóstica do feijão na safra “das águas” foi maior no tratamento com N cobertura quando comparado ao Azo 1 e Azo 2.



**Tabela 10** - Teor dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	N		P		K	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	g kg <sup>-1</sup>					
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>						
Controle	43,1	34,5	3,1	2,8	29,6ab <sup>(2)</sup>	30,2
N cobertura	41,1	31,5	3,4	3,3	32,1a	33,0
Rhizo	39,6	34,7	2,9	3,0	29,7ab	31,5
Azo 1	40,3	33,0	2,8	3,1	27,8b	31,3
Azo 2	41,6	35,6	2,8	3,1	27,4b	34,3
Azo 3	38,2	35,7	3,0	3,0	29,8ab	30,8
Rhizo+Azo 1	40,9	35,4	2,9	3,1	30,5ab	30,8
Rhizo+Azo 2	41,2	34,4	2,8	3,4	29,4ab	31,3
Rhizo+Azo 3	41,2	32,9	3,0	3,5	29,9ab	32,5
N semeadura (NS)						
Com N	40,1	33,7	3,0	3,2	29,9	32,2
Sem N	41,5	34,7	2,9	3,0	29,3	31,3
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>					
I	0,377	0,124	0,197	0,104	0,040	0,406
NS	0,107	0,153	0,457	0,064	0,334	0,305
I x NS	0,451	0,086	0,972	0,308	0,643	0,070
CV (%)	7,7	9,1	13,0	14,2	7,6	11,2

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O fornecimento de N na semeadura proporcionou incrementos nos teores foliares de cálcio (Ca) e magnésio (Mg), nas duas épocas de cultivo, e também no teor foliar de enxofre (S), na safra “da seca” (Tabela 11). O teor foliar de S no feijão “das águas” não foi afetado pelos fatores em questão.

Em todos os tratamentos, nas duas épocas de cultivo, os teores foliares dos macronutrientes N, P e Mg estão dentro das faixas consideradas adequadas para o feijoeiro comum, de acordo com Ambrosano et al. (1997). O teor de K na folha diagnóstica do feijoeiro, em ambas as safras, foi superior a faixa de valores (20-24 g kg<sup>-1</sup>) considerada ideal para a cultura segundo as recomendações propostas pelos mesmos autores, o que pode ter ocorrido devido à alta disponibilidade de K no solo (Tabela 1) e ao fornecimento do nutriente na semeadura do feijão. O teor foliar de

Ca considerado adequado para a cultura está compreendido entre 10 e 25 g kg<sup>-1</sup> (AMBROSANO et al., 1997); sendo assim, os valores observados para todos os tratamentos, nas duas safras, encontram-se abaixo do adequado, possivelmente devido a não realização de calagem e/ou gessagem anteriormente à instalação dos experimentos, apesar do fornecimento do nutriente via aplicação de superfosfato simples (16% de Ca). O teor de S na folha diagnóstica do feijão “das águas” também encontra-se um pouco abaixo do adequado, que seria entre 2,0 e 3,0 g kg<sup>-1</sup> (AMBROSANO et al., 1997), podendo ser decorrente da menor disponibilidade de S no solo (Tabela 1), apesar do elemento também ter sido fornecido juntamente com P e Ca, via aplicação de superfosfato simples (8% de S).

**Tabela 11** - Teor dos macronutrientes cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	Ca		Mg		S	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	g kg <sup>-1</sup>					
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>						
Controle	8,9 <sup>(2)</sup>	5,7	3,9	2,6	1,9	2,2
N cobertura	9,5	6,9	4,7	3,0	2,0	2,0
Rhizo	9,4	6,3	4,1	2,9	2,0	2,3
Azo 1	9,5	6,2	4,1	2,9	1,9	2,2
Azo 2	8,8	6,5	3,8	2,7	1,9	2,2
Azo 3	8,7	6,4	3,6	2,9	1,9	2,2
Rhizo+Azo 1	9,5	6,5	4,1	2,8	1,9	2,2
Rhizo+Azo 2	9,6	6,3	3,9	2,9	1,8	2,2
Rhizo+Azo 3	9,3	6,5	4,1	2,9	1,8	2,2
N semeadura (NS)						
Com N	10,0a	6,6a	4,3a	2,9a	1,8	2,3a
Sem N	8,5b	6,1b	3,8b	2,8b	1,9	2,1b
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>					
I	0,837	0,261	0,094	0,280	0,696	0,818
NS	<0,001	0,019	0,002	0,039	0,188	0,011
I x NS	0,252	0,756	0,780	0,935	0,587	0,791
CV (%)	12,9	13,0	13,1	10,0	13,0	10,9

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve interação entre os fatores estudados para os teores foliares de cobre (Cu) e ferro (Fe) nas duas épocas de cultivo (Tabela 12). Na safra “das águas”, a aplicação de N cobertura proporcionou maior teor de Cu na folha que os demais tratamentos, exceto Azo 2, quando N foi adicionado na base; já na ausência do mesmo, não houve diferença entre os tratamentos de inoculação (Tabela 13). O fornecimento de N na semeadura proporcionou maior teor foliar de Cu nos tratamentos N cobertura e Azo 2. Por outro lado, na safra “da seca”, na presença da aplicação de N na semeadura o tratamento Rhizo+Azo 1 reduziu o teor foliar de Cu em comparação ao controle, N cobertura e Rhizo; mas quando N não foi fornecido na base também não houve diferença entre as formas de inoculação. A aplicação de N na semeadura proporcionou redução no teor foliar do micronutriente nos tratamentos Azo 1, Azo 2, Rhizo+Azo 1 e Rhizo+Azo 2.

Quanto ao teor foliar de Fe, na safra “das águas”, os tratamentos de inoculação não se diferenciaram quando N foi fornecido na base; mas na ausência da aplicação do nutriente na semeadura, o tratamento Rhizo+Azo 3 proporcionou a maior média, 449,7 mg kg<sup>-1</sup> de Fe (Tabela 13). Quando N não foi adicionado na base houve aumento no teor foliar do micronutriente nos tratamentos Azo 3, Rhizo+Azo 1 e Rhizo+Azo 3. Na safra “da seca”, não houve diferença entre as formas de inoculação com ou sem a aplicação de N na semeadura. O não fornecimento de N na base resultou em maior teor foliar de Fe para o tratamento Azo 1 e menor no Rhizo+Azo 1.

Na Tabela 12 pode-se observar que o tratamento com N em cobertura se destacou positivamente quanto ao teor de zinco (Zn) na folha diagnóstica do feijão comum, nas duas épocas de cultivo. Não houve diferença entre os fatores estudados para o teor foliar de manganês (Mn) em nenhuma das safras. Os teores foliares dos micronutrientes Cu, Zn, Mn e Fe estão dentro ou próximos das faixas consideradas adequadas para o feijoeiro comum de acordo com Ambrosano et al. (1997), exceto Mn e Fe no feijão “das águas”, cujos valores observados foram bastante elevados, possivelmente devido ao alto teor de ambos os elementos no solo (Tabela 1) aliado à disponibilidade de água (Figura 1), uma vez que, para esses nutrientes, o contato íon-raiz ocorre predominantemente por fluxo de massa (MALAVOLTA, 1980).

Em termos gerais, o fornecimento de N, seja em sementeira ou cobertura, proporcionou incrementos nos teores foliares de K, Ca, Mg, S e Zn (Tabelas 10, 11 e 12). Tal fato talvez tenha ocorrido devido ao N ter estimulado o sistema radicular da cultura, com acréscimos observados em comprimento e superfície radicular (Tabelas 14, 15 e 16), possibilitando maior absorção desses nutrientes.

**Tabela 12** - Teor dos micronutrientes cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) na folha diagnóstica do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na sementeira, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	Cu		Zn		Mn		Fe	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	mg kg <sup>-1</sup>							
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>								
Controle	7,3ab <sup>(2)</sup>	8,3	21,3b	16,6abc	135,8	89,0	248,8	119,4
N cobertura	9,6a	9,0	28,6a	21,1a	149,0	100,2	238,3	114,2
Rhizo	6,8ab	8,7	21,7b	15,8bc	150,6	97,3	310,9	115,9
Azo 1	7,7ab	8,7	19,9b	19,5ab	169,6	98,4	259,2	124,7
Azo 2	6,3b	7,6	21,3b	15,0bc	143,6	92,9	259,2	117,3
Azo 3	7,3ab	7,6	23,5ab	18,6abc	138,2	101,3	268,5	126,4
Rhizo+Azo 1	6,3b	6,6	23,5ab	15,7bc	132,1	95,2	265,3	125,5
Rhizo+Azo 2	5,9b	7,9	21,7b	16,1abc	166,8	96,0	279,6	128,6
Rhizo+Azo 3	7,3ab	7,3	22,2ab	14,2c	150,8	83,2	332,4	115,5
N sementeira (NS)								
Com N	7,6a	7,2b	23,4	16,6	147,7	97,4	248,5b	123,7
Sem N	6,8b	8,7a	21,9	17,3	149,3	92,3	298,7a	117,9
Fonte de variação	<i>P</i> > <i>F</i>							
I	0,008	0,178	0,006	<0,001	0,104	0,197	0,088	0,946
NS	0,048	<0,001	0,098	0,331	0,805	0,117	0,001	0,357
I × NS	0,007	0,019	0,118	0,355	0,216	0,475	<0,001	0,044
CV (%)	20,7	22,7	14,8	19,0	15,8	14,2	19,4	21,9

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 13** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para teor de cobre (Cu) e teor de ferro (Fe) na folha diagnóstica do feijoeiro conduzido em condições de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na semeadura			
	Com N	Sem N	Com N	Sem N
	<u>Safra “das águas”</u>			
	— Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) —		— Fe (mg kg <sup>-1</sup> ) —	
Controle	6,3bA <sup>(2)</sup>	8,2aA	222,1aA	275,5bA
N cobertura	11,9aA	7,3aB	208,1aA	268,5bA
Rhizo	6,3bA	7,3aA	296,4aA	325,4abA
Azo 1	7,3bA	8,2aA	273,2aA	245,3bA
Azo 2	8,2abA	4,5aB	283,6aA	234,8bA
Azo 3	7,3bA	7,3aA	220,9aB	316,1abA
Rhizo+Azo 1	7,3bA	5,4aA	208,7aB	322,0abA
Rhizo+Azo 2	6,3bA	5,4aA	308,0aA	251,1bA
Rhizo+Azo 3	7,3bA	7,3aA	215,1aB	449,7aA
	<u>Safra “da seca”</u>			
	— Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) —		— Fe (mg kg <sup>-1</sup> ) —	
Controle	8,7aA	8,0aA	128,6aA	110,3aA
N cobertura	9,4aA	8,7aA	123,3aA	105,1aA
Rhizo	9,4aA	8,0aA	113,8aA	118,1aA
Azo 1	7,3abB	10,1aA	104,2aB	145,1aA
Azo 2	5,9abB	9,4aA	126,0aA	108,5aA
Azo 3	6,6abA	8,7aA	136,4aA	116,4aA
Rhizo+Azo 1	4,5bB	8,7aA	152,1aA	99,0aB
Rhizo+Azo 2	6,3abB	9,4aA	117,3aA	139,9aA
Rhizo+Azo 3	6,6abA	8,0aA	112,0aA	119,0aA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.2.3 Crescimento radicular

Houve interação entre inoculação e N na semeadura para CR e SR no feijão “das águas” (Tabelas 14 e 15). Na presença de N na semeadura não houve diferença entre as formas de inoculação para CR; já na ausência da aplicação do nutriente na base, o tratamento N cobertura foi superior aos demais, exceto Azo 1 (Tabela 16). O fornecimento de N na semeadura proporcionou maior CR nos tratamentos controle, Azo 2 e Rhizo+Azo 3, e menor no tratamento com N cobertura, comparado à ausência de N na semeadura. No feijão “da seca”, o N cobertura aumentou o CR em relação aos demais tratamentos, exceto ao controle e Rhizo+Azo 1 (Tabela 14). O fornecimento do nutriente na semeadura também proporcionou incrementos nessa variável.

**Tabela 14** - Comprimento radicular (CR) e diâmetro médio de raízes (DMR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	CR		DMR	
	SA	SS	SA	SS
	cm planta <sup>-1</sup>		mm	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>				
Controle	5801	3905abc <sup>(2)</sup>	0,373	0,419
N cobertura	7968	5320a	0,367	0,394
Rhizo	6270	3452c	0,357	0,430
Azo 1	5785	3463c	0,357	0,423
Azo 2	5928	3666bc	0,355	0,429
Azo 3	5531	3530bc	0,367	0,422
Rhizo+Azo 1	5880	5014ab	0,358	0,414
Rhizo+Azo 2	5542	3654bc	0,377	0,416
Rhizo+Azo 3	5964	3723bc	0,392	0,422
N semeadura (NS)				
Com N	6332	4284a	0,363	0,417
Sem N	5817	3655b	0,370	0,420
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>			
I	0,139	<0,001	0,676	0,231
NS	0,187	0,006	0,466	0,567
I x NS	<0,001	0,407	0,076	0,188
CV (%)	23,1	23,6	9,6	6,2

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra “das águas”, no desdobramento da interação para SR verificou-se que as formas de inoculação não se diferenciaram quando N foi aplicado na semeadura do feijão, mas, na ausência do nutriente na base, o tratamento com N cobertura possibilitou o maior valor, 1124,3 cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup> (Tabela 16). O fornecimento de N na semeadura promoveu aumento da SR para os tratamentos controle e Rhizo+Azo 3 e redução para N cobertura. Na safra “da seca”, a SR foi afetada positivamente pelo tratamento N cobertura em comparação ao Rhizo, Azo 1 e Azo 3, bem como pela aplicação de N na semeadura (Tabela 15).

Não foi observado efeito de nenhum dos fatores estudados para DMR e MSR, nas duas épocas de cultivo (Tabelas 14 e 15).

**Tabela 15** - Superfície radicular (SR) e matéria seca de raízes (MSR) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na sementeira, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	SR		MSR	
	SA	SS	AS	SS
	— cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> —		— g planta <sup>-1</sup> —	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>				
Controle	651,5	511,3ab <sup>(2)</sup>	1,43	0,97
N cobertura	882,4	660,4a	1,45	1,11
Rhizo	656,6	455,8b	1,33	0,88
Azo 1	632,4	458,8b	1,40	0,87
Azo 2	659,4	490,6ab	1,28	0,95
Azo 3	628,1	467,7b	1,52	0,88
Rhizo+Azo 1	655,1	639,0ab	1,33	1,08
Rhizo+Azo 2	656,8	473,5ab	1,43	0,90
Rhizo+Azo 3	695,1	492,9ab	1,45	0,96
N sementeira (NS)				
Com N	700,6	555,4a	1,44	1,00
Sem N	658,8	477,9b	1,36	0,91
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>			
I	0,167	0,003	0,674	0,198
NS	0,322	0,007	0,228	0,073
I x NS	0,002	0,432	0,167	0,621
CV (%)	22,5	22,8	15,7	21,5

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De maneira geral, a aplicação de N na sementeira e/ou em cobertura estimulou o CR e a SR das plantas de feijão nas duas épocas de cultivo (Tabelas 14, 15 e 16). Segundo Fagan (2011), a presença de nutrientes próximos às raízes, especialmente o N e o P, estimula o crescimento e desenvolvimento radicular. À medida que a disponibilidade de nutrientes no solo aumenta, as raízes começam a se multiplicar (DREW, 1975; GRIME; CRICK; RINCON, 1986; GRANATO; RAPER, 1989; JACKSON; CAIDWELL, 1989; SAMUELSON; ELIASSON; LARSSON, 1991) e se adensar. A otimização do crescimento radicular com a disponibilidade de nutrientes no solo é consistente com o conceito de um equilíbrio funcional entre raízes e parte aérea (BROUWER, 1967; BROUWER; DE WIT, 1969; BLOOM, JACKSON; SMART, 1993). Esse conceito propõe que devido às distâncias entre fontes e locais de consumo, as raízes satisfazem mais rapidamente sua exigência por nutrientes que

por carboidratos, enquanto a parte aérea satisfaz mais rapidamente sua exigência por carboidratos que por nutrientes. Quando os nutrientes são insuficientes, o crescimento de raízes e parte aérea é limitado por estes e o suprimento de carboidratos na parte aérea é relativamente alto, de modo que a translocação de carboidratos para as raízes é maior. Ao passo que uma raiz encontra uma porção de solo rica em nutrientes, aqueles absorvidos inicialmente permanecem na raiz e estimulam o seu crescimento e à medida que os níveis de nutrientes naquela raiz alcançam a suficiência, a translocação destes para a parte aérea aumenta. A parte aérea, agora com nutrientes suficientes, torna-se limitada por carboidratos e passa a translocar poucos carboidratos para a raiz; o crescimento dessa raiz torna-se, então, limitado por carboidratos (DURIEUX et al., 1994). Em termos de crescimento radicular, os resultados observados nos experimentos de campo foram semelhantes àqueles obtidos no de vaso, na qual à aplicação de N na semeadura do feijoeiro estimulou o sistema radicular das plantas, resultando em maior CR e MSR (Tabela 7).

**Tabela 16** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na semeadura do feijoeiro para comprimento radicular (CR) e superfície radicular (SR) do feijoeiro conduzido em condições de campo na safra “das águas”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na semeadura			
	Com N	Sem N	Com N	Sem N
	— CR (cm planta <sup>-1</sup> ) —		— SR (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> ) —	
Controle	7662aA <sup>(2)</sup>	3940bB	791,8aA	511,2bB
N cobertura	5785aB	10150aA	640,4aB	1124,3aA
Rhizo	6269aA	6271bA	694,8aA	618,3bA
Azo 1	5107aA	6463abA	596,1aA	668,8bA
Azo 2	7281aA	4575bB	780,2aA	538,5bA
Azo 3	4716aA	6346bA	527,8aA	728,4abA
Rhizo+Azo 1	6792aA	4969bA	723,0aA	587,3bA
Rhizo+Azo 2	6081aA	5003bA	719,9aA	593,6bA
Rhizo+Azo 3	7295aA	4634bB	831,4aA	558,8bB

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



#### 4.2.4 Índice relativo de clorofila, área foliar, matéria seca de parte aérea, teor e quantidade de N acumulada na parte aérea

O índice relativo de clorofila (IRC) foi afetado negativamente pelo tratamento com N cobertura, nas duas safras de feijão (Tabela 17). O fornecimento do nutriente na semeadura também reduziu o IRC na safra “das águas”. O N é constituinte da molécula de clorofila e, geralmente, existe alta correlação entre o seu teor e a clorofila nas folhas do feijoeiro (SORATTO; CARVALHO; ARF, 2004). No entanto, a aplicação do nutriente estimula o crescimento vegetativo da cultura (VIEIRA, 2006), o que pode ter proporcionado um efeito de diluição, resultando no menor IRC observado. Tal resultado difere daqueles obtidos por Soratto, Carvalho e Arf (2004), Garcia et al. (2011) e Maia et al. (2012; 2013), que constataram aumento nos valores de IRC com o incremento nas doses de N aplicadas.

**Tabela 17** - Índice relativo de clorofila (IRC), área foliar (AF) e matéria seca de parte aérea (MSPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	IRC		AF		MSPA	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	— SPAD —		— cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> —		— g planta <sup>-1</sup> —	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>						
Controle	38,8ab <sup>(2)</sup>	39,5a	1714ab	1564	10,6	8,8
N cobertura	37,2b	35,6b	1865a	1812	10,6	10,5
Rhizo	39,8a	39,2a	1621ab	1363	10,1	7,7
Azo 1	39,3a	38,5a	1635ab	1489	10,9	8,4
Azo 2	40,0a	39,7a	1297b	1568	8,7	8,6
Azo 3	38,5ab	39,2a	1815a	1580	11,4	8,8
Rhizo+Azo 1	39,7a	39,4a	1628ab	1602	10,2	9,1
Rhizo+Azo 2	40,0a	39,2a	1418ab	1443	9,5	8,2
Rhizo+Azo 3	39,2a	39,3a	1568ab	1526	10,3	8,7
N semeadura (NS)						
Com N	38,6b	38,6	1721a	1636a	10,8a	9,2a
Sem N	39,7a	39,1	1515b	1463b	9,7b	8,3b
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>					
I	<0,001	<0,001	0,007	0,245	0,234	0,130
NS	<0,001	0,179	0,003	0,019	0,014	0,020
I x NS	0,313	0,955	0,182	0,258	0,251	0,278
CV (%)	2,6	3,9	14,8	19,6	15,9	19,4

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A área foliar (AF) da cultura aumentou com os tratamentos N cobertura e Azo 3, quando comparados ao Azo 2, na safra “das águas” (Tabela 17). Já a aplicação de N na base proporcionou incrementos na AF e na MSPA, em ambas as épocas de cultivo. Os resultados observados para MSPA em condições de campo corroboram com aqueles obtidos em condições de casa de vegetação, na qual a aplicação de N na semeadura do feijoeiro também afetou de forma positiva a variável (Tabela 5). Como já discutido anteriormente, o N participa dos processos de divisão e diferenciação celular (GRASSI FILHO, 2010); assim, o fornecimento desse nutriente estimula o crescimento e desenvolvimento da cultura, contribuindo para o aumento da área foliar das plantas. Incrementos em AF, até o nível em que não ocasionem autossombreamento; possibilitam aumento da radiação solar interceptada e, conseqüentemente, da taxa fotossintética, resultando em maior acúmulo de matéria seca pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Bernardes et al. (2014), ao estudarem o efeito de fontes e doses de N em cobertura em feijoeiro irrigado cultivado no outono-inverno, observaram que o efeito das doses de N sobre o IAF ajustou-se ao modelo quadrático, no qual o máximo IAF foi obtido com a dose de 116 kg ha<sup>-1</sup> de N. Os autores afirmaram que com o aumento do IAF, houve aumento da interceptação da luz e, portanto, da fotossíntese, mas essa relação não é contínua indefinidamente, uma vez que o autossombreamento provoca uma diminuição na taxa fotossintética média por unidade de área foliar. Binotti et al. (2009) verificaram aumento na MSPA do feijoeiro com aumento da dose de N aplicado em cobertura, obtendo máxima MSPA (12 g planta<sup>-1</sup>) na dose de 154 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Na safra “das águas”, o NPA das plantas de feijão foi incrementado pelo tratamento Rhizo+Azo 2 em comparação à Azo 2, independentemente da aplicação de N na semeadura (Tabela 18). O não fornecimento de N na semeadura também afetou de forma positiva a variável nessa mesma safra. Houve interação significativa entre os fatores para NPA na safra “da seca”. Na presença da aplicação de N na semeadura, a co-inoculação com Rhizo+Azo 1 aumentou o NPA em relação ao tratamento com N cobertura (Tabela 19). Já na ausência de N na base, o Azo 3 e Rhizo+Azo 2 proporcionaram incrementos em relação ao controle e à aplicação de N cobertura. O não fornecimento de N na semeadura afetou positivamente o teor de N na parte aérea nos tratamentos Azo 1, Azo 3 e Rhizo+Azo 2.

**Tabela 18** - Teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	NPA		NAPA	
	SA	SS	SA	SS
	g kg <sup>-1</sup>		kg ha <sup>-1</sup>	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>				
Controle	29,9ab <sup>(2)</sup>	26,4ab	56,6	66,7
N cobertura	28,1ab	24,7b	51,0	79,5
Rhizo	29,1ab	26,6ab	62,9	62,7
Azo 1	29,6ab	27,0a	54,2	71,6
Azo 2	27,9b	26,8a	66,6	74,3
Azo 3	30,5ab	27,4a	53,0	68,0
Rhizo+Azo 1	28,5ab	27,7a	53,9	71,7
Rhizo+Azo 2	31,5a	27,7a	56,9	65,7
Rhizo+Azo 3	28,3ab	26,1ab	57,1	74,0
N semeadura (NS)				
Com N	28,6b	26,3b	57,2	73,3
Sem N	29,9a	27,2a	56,6	67,6
Fonte de variação	<i>P &gt; F</i>			
I	0,023	<0,001	0,510	0,460
NS	0,016	0,004	0,848	0,108
I × NS	0,259	0,015	0,736	0,136
CV (%)	6,3	4,9	22,2	21,0

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As co-inoculações (Rhizo+Azo 1 e Rhizo+Azo 2), com ou sem o fornecimento de N na semeadura, e Azo 3, sem N na base, possibilitaram aumento do NPA, porém sem reflexos no NAPA (Tabelas 18 e 19). Yadegari et al. (2010) observaram que o NPA do feijoeiro aumentou paralelamente à MSPA em plantas co-inoculadas com *Rhizobium* Rb-133 + *Pseudomonas fluorescens* P-93, resultando maior NAPA em comparação ao controle ou inoculação isolada de *Rhizobium*. O resultado obtido com a inoculação isolada de *Azospirillum*, na ausência de N na semeadura, pode ter ocorrido devido à elevada população de rizóbios nativos no solo, como já mencionado anteriormente. Desta forma, a aplicação da PGPR potencializou o efeito das bactérias diazotróficas, resultando em aumento do NPA. Contudo, os resultados observados com as co-inoculações e o com o uso isolado da PGPR, em comparação à aplicação de fertilizante nitrogenado, podem ser derivados do fato de

que o fornecimento desse nutriente, em sementeira ou cobertura, estimulou o crescimento das plantas, traduzido por incrementos observados em AF e MSPA (Tabela 17), e então houve efeito diluição. Os dados obtidos para NPA e NAPA nos experimentos de campo diferiram daqueles observados no experimento em vasos, na qual a aplicação do macronutriente na sementeira ou em cobertura proporcionou incrementos nas duas variáveis (Tabela 5).

**Tabela 19** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na sementeira do feijoeiro para teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) na safra “da seca”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na sementeira	
	Com N	Sem N
	NPA (g kg <sup>-1</sup> )	
Controle	27,0abA <sup>(2)</sup>	25,8bcA
N cobertura	24,5bA	24,9cA
Rhizo	26,4abA	26,8abcA
Azo 1	25,8abB	28,3abA
Azo 2	26,8abA	26,9abcA
Azo 3	25,8abB	29,0aA
Rhizo+Azo 1	27,9aA	27,6abcA
Rhizo+Azo 2	26,4abB	29,0aA
Rhizo+Azo 3	25,7abA	26,5abcA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.2.5 Componentes da produção, produtividade de grãos, teor e produtividade de proteína bruta

Não houve efeito de nenhum dos fatores sobre a população final de plantas (PF) e massa de 100 grãos (M100G), nas duas épocas de cultivo, e nem para o número de grãos por vagem (NGV) na safra “das águas” (Tabela 20). A PF foi menor na safra “das águas”, provavelmente devido à utilização de inoculante líquido que prejudicou a distribuição de sementes. De acordo com Souza et al. (2002), o intervalo de 100.000 a 400.000 plantas ha<sup>-1</sup> resulta em produtividades equivalentes. Alves et al. (2009) ao avaliarem quatro cultivares de feijoeiro (BRS Radiante, Ouro Vermelho, Bolinha e Novo Jalo) em cinco densidades populacionais (100, 200, 300, 400 e 500 mil plantas ha<sup>-1</sup>) não observaram influência na produtividade de grãos. Isso se deve a capacidade de compensação dos componentes primários da

produção do feijoeiro, que proporciona produtividades semelhantes utilizando populações diferentes (ARF et al., 2011). A redução na M100G, observada na safra “da seca”, pode ser decorrente de elevadas temperaturas (Figura 1) e problemas com ataque da lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens* Walker) ocorridos durante a fase reprodutiva do feijoeiro.

**Tabela 20** – População final de plantas (PF), número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV) e massa de 100 grãos (M100G) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	PF		NVP		NGV		M100G	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	plantas ha <sup>-1</sup>		- n° planta <sup>-1</sup> -		n° vagem <sup>-1</sup>		g	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>								
Controle	176.852	285.417	14,1b <sup>(2)</sup>	9,0	4,6	3,8	24,4	16,6
N cobertura	175.000	308.334	23,9a	7,3	4,2	4,3	25,5	18,1
Rhizo	201.852	306.250	17,6b	7,3	4,7	4,2	25,4	18,0
Azo 1	195.371	320.139	13,5b	7,6	4,7	4,0	25,2	17,3
Azo 2	219.445	327.778	15,7b	7,7	4,2	3,7	24,8	16,5
Azo 3	187.963	286.111	17,8b	8,5	5,0	3,8	24,7	17,8
Rhizo+Azo 1	194.444	289.583	15,5b	8,3	4,6	4,1	24,1	17,5
Rhizo+Azo 2	204.630	288.889	16,0b	7,7	4,6	4,3	24,9	17,9
Rhizo+Azo 3	181.481	327.778	16,6b	8,1	4,4	4,1	24,9	16,9
N semeadura (NS)								
Com N	194.444	303.858	17,4	8,2	4,6	4,0	24,8	17,3
Sem N	191.564	305.093	16,0	7,7	4,5	4,0	24,9	17,5
Fonte de variação								
	<i>P &gt; F</i>							
I	0,682	0,193	<0,001	0,584	0,201	0,402	0,677	0,464
NS	0,802	0,900	0,069	0,303	0,201	0,935	0,634	0,685
I × NS	0,701	0,354	0,252	0,018	0,143	0,039	0,965	0,727
CV (%)	21,7	13,6	16,6	22,1	11,5	14,7	5,2	10,1

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra “das águas”, o tratamento com N cobertura proporcionou incremento no número de vagens por planta (NVP) em relação aos demais tratamentos (Tabela 20). Houve interação significativa entre inoculação e N na semeadura para NVP e NGV do feijão “da seca”. Não houve diferença entre as formas de inoculação para NVP, independentemente do fornecimento ou não de N na semeadura (Tabela 21). A aplicação do nutriente na base incrementou o NVP nos tratamentos N cobertura e

Azo 3 e reduziu no Rhizo+Azo 1. Segundo Silva et al. (2009), acréscimos no número de vagens por planta, com o incremento de doses de N aplicadas em cobertura, podem ocorrer como consequência da maior altura de plantas e/ou da maior emissão de ramos reprodutivos.

O desdobramento da interação para NGV do feijoeiro na safra “da seca” mostrou que, também não houve diferença entre as formas de inoculação, com ou sem a presença de N na sementeira (Tabela 21). A não aplicação de N na base aumentou o NGV no tratamento Rhizo+Azo 3. Yadegari e Rahmani (2010) observaram que a co-inoculação do feijoeiro com *Rhizobium* Rb-133 e *Pseudomonas fluorescens* P-93 proporcionou maior NVP, NGV e M100G, resultando em maior produtividade. Porém, os autores ressaltaram que, apesar dos resultados positivos obtidos com a co-inoculação Rb-133 + *P. fluorescens* P-93, a aplicação complementar de N, via fertilizantes, é necessária em solos com baixo teor do elemento.

**Tabela 21** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na sementeira do feijoeiro para número de vagens por planta (NV) e número de grãos por vagem (NG) do feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante a safra “da seca”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na sementeira			
	Com N		Sem N	
	NV (nº planta <sup>-1</sup> )		NG (nº planta <sup>-1</sup> )	
Controle	9,3aA <sup>(2)</sup>	8,7aA	3,7aA	4,0aA
N cobertura	8,6aA	6,0aB	4,2aA	4,3aA
Rhizo	6,3aA	8,3aA	3,8aA	4,5aA
Azo 1	7,7aA	7,6aA	3,9aA	4,1aA
Azo 2	7,2aA	8,1aA	4,1aA	3,3aA
Azo 3	9,9aA	7,0aB	4,2aA	3,5aA
Rhizo+Azo 1	6,9aB	9,7aA	4,3aA	3,9aA
Rhizo+Azo 2	8,7aA	6,8aA	4,5aA	4,1aA
Rhizo+Azo 3	8,8aA	7,5aA	3,6aB	4,6aA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra “das águas”, os tratamentos com N cobertura e co-inoculação com Rhizo+Azo 2 aumentaram a produtividade de grãos em aproximadamente 20%, quando comparados ao controle, embora não tenha sido observada diferença estatística entre os fatores estudados (Tabela 22). Destaca-se também que a

produtividade de grãos proporcionada pelo tratamento Rhizo+Azo 2 foi similar aquela obtida com aplicação de N em cobertura. O teor de proteína bruta nos grãos (TPB) nas duas épocas de cultivo, bem como a produtividade de proteína bruta (PPB) na safra “das águas”, também não foram afetados por nenhum dos fatores.

**Tabela 22** - Produtividade de grãos, teor de proteína bruta nos grãos (TPB) e produtividade de proteína bruta dos grãos (PPB) do feijoeiro comum submetido a diferentes tratamentos de inoculação/co-inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, com e sem N na semeadura, conduzido em condições de campo nas safras “das águas” (SA) e “da seca” (SS).

Tratamento	Produtividade de grãos		TPB		PPB	
	SA	SS	SA	SS	SA	SS
	kg ha <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>		kg ha <sup>-1</sup>	
Inoculação (I) <sup>(1)</sup>						
Controle	2.972	1.680	172,4	189,6	451,0	269,6
N cobertura	3.606	1.730	172,1	196,1	539,4	290,1
Rhizo	3.077	1.722	180,6	207,5	483,2	306,5
Azo 1	3.182	1.638	177,6	199,7	494,9	280,0
Azo 2	2.492	1.489	172,3	196,9	378,5	251,9
Azo 3	2.763	1.744	173,1	199,7	419,4	298,8
Rhizo+Azo 1	2.844	1.718	174,1	198,3	432,1	286,1
Rhizo+Azo 2	3.629	1.789	179,9	194,0	567,3	296,7
Rhizo+Azo 3	2.765	1.866	174,7	199,4	421,0	320,1
N semeadura (NS)						
Com N	3.148	1.760	176,3	198,1	484,3	297,5
Sem N	2.925	1.657	174,1	197,8	446,1	280,2
Fonte de variação			<i>P &gt; F</i>			
I	0,105	0,890	0,648	0,730	0,094	0,705
NS	0,247	0,329	0,392	0,950	0,206	0,293
I x NS	0,933	0,003	0,338	0,229	0,813	0,004
CV (%)	22,9	26,0	5,4	8,6	23,5	24,0

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Houve interação significativa entre inoculação e N na semeadura para produtividade de grãos e PPB, na safra “da seca” (Tabela 22). No entanto, apesar de grandes variações numéricas entre os tratamentos, a análise do desdobramento da interação demonstrou não haver diferença estatística significativa entre as formas de inoculação, com ou sem N na semeadura, tanto para produtividade de grãos, quanto para PPB (Tabela 23). O fornecimento de N na base proporcionou incremento de produtividade de grãos e PPB nos tratamentos Azo 3 e Rhizo+Azo 2

e redução no Rhizo+Azo 1, em comparação com a ausência de N na sementeira. Os resultados observados para PPB são derivados daqueles obtidos para produtividade de grãos, visto que não foram observadas diferenças para TPB.

**Tabela 23** - Desdobramento da interação significativa entre inoculação e nitrogênio na sementeira do feijoeiro para produtividade de grãos e produtividade de proteína bruta (PPB) do feijoeiro comum conduzido em condições de campo durante a safra “da seca”.

Inoculação <sup>(1)</sup>	N na sementeira			
	Com N	Sem N	Com N	Sem N
	Produtividade de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )		PPB (kg ha <sup>-1</sup> )	
Controle	1.689aA <sup>(2)</sup>	1.670aA	279,8aA	259,4aA
N cobertura	1.976aA	1.485aA	317,3aA	262,9aA
Rhizo	1.526aA	1.918aA	274,2aA	338,7aA
Azo 1	1.620aA	1.656aA	273,0aA	286,9aA
Azo 2	1.584aA	1.395aA	273,8aA	230,1aA
Azo 3	2.222aA	1.267aB	384,2aA	213,3aB
Rhizo+Azo 1	1.312aB	2.125aA	232,1aB	340,1aA
Rhizo+Azo 2	2.200aA	1.379aB	352,6aA	240,9aB
Rhizo+Azo 3	1.714aA	2.019aA	290,9aA	349,4aA

<sup>(1)</sup> Controle: sem N em cobertura e sem inoculação; N cobertura: aplicação de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura em V4; Rhizo: inoculação com *R. tropici* 2,5 × 10<sup>6</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 1: inoculação com *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 2: inoculação com *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Azo 3: inoculação com *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 1: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 2: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>; Rhizo+Azo 3: co-inoculação *R. tropici* + *A. brasilense* 5,0 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup>. <sup>(2)</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se grande variabilidade nas respostas obtidas com a inoculação/co-inoculação em feijoeiro (Tabelas 22 e 23). Alguns fatores concorrem para essa ampla variação, dentre os quais se destacam: existência generalizada e diversificada de rizóbios nativos nos solos, que interagem diferencialmente com os diversos cultivares utilizados e apresentam vantagem competitiva em relação as estirpes presentes nos inoculantes, acarretando em prejuízos à nodulação e, conseqüente, à FBN; fatores ambientais limitantes ao processo de fixação biológica como temperatura, umidade, acidez do solo e deficiências nutricionais, especialmente de P e molibdênio (Mo), que afetam de forma negativa tanto as bactérias, quanto a planta hospedeira; diversidade de cultivares de feijão utilizados, sendo que cada qual apresenta maior ou menor aptidão para FBN/adubação nitrogenada; aplicação de fertilizantes nitrogenados que podem promover efeito deletério sobre a nodulação, afetando a FBN; dentre outros (CASSINI; FRANCO,



2006). Gitti et al. (2012) verificaram que a inoculação de sementes de feijão com *A. brasilense* proporcionou aumento numérico no teor de N foliar, MSPA, componentes da produção e produtividade de grãos, no entanto os incrementos não foram estatisticamente significativos. Hungria, Nogueira e Araujo (2013), ao conduzirem cinco experimentos com feijoeiro, em dois locais, por três estações de cultivo, observaram que a co-inoculação de *R. tropici*, via sementes, e *A. brasilense*, via sulco de semeadura, resultou em aumento na produtividade de grãos, em média de 19,6% em comparação com a população de rizóbios nativos, e 14,7% quando comparado com a inoculação exclusivamente com rizóbios. Peres (2014) concluiu que a co-inoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* e as inoculações isoladas de rizóbio e de *Azospirillum* associadas à aplicação de 40 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, bem como a testemunha sem inoculação com aplicação de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura não proporcionam acréscimos na produtividade de grãos em relação a testemunha sem inoculação com 40 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura.

Às repostas do feijoeiro à adubação nitrogenada de semeadura e/ou cobertura também são controversas, demonstrando que a dinâmica desse elemento é bastante complexa. Os resultados podem variar em função de fatores como: cultura anterior, quantidade e composição de resíduos vegetais, fertilidade do solo, sistema de cultivo, clima, irrigação, existência de rizóbios nativos no solo que podem fixar N contribuindo com o fornecimento do nutriente, dentre outros (ROSOLEM, 1987; PELEGRIN et al., 2009; PERES, 2014). Barros et al. (2013) observaram que a inoculação com rizóbio acrescida de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura não inibiu a nodulação e propiciou acréscimo de massa seca de parte aérea e de produtividade de grãos. Pelegrin et al. (2009) verificaram que a inoculação com *R. tropici* acrescida de adubação nitrogenada na semeadura (20 kg ha<sup>-1</sup> de N) possibilitou a obtenção de produtividade de grãos de feijão equivalente à aplicação de até 160 kg ha<sup>-1</sup> de N; no entanto, a aplicação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no sulco sem inoculação também proporcionou resultado semelhante. Brito, Muraoka e Silva (2011) concluíram que a associação simbiótica em feijão comum necessita de uma dose de arranque (40 kg ha<sup>-1</sup> de N) para a obtenção de produtividade economicamente aceitável. Porém, os autores também ressaltam que incrementos na dose de N proporciona redução na FBN em plantas de feijão comum e de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Crusciol et al. (2007), ao avaliarem as doses de 0, 30, 60 e 120 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, concluíram que a adubação nitrogenada proporcionou aumento da produtividade do

feijoeiro até a dose estimada de 95 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia. Valderrama et al. (2009) observaram que houve efeito linear crescente na produtividade do feijoeiro em plantio direto com o aumento da dose de N, sendo que a maior dose (120 kg ha<sup>-1</sup> de N) incrementou em 14,5% (293 kg ha<sup>-1</sup> de grãos) em relação a dose zero. Souza, Soratto e Pagani (2011) verificaram que a produtividade é pouco influenciada pela adubação nitrogenada.

A produção agrícola pode ser melhorada com o emprego de microrganismos, os quais, já representam importantes ferramentas no cenário atual e, provavelmente, terão ainda mais destaque num futuro próximo. A inoculação de bactérias fixadoras de N, simbióticas e associativas, isoladas ou co-inoculadas, pode contribuir para o fornecimento de N às plantas, reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados e, com isso, os custos de produção; além de contribuir para a preservação do ambiente. No entanto, diversos fatores podem interferir na FBN, dentre os quais a aplicação de fertilizantes nitrogenados tem papel fundamental, podendo ser bastante prejudicial ao processo. Porém, alguns autores tem demonstrado que pequenas doses do nutriente na semeadura podem ser benéficas, atuando como um arranque inicial até o estabelecimento da FBN. Contudo, os resultados obtidos com a cultura do feijão comum ainda são contraditórios, demonstrando a necessidade de estudos mais extensos para avaliar a compatibilidade entre a aplicação de N mineral e o processo de FBN no feijoeiro.

## 5 CONCLUSÕES

Em condições de casa de vegetação, o fornecimento de N, em semeadura ou cobertura, reduziu o número e a matéria seca de nódulos e aumentou o teor e o acúmulo de N na parte aérea do feijoeiro. A aplicação de N na base proporcionou incrementos em termos de matéria seca de parte aérea, comprimento radicular e matéria seca de raízes do feijão comum.

A inoculação apenas com *A. brasilense*, combinada com o fornecimento de N na semeadura incrementou o número de nódulos e, sem N na semeadura, proporcionou maior matéria seca de nódulos e teor de ureídos no feijão “das águas”.

As co-inoculações com *R. tropici*+*A. brasilense* 2,5 × 10<sup>5</sup> células semente<sup>-1</sup> e *R. tropici*+*A. brasilense* 5,2 × 10<sup>4</sup> células semente<sup>-1</sup> combinadas com adição de 20 kg

ha<sup>-1</sup> de N na semeadura aumentaram a matéria seca de nódulos e teor de ureídeos do feijoeiro comum na safra “das águas”.

A adição de N na semeadura incrementou os teores foliares de Ca e Mg, área foliar e matéria seca de parte aérea e reduziu o teor de N na parte aérea do feijoeiro. O fornecimento de N em cobertura aumentou o teor foliar de Zn e reduziu o índice relativo de clorofila.

A aplicação de N em cobertura, com ou sem a adição do nutriente na base, aumentou o comprimento e a superfície radicular.

Apesar da discrepância entre alguns tratamentos, as formas de inoculação/co-inoculação e aplicação de N em cobertura não afetaram significativamente a produtividade de grãos do feijoeiro comum cultivado em sistema de semeadura direta.

## REFERÊNCIAS

ABREU, Â. F. B. Introdução e Importância Econômica. In: EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Cultivo do feijão da primeira e segunda safras na Região Sul de Minas Gerais**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafraSulMG/index.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

ALCÂNTARA, R. M. C. M.; ROCHA, M. M.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. **Estado atual da arte quanto à seleção e o melhoramento de genótipos para a otimização da FBN**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009. 34 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 196).

ALVES, A. F.; ANDRADE, M. J. B.; RODRIGUES, J. R. M., VIEIRA, N. M. B. Densidades populacionais para cultivares alternativas de feijoeiro no norte de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 6, p. 1495-1502, 2009.

AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, London, v. 47, p. 996-1006, 1997.

AMBROSANO, E. J.; TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, A. A.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. p. 189-203 (Boletim Técnico 100).

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Arlington: Association of official analytical chemists inc., 1990. 684p.

ARF, M. V.; BUZETTI, S.; ARF, O.; KAPPES, C.; FERREIRA, J. P.; GITTI, D. C. YAMAMOTO, C. J. Fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em feijoeiro de inverno sob sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 430-438, 2011.

ARF, O. Importância da adubação na qualidade do feijão e caupi. In: SÁ, M. E.; BUZETTI, S. **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas**. São Paulo: Ícone, 1994. p. 233-248.

BÁRBARO, I. M.; BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. **Técnica alternativa**: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento e produtividade. [S. l.: s.n.] 2008. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_4/coinoculacao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm)>. Acesso em: 04 abr. 2016.

BARBOSA FILHO, M. P.; FAGERIA, N. K.; SILVA, O. F. Fontes, doses e parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura para feijoeiro comum irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, p. 69-76, 2005.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. (Eds.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 272).

BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.; MAGALHÃES, W. B.; MÉDICI, L. O.; PIMENTEL, C. Interação entre inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada de plantio na produtividade do feijoeiro nas épocas da seca e das águas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1443-1450, 2013.

BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advances**, New York, v. 16, p. 729-770, 1998.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford: Elsevier, v. 1, 2005. p. 103-115.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BERNARDES, T. G.; SILVEIRA, P. M.; MESQUITA, M. A. M.; CUNHA, P. C. R. Resposta do feijoeiro de outono-inverno a fontes e doses de nitrogênio em cobertura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 458-468, 2014.

BINOTTI, F. F. S.; ARF, O.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, A. C.; KAMIMURA, K. M. Fontes, doses e modo de aplicação de N em feijoeiro no sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 473-481, 2009.

BLOOM, A. J.; JACKSON, L. E.; SMART, D. R. Root growth as a function of ammonium and nitrate in the root. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 16, p. 199-206, 1993.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Eds.). **Feijão**. Viçosa: UFV, 2006. p. 13-18.

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

BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, p. 206-215, 2011.

BROUWER, R. Beziehungen zwischen Spross-und Wurzelwachstum. **Angewandte Botanik**, Hamburg, v. 41, p. 244-250, 1967.

BROUWER, R.; DE WIT, C. T. A simulation model of plant growth with special attention to root growth and its consequences. In: WHITTINGTON, W. J. (Ed.). **Root Growth**. London: Butterworths. 1969. p. 224-244.

BURDMAN, S.; HAMAOU, B.; OKON, Y. **Improvement of legume crop yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium***. The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. Israel: The Hebrew University of Jerusalem, 2000.

BURDMAN, S.; SARIG, S.; KIGEL, J.; OKON, Y. Field inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and chick pea (*Cicer arietinum* L.) with *Azospirillum brasilense* strain Cd. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 21, p. 41-48, 1997.

BURDMAN, S.; VOLPIN, H.; KIGEL, J.; KAPULNIK, Y.; OKON, Y. Promotion of nod Gene Inducers and Nodulation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) Roots inoculated with *Azospirillum brasilense* Cd. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 8-18, p. 3030-3033, 1996.

CARVALHO, W. A.; ESPINDOLA, C. R.; PACCOLA, A. A. Levantamento de solos da Fazenda Lageado – Estação Experimental “Presidente Médice”. **Boletim Científico da Faculdade de Ciências Agrônômicas**, Botucatu, 1983. p. 95.

CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Eds.). ***Azospirillum* sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. 268 p.

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, J.; BORÉM, A. (Eds.). **Feijão**. Viçosa: UFV, 2006. p. 143-170.

CHAVARRIA, G.; MELLO, N. Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 125, 2011.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Séries históricas de área plantada, produtividade e produção**. 2017. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina\\_objcmsconteudos=2#A\\_objcmsconteudos](http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos)>. Acesso em: 19 dez. 2017.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE 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. (Eds.). ***Azospirillum sp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 87-95.

CORSINI, D. C. D. C. **Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em cobertura em feijoeiro de inverno irrigado em sistema plantio direto.** 2014. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2014.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; SILVA, L. M.; LEMOS, L. B. Fontes e doses de nitrogênio para o feijoeiro em sucessão a gramíneas no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1545-1552, 2007.

CTSBF - COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira.** 2. ed. Florianópolis: Epagri, 2012. 157 p.

DARDANELLI, M. S.; CÓRDOBA, F. J. F.; ESPUNY, M. R.; CARVAJAL, M. A. R.; DÍAZ, M. E. S.; SERRANO, A. M. G.; OKON, Y.; MEGÍAS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 11, p. 2713-2721, 2008.

DEVI, M. J.; SINCLAIR, T. R.; BEEBE, S. E.; RAO, I. M. Comparison of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for nitrogen fixation tolerance to soil drying. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 364, n. 1, p. 29-37, 2013.

DÖBEREINER, J.; DUQUE, F. F. Contribuição da pesquisa em fixação biológica de nitrogênio para o desenvolvimento do Brasil. **Revista de Economia Rural**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 447-460, 1980.

DODD, I. C.; ZINOVKINA, N. Y.; SAFRONOVA, V. I. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 157, p. 361–379, 2010.

DREW, M. C. Comparison of the effect of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system, and the shoot, in barley. **New Phytologist**, Chichester, v. 75, p. 479-490, 1975.

DROZDOWICZ, A. Bactérias do solo. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Biologia dos solos dos Cerrados.** Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 17-60.

DURIEUX, R. P.; KAMPRATH, E. J.; JACKSON, W. A.; MOLL, R. H. Root distribution of corn: the effect of nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 958-962, 1994.

ELMERICH, C.; NEWTON, W. E. **Associative and endosymbiotic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations.** Dordrecht: Springer, 2007. 321 p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Catálogo de cultivares de feijão comum**: 2014-2015. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2014. 20 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1011166/catalogo-de-cultivares-de-feijao-comum-2014-2015>>. Acesso em: 19 fev. 2016.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2013. 353 p.

FAGAN, E. B. **Fisiologia e nutrição mineral de plantas**. Patos de Minas, 2011. 151 p.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; DOURADO NETO, D.; VAN LIER, Q. J.; SANTOS, O. S.; MULLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja – revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia (FZVA)**, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, Newark, v. 88, n. 4, p. 97-185, 2005.

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

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat 2015**: production crops. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>> Acesso em: 12 mar. 2016.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. [S.l.: s.n.], 2006. Disponível em: <<http://www.buscagro.com/biblioteca/FerliniMicheli/CoinoculacionSoja.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2016.

FERNANDEZ, F.; GEPTS, P.; LOPES, M. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1986. 34 p.

FIGUEIREDO, M. A.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MORAIS, A. R.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Nitrogen and molybdenum fertilization and inoculation of common bean with *Rhizobium* spp. in two oxisols. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 1, p. 85-92, 2016.

FIGUEIREDO, M. V. B.; SOBRAL, J. K.; STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO J. M. Bactérias promotoras do crescimento de plantas: estratégia para uma agricultura sustentável. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. (Eds.). **Biotechnologia aplicada à agricultura**: textos de apoio e protocolos experimentais. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2010. 761 p.

FULLIN, E. A.; ZANGRANDE, M. B.; LANI, J. A.; MENDONÇA, L. F.; DESSAUNE FILHO, N. Nitrogênio e molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1145-1149, 1999.

FURTINI, I. V.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; FURTINI NETO, A. E. F. Resposta diferencial de linhagens de feijoeiro ao nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1696-1700, 2006.

GARCIA, A.; SÁ, M. E.; RODRIGUES, R. S.; CASTAN, D. O. C.; MARQUES, L. M.; SILVA, M. P. Teor de clorofila em feijoeiro cv. Pérola em função de doses de N, cultivado sobre quatro coberturas de solo em plantio direto. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. CD-ROM.

GERMAN, M. A.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; KIGEL, J. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 32, n. 3, p. 259-264, 2000.

GITTI, D. C.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; RODRIGUES, R. A. F.; BUZETTI, S.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C. Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 5, n.15, p. 36-46, 2012.

GRANATO, J. C.; RAPER, C. D. J. Proliferation of maize (*Zea mays* L.) roots in response to localized supply of nitrate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 211, p. 263-275, 1989.

GRASSI FILHO, H. Funções do nitrogênio e enxofre nas plantas. In: VALE, D. W.; SOUSA, J. I.; PRADO, R. M. **Manejo da fertilidade do solo e nutrição de plantas**. Jaboticabal: FCAV, 2010. p. 187-197.

GRIME, J. P.; CRICK, J. C.; RINCON, J. E. The ecological significance of plasticity. In: JENNINGS, D. H.; TREWAVAS, A. J. (Eds.). **Plasticity in Plants**. Company of Biologists Limited, Cambridge, 1986. p. 5-29.

HAFEEZ, F. Y.; NAEEM, F. I.; NAEEM, R.; ZAIDI, A. H.; MALIK, K. A. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* isolated from agriculture soils in Faisalabad. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 54, p. 142-147, 2005.

HANSEN, A. P.; YONEYAMA, T.; KOUCHI, H.; MARTIN, P. Respiration and nitrogen fixation of hydroponically cultured *Phaseolus vulgaris* L. cv. OAC Rico and a supernodulating mutant I. Growth, mineral composition and effect of sink removal. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 189, p. 538-545, 1993.

HARLAN, J. R. Agricultural origins: centers and no centers. **Science**, Washington, v. 174, p. 468-474, 1971.

HARTMANN, A.; BALDAM, J. I. The genus *Azospirillum*. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. (Eds.). **The Prokaryotes**. New York: Springer, p. 115-140, 2006.

HARTMANN, A.; ROTHBALLER, M.; SCHMID, M. *Lorenz hiltner*, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 312, p. 7-14, 2008.



HODGE, A.; ROBINSON, D.; GRIFFITHS, B. S.; FITTER, A. H. Why plants bother: root proliferation results in increased nitrogen capture from an organic patch when two grasses compete. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 22, p. 811-820, 1999.

HOFFMAN, B. M.; LUKOYANOV, D.; YANG, Z. Y.; DEAN, D. R.; SEEFELDT, L. C. Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: the next stage. **Chemical Reviews**, Washington, v. 114, p. 4041-4062, 2014.

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. (Eds.). **Azospirillum sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*:** inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M. Metabolismo do carbono e do nitrogênio nos nódulos. In: HUNGRIA, M; ARAUJO, R. S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 249-283.

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**, Berlim, v. 39, n. 2, p. 88-93, 2003.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja.** Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 35) (Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 13).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWA, P. K. (Eds.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity.** Stadium Press, Houston, 2006a. p. 43-93.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N<sub>2</sub> fixation and of N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 86, p. 927–939, 2006b.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: Werner, D.; Newton, W. E. (Eds.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology and the environment.** Springer, Dordrecht, 2005. p. 25-42.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; MERCANTE, F. M. **Tecnologia de fixação biológica de nitrogênio com feijoeiro:** viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 32 p. (Embrapa Soja. Documentos, 338).

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**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.

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

JACKSON, R. B.; CAIDWELL, M. M. The timing and degree of root proliferation in fertile-soil microsites for 3 cold-desert perennials. **Oecologia**, Heidelberg, v. 81, p. 149-153, 1989.

JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Eds.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v. 1, 1984. p. 235-244.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2008. 431 p.

KLUTHCOUSKI, J.; AIDAR, H.; THUNG, M.; OLIVEIRA, F. R. A. **Manejo antecipado do nitrogênio nas principais culturas anuais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 63 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 188).

LAGO, F. J.; FURTINI NETO, A. E.; FURTINI, I. V.; RAMALHO, M. A. P.; HORTA, I. M. F. Frações nitrogenadas e eficiência nutricional em linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 440-447, 2009.

LAWN, R. J.; BRUN, W. A. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source sink manipulations. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 11-16, 1974.

LOMBARDI NETO, F.; DRUGOWICH, M. **Manual técnico de manejo e conservação de solo e água**. Campinas: CATI, v. 2, 1994. 168 p.

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**, Londrina, 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**, Viçosa, v. 36, p. 183-192, 2012.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo, Ceres, 1980. 251 p.

MALAVOLTA, E. Leguminosas. In: \_\_\_\_\_ **Manual de calagem e adubação das principais culturas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1987. p. 112.

MALAVOLTA, E., VITTI, G. C., OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós, 1997. 308 p.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2012. 672 p.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F. M.; ; FRANCO, A. A.; GRAHAM, P.; PARDO, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Iowa, v. 41, n. 3, p. 417-426, 1991.

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**, Brasília, DF, v. 40, n. 4, p. 383-388, 2005.

MELO, L. C.; MELO, P. G.; FARIA, L. C.; DIAZ, J. L. C.; DEL PELOSO, M. J.; RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C. Interação com ambientes e estabilidade de genótipos de feijoeiro-comum na Região Centro-Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 715-723, 2007.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; HUNGRIA, M.; SOUSA, D. M. G.; CAMPO, R. J. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 1053-1060, 2008.

MERCANTE, F. M.; TEIXERA, M. G.; ABOUD, A. C. S.; FRANCO, A. A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. **Revista Universidade Rural: série ciência da vida**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1/2, p. 127-146, 1999.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, J. A. A.; STONE, L. F.; BIAVA, M. **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 203 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F. L.; DIAS, B. G.; VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 73, p. 121-132, 2002.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as commercial inoculant for improving crop yields. **Biotechnology Advances**, New York, v. 13, n. 3, p. 415-424, 1995.

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 90, p. 3-16, 1986.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

OLIVEIRA, I. P.; FAGERIA, N. K. Calagem e Adubação. In: MOREIRA, J. A. A.; STONE, L. F.; BIAVA, M. (Eds.). **Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 39-53.

OLIVEIRA, J. P.; GALLI-TERASAWA, L. V.; ENKE, C. G.; CORDEIRO, V. K.; ARMSTRONG, L. C. T.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of rhizobia in a Brazilian oxisol nodulating Mesoamerican and Andean genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 27, n. 3, p. 643-650, 2011.

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F. M.; MIYUKI, I.; OTSUBO, N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

PEREIRA, P. A. A.; ARAÚJO, R. S.; ROCHA, R. E. M.; STEINMETZ, S. Capacidade de genótipos de feijoeiro de fixar N<sub>2</sub> atmosférico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 7, p. 811-815, 1984.

PERES, A. R. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação: produção e qualidade fisiológica de sementes**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2014.

RAAIJMAKERS, J. M.; PAULITZ, T. C.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C.; MOËNNE-LOCCOZ, Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 321, p. 341-361, 2008.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 284 p.

RAPOSEIRAS, R.; MARRIEL, I. E.; MUZZI, M. R. S.; PAIVA, E.; PEREIRA FILHO, I. A.; CARVALHAIS, L. C.; PASSOS, R. V. M.; PINTO, P. P.; SÁ, N. M. H. *Rhizobium* strains competitiveness on bean nodulation in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 439-447, 2006.

REIS JÚNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; REIS, V. M.; HUNGRIA, M. Fixação biológica de nitrogênio: uma revolução na agricultura. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. (Eds.). **Biotechnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. p. 247-281.

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 32).

RIBEIRO, R. A.; ROGEL, M. A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; BARCELLOS, F. G.; MATÍNEZ, J.; THOMPSON, F. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Reclassification of *Rhizobium tropici* type A strains as *Rhizobium leucaenae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 62, n. 5, p. 1179-1184, 2012.

ROBINSON, D. The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. **New Phytologist**, Chichester, v. 127, p. 635–674, 1994.

ROBINSON, D.; HODGE, A.; GRIFFITHS, B. S.; FITTER, A. H. Plant root proliferation in nitrogen-rich patches confers competitive advantage. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 26, p. 431–435, 1999.

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

ROSOLEM, C. A. **Nutrição e adubação do feijoeiro**. Piracicaba, POTAFÓS, 1987. 93 p.

ROSOLEM, C. A.; MARUBAYASHI, O. M. **Seja o doutor do seu feijoeiro**. Piracicaba: Potafós, 1994. 16 p. (Encarte Informações Agronômicas, 68).

SAMUELSON, M. E.; ELIASSON, L.; LARSSON, C.-M. Nitrate-regulated growth and cytokinin responses in seminal roots of barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p. 309-315, 1991.

SANTOS, A. B.; FAGERIA, N. K. Manejo do nitrogênio para eficiência de uso por cultivares de feijoeiro em várzea tropical. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 1237-1248, 2007.

SCHUBERT, M. **Carbon partitioning in nitrogen-fixing root nodules**. 2002. PhD thesis - University of Göttingen, 2002.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, London, v. 43, p. 374-377, 1993.

SILVA, E. F.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F.; MERCANTE, F. M.; RODRIGUES, E. T.; VITORINO, A. C. T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada a exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, p. 443-451, 2009.

SOARES, B. L. **Avaliação técnico-econômica do feijoeiro-comum inoculado com rizóbio em diferentes ambientes**. 2011. 150 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SORATTO, R. P.; CARVALHO, M. A. C.; ARF, O. Nitrogênio em cobertura no feijoeiro cultivado em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 259-265, 2006.

SORATTO, R. P.; CARVALHO, M. A. C.; ARF, O. Teor de clorofila e produtividade do feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 895-901, 2004.

SORATTO, R. P.; CATUCHI, T. A.; SOUZA, E. F. C.; GARCIA, J. L. N. Plant density and nitrogen fertilization on common bean nutrition and yield. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 3, p. 670-678, 2017.

SORATTO, R. P.; FERNANDES, A. M.; SANTOS, L. A.; JOB, A. L. G. Nutrient extraction and exportation by common bean cultivars under different fertilization levels: I - Macronutrients. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 1027-1042, 2013.

SOUZA, A. B.; ANDRADE, M. J. B.; MUNIZ, J. A.; REIS, R. P. Populações de plantas e níveis de adubação e calagem para o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em um solo de baixa fertilidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 87-98, 2002.

SOUZA, D. M. G.; LOBATO, E. Calagem e adubação para culturas anuais e semiperenes. In: SOUZA, D. M. G.; LOBATO, E. (Eds.). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 283-315.

SOUZA, E. F. C.; SORATTO, R. P.; PAGANI, F. A. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 4, p. 370-377, 2011.

STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2002. 6 p.

STRALIOTTO, R. **Cultivo do feijoeiro comum: fixação biológica de nitrogênio**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M. G.; MERCANTE, F. M. Fixação biológica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. (Eds.). **Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. p. 122-153.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TENNANT, D. A. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Chichester, v. 63, p. 995-1001, 1975.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, p. 1016-1024, 1979.

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, p. 131-138, 1993.

VALADÃO, F. C. A.; JAKELAITIS, A.; CONUS, L. A.; BORCHARTT, L.; OLIVEIRA, A. A.; VALADÃO JUNIOR, D. D. Inoculação das sementes e adubações nitrogenada e molíbdica do feijoeiro-comum, em Rolim de Moura, RO. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 39, n. 4, p 741-748, 2009.

VALDERRAMA, M.; BUZETTI, S.; BENETT, C. G. S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M. E. Fontes e doses de nitrogênio e fósforo em feijoeiro no sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 3, p. 191-196, 2009.

VEDDER-WEISS, D.; JURKEVITCH, E.; BURDMAN, S.; WEISS, D.; OKON, Y. Root growth, respiration and  $\beta$ -glucosidase activity in maize (*Zea mays*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 26, p. 363–377, 1999.

VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Eds.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 115-136.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell, Scientific Publications, 1970. 119 p. (International Biological Programme Handbook, 15).

VOGELS, G. D.; van der DRIFT, C. Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 33, p. 43-57, 1970.

VOLPIN, H.; KAPULNIK, Y. Interaction of *Azospirillum* with beneficial soil microorganisms. In: OKON, Y (Ed.). **Azospirillum/plant associations**. Boca Raton: CRC, 1994. p. 111-118.

WILLIAN, R. D. Fisiologia das plantas eficientes (C4) e ineficientes (C3). In: WARREN, G. F.; WILLIAN, R. D.; FISHER, H. H.; SACCO, J. C.; LAMAS; ALBERT, C. A. **Curso intensivo de controle de ervas daninhas**. Viçosa: UFV, 1973. p. 68-79.

YADEGARI, M.; RAHMANI, H. A. Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds' inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting *Rhizobacteria* (PGPR) on yield and yield components. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 5, p. 792–799, 2010.

YADEGARI, M.; RAHMANI, H. A.; NOORMOHAMMADI, G.; AYNEBAND, A. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 33, p. 1733-1743, 2010.