

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
25/11/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

JULIANA TRINDADE MARTINS

**USO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COMO TÉCNICA DE
FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO NO FEIJOEIRO EM SISTEMA
ORGÂNICO E SOJA**

**Ilha Solteira
2021**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA (SISTEMAS DE
PRODUÇÃO)

JULIANA TRINDADE MARTINS

**USO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COMO TÉCNICA DE
FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO NO FEIJOEIRO EM SISTEMA
ORGÂNICO E SOJA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de
Ilha Solteira – UNESP como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutora
em Agronomia. Especialidade: Sistemas de
Produção.

Orivaldo Arf
Orientador

Neli Cristina Belmiro dos Santos
Coorientadora

Ilha Solteira
2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

M386u Martins, Juliana Trindade.
Uso de bactérias diazotróficas como técnica de fornecimento de nitrogênio no feijoeiro em sistema orgânico e soja / Juliana Trindade Martins. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021
177 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2021

Orientador: Orivaldo Arf
Coorientador: Neli Cristina Belmiro dos Santos
Inclui bibliografia

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Adubação orgânica. 3. Sustentabilidade. 4. Rentabilidade. 5. *Rhizobium tropici*/ *Azospirillum brasilense*. 6. *Phaseolus vulgaris* L.


Raiane da Silva Santos

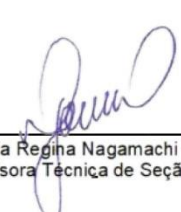
Seção Técnica de Referência, Arquivamento e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB3 - 9999

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **JULIANA TRINDADE MARTINS**, RA nº: AGR180475, RG nº 48.669.694-7, expedido pela SSP/SP, defendeu, no dia 25/11/2021, a tese intitulada **Uso de bactérias diazotróficas como técnica de fornecimento de nitrogênio no feijoeiro em sistema orgânico e soja.**, junto ao Programa de Pós Graduação em Agronomia, Curso de Doutorado, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Ilha Solteira, 25 de novembro de 2021



Márcia Regina Nagamachi Chaves
Supervisora Técnica de Seção – STPG

DEDICO

Ao meu avô Domingos Martins (*in memoriam*), por todo amor, dedicação e ensinamentos. Foi uma honra ser a neta desse grande homem.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre ilumina e guia meu caminho. Sem Ele, nada seria possível.

À minha família, meu pai Domingos Martins e minha mãe Sandra Mara por todo o amor, educação, apoio, incentivo e oportunidades de estudos, que me trouxeram até aqui. Foi através do meu pai que minha paixão pela agronomia começou, um exemplo de profissional a ser seguido e de caráter. À minha irmã e melhor amiga Gabriela Martins, exemplo de mulher determinada, a qual me inspiro diariamente. Eles são a base da minha vida, não poderia ser mais feliz em compartilhar a minha vida ao lado deles. São exemplos de força, alegria e sabedoria. Aos tios(as), primas(o) e avós que sempre apoiaram o sistema orgânico. Ao meu namorado Matheus Leal, por todo o apoio, ajuda e companheirismo, tanto na vida pessoal como nos dias de trabalho do presente estudo.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Orivaldo Arf, o qual eu tenho como um exemplo de vida e de profissional. São mais de 10 anos que eu tenho a honra de trabalhar ao lado dele, o qual nunca mede esforços para ajudar a quem for preciso, seja no campo, na sala de aula ou durante a caminhada da vida. Desde a graduação, passando pelo mestrado e doutorado, foram tantas histórias, aprendizados e inúmeras conversas, que irei levar sempre no meu coração, com muito carinho. Obrigada pela confiança, paciência e companheirismo em todos esses anos.

À coorientadora Dr.^a Neli Cristina Belmiro dos Santos, por toda a disponibilidade e ajuda na condução deste trabalho e a oportunidade de conduzir o primeiro ano na área experimental da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Andradina-SP.

A todos da “Equipe Arf” e aos amigos conquistados, Daiene Corsini, Anderson Teruo, Nayara Garcia, Fernando Buzo, Lucas Garé, Letícia Zylmennith, Pedro Giova e Silvio Henrique por toda dedicação nas avaliações tanto no campo, como nos laboratórios. Não existe trabalho sem equipe, foi um grande prazer trabalhar e conviver com todos.

Agradeço aos amigos, que se fazem presentes, mesmo distantes fisicamente, Luanna Brás, Thainá Berlim, Luciana Carvalho, Tomás Alvarenga, Tiago Calves, Vinicius Martins, Carla Monezi, Dani Monezi, Guilherme Destri e Francisco Siqueira. As companheiras da

República ‘Vaca Véia’, Daniela Araújo, Regiane Carvalho, Loane Krug, Priscila de Marcos, Flávia Mendes, Jéssica Oliveira, Taina Boian, Bruna Cardozo e Camila Moraes.

Aos professores do curso de pós-graduação em Agronomia – Sistemas de Produção da UNESP – Ilha Solteira, por todo a qualidade de ensino, apoio e inspiração que proporcionam aos alunos. Em especial ao Prof. Dr. Edson Lazarini e Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá, por sempre estarem dispostos a ajudar. A Prof.^a Dr.^a Liliane Camargos e Dr. Jailson Aguilar, por toda a intensa assistência e ajuda durante a condução das análises fisiológicas. Ao Prof. Dr. Omar Sabbag por todo o auxílio e ensinamentos no capítulo de análise econômica.

À empresa Organosolvi® pela doação do composto orgânico utilizado nos três anos de cultivo deste trabalho, e por todo apoio e assistência.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Campus de Ilha Solteira, por toda sua estrutura e oportunidades proporcionadas ao longo da carreira acadêmica.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão – FEPE, em especial ao Alvino Silva, Ailton dos Santos, César Seleguin e Buchada Queiroz. Aos funcionários da seção de Pós-Graduação e do laboratório de Análise de Plantas do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia.

To the Department of Agroecology, Aarhus University, Denmark, specially to Jørgen Eriksen and Jim Rasmussen for all support during the internship, for welcoming me so well, and the opportunity to learn a lot. The technical staff of AU Foulum for all the technical support with analyses. To the Nørresø Kollegiet where I felt at home, to the friends that this experience gave me, who were essential to make happier, Estelle Leroux, Tiago Stumpf, Triven Koganti, Farzaneh Zarei, Saman Lashkari, Mélissa Devaux, Lucie Dupont, Maria Camanyes, Jéssica Occhiuzzi and Gabriele Carlino.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)- e CAPES PrInt - Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de estudos no Brasil e no exterior, e pela oportunidade da realização do doutorado-sanduíche.

Trecho do poema: Desejo (Victor Hugo)

“(...) Desejo também que você plante uma semente,
Por mais minúscula que seja,
E acompanhe o seu crescimento,
Para que você saiba de quantas
Muitas vidas é feita uma árvore (...)
E se tudo isso acontecer,
Não tenho mais nada a te desejar”.

RESUMO

O fornecimento de nitrogênio (N) com tecnologias voltadas para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas em leguminosas produtoras de grãos, é um dos desafios enfrentados pelos produtores. O uso de bactérias diazotróficas nas sementes e no período vegetativo da cultura, pode ser uma tecnologia promissora para garantir aporte de N necessário para as culturas, evitar perdas na produtividade e ainda ser rentável ao produtor. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) com diferentes metodologias, em feijão-comum em sistema orgânico e em plantas de soja, com ou sem inoculação adicional com diazotróficos aeróbios (*Rhizobium tropici*/ *Bradyrhizobium japonicum*), inoculados e/ou co-inoculados com bactérias diazotróficas. Assim, o estudo foi conduzido em área de cultivo orgânico consolidado em Andradina-SP (2018), e inicial em Selvíria- MS (2019 e 2020), com a cultura do feijão-comum em sistema orgânico irrigado. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial (2 x 5) em 2018 e (2 x 6) em 2019 e 2020, com 4 repetições. Os tratamentos constituíram de inoculação e co-inoculação nas sementes de feijão com *Rhizobium tropici* e/ou *Azospirillum brasilense*, esterco de aves em cobertura, e um produto comercial microbiológico, com ou sem inoculação adicional em V₄₋₅ com *R. tropici*. Foram avaliados: a eficiência simbiótica ao longo dos anos com análises da nodulação das plantas (número e massa seca dos nódulos), componentes de produção, produtividade, análises fisiológicas dos compostos nitrogenados (ureídeos totais), concentrações foliares de açúcares totais, sacarose, pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas, custo de produção total e indicadores de rentabilidade. Além disso, foi avaliado a estimativa da FBN com a metodologia de diluição isotópica de ¹⁵N, em plantas de soja que receberam inoculação nas sementes e adicionais com *Bradyrhizobium japonicum*, em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura, em solo sem histórico de cultivo de soja, na Universidade de Aarhus, Centro de Pesquisa em Foulum- Dinamarca. Foi observado que o histórico de cada área experimental é particular na singularidade dos resultados. Porém, é recomendado o uso de bactérias diazotróficas como tecnologia sustentável tanto para o feijão-comum em sistema orgânico como para a soja. A inoculação adicional em V₄₋₅ com *R. tropici* em feijão-comum em sistema orgânico tem potencial para aumentar o número e massa seca dos nódulos e os parâmetros

fisiológicos. A combinação da inoculação adicional com *R. tropici* em V₄₋₅ com *A. brasilense* inoculado nas sementes, aumentou em 39% a produtividade de grãos de feijão em relação a ausência da inoculação, além do retorno de 83% de lucratividade. Os maiores custos foram observados com a aplicação do esterco de aves em cobertura no estágio fenológico V₃, nos três anos de cultivo, além das baixas produtividades, por isso não sendo recomendado como método de fornecimento de N. E a estimativa da FBN forneceu dados em que a massa seca do nódulo corresponde para estimar as diferenças na atividade da FBN entre os tratamentos, sendo uma metodologia mais simples, de fácil acesso e baixo custo.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; adubação orgânica; fixação biológica de nitrogênio; co-inoculação, *Rhizobium tropici*; *Azospirillum brasilense*; *Bradyrhizobium japonicum* sustentabilidade; rentabilidade; diluição isotópica ¹⁵N.

ABSTRACT

The supply of nitrogen (N) with technologies aimed at the sustainability of agricultural systems in grain-yield legumes is one of the challenges faced by farmers. The use of diazotrophic bacteria in the seeds and in the vegetative period of the crop can be a promising technology to guarantee the necessary N contribution to the crops, avoid losses in grain yield and still be profitable to the producer. In this sense, the objective of this research was to evaluate biological nitrogen fixation (BNF) with different methodologies, in common bean in an organic system and in soybean plants, with or without additional inoculation with aerobic diazotrophs (*Rhizobium tropici*/ *Bradyrhizobium japonicum*), inoculated and/or co-inoculated with diazotrophic bacteria. Thus, the study was conducted in an area of consolidated organic cultivation in Andradina-SP (2018), and initial in Selvíria-MS (2019 and 2020), with the cultivation of common bean in an irrigated organic system. The experimental design was in randomized blocks, in a factorial scheme (2 x 5) in 2018 and (2 x 6) in 2019 and 2020, with 4 replications. The treatments consisted of inoculation and co-inoculation of bean seeds with *Rhizobium tropici* and/or *Azospirillum brasilense*, poultry manure in covered, and a commercial microbiological product, with or without additional inoculation in V₄₋₅ with *R. tropici*. The following were evaluated: the symbiotic efficiency over the years with analyzes of plant nodulation (number and dry mass of nodules), yield components, grain yield, physiological analyzes of nitrogen compounds (total ureides), leaf concentrations of total sugars, sucrose, photosynthetic pigments, gas exchange, total yield cost and profitability indicators. In addition, the estimate of BNF was evaluated with the methodology of ¹⁵N isotopic dilution, in soybean plants that received seed inoculation and additional ones with *Bradyrhizobium japonicum*, at different stages of crop development, in soil with no history of soybean cultivation, at the University of Aarhus, Research Center in Foulum, Denmark. It was observed that the history of each experimental area is particular in the uniqueness of the results. However, the use of diazotrophic bacteria is recommended as a sustainable technology for both common bean in an organic system and for soybeans. Additional inoculation at V₄₋₅ with *R. tropici* in common bean in an organic system has the potential to increase the number and dry mass of nodules and physiological parameters. The combination of additional inoculation with *R.*

tropici in V₄₋₅ with *A. brasilense* inoculated in the seeds, increased the grain yield of common bean by 39% in relation to the absence of inoculation, in addition to the return of 83% of profitability. The highest costs were observed with the application of poultry manure in coverage at the V₃ phenological stage, in the three years of cultivation, in addition to the low yields, which is why it is not recommended as a method of N supply. And the BNF estimation provided data in which the dry mass of the nodule corresponds to estimate the differences in BNF activity between treatments, being a simpler methodology, easily accessible and low cost.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; organic fertilization; biological nitrogen fixation; co-inoculation; *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense*; *Bradyrhizobium japonicum*; sustainability; profitability; ¹⁵N isotopic dilution.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	A CULTURA DO FEIJÃO	16
2.1.1	Agricultura Orgânica	17
2.1.2	Fornecimento de nitrogênio em feijão em sistema orgânico.....	19
2.2	FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO EM SOJA	22
2.3	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	23
	REFERÊNCIAS.....	26
3	CAPÍTULO 1- USO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COMO MÉTODOS DE FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO NO FEIJÃO DE INVERNO EM SISTEMA ORGÂNICO IRRIGADO.....	34
3.1	INTRODUÇÃO	35
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
1.2.1	Descrição e histórico da área experimental.....	36
3.2.2	Preparo da área experimental	39
3.2.3	Delineamento experimental e descrição dos tratamentos	40
3.2.4	Condução do experimento	41
3.2.5	Parâmetros avaliados	42
3.2.6	Análise estatística.....	43
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.3.1	Nodulação das plantas de feijão em sistema orgânico.....	43
3.3.2	Biomassa das plantas de feijão em sistema orgânico.....	53
3.3.3	Componentes de produção e produtividade.....	59
3.4	CONCLUSÕES	66
	REFERÊNCIAS.....	68

	APÊNDICE A - Material suplementar	75
4	CAPÍTULO 2- EFEITO DAS BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO NOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E DESEMPENHO PRODUTIVO DO FEIJÃO DE INVERNO EM SISTEMA ORGÂNICO	76
4.1	INTRODUÇÃO	77
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	78
4.2.1	Descrição do local	78
4.2.2	Instalação dos experimentos	80
4.2.3	Delineamento experimental e tratamentos	81
4.2.4	Desenvolvimento do experimento.....	82
4.2.5	Amostragem e análises	83
4.2.6	Análise estatística.....	85
4.3	RESULTADOS	85
4.4	DISCUSSÃO	95
4.5	CONCLUSÕES	103
	REFERÊNCIAS.....	104
	APÊNDICE B - Material suplementar	112
5	CAPÍTULO 3 - ANÁLISE ECONÔMICA DO FEIJÃO COMUM PRODUZIDO EM SISTEMA ORGÂNICO COM DIFERENTES MÉTODOS DE FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO	116
5.1	INTRODUÇÃO	117
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	118
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	123
5.4	CONCLUSÕES	133
	REFERÊNCIAS.....	134
6	CAPÍTULO 4 - INOCULAÇÃO ADICIONAL COM <i>Bradyrhizobium Japonicum</i> NO DESENVOLVIMENTO DA SOJA E NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	137
6.1	INTRODUÇÃO	138
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	140

6.2.1	Condições experimentais em casa de vegetação.....	140
6.2.2	Condução do experimento	140
6.2.3	Inoculação nas sementes e adicional	141
6.2.4	Épocas de coleta	142
6.2.5	Estimativa da FBN usando o método de diluição isotópica	142
6.2.6	Estatística.....	143
6.3	RESULTADOS	143
6.3.1	Nodulação e biomassa vegetal.....	143
6.3.2	Estimativa da fixação biológica de nitrogênio.....	146
6.3.3	Época de colheita	148
6.3.4	Correlação entre as variáveis nos tratamentos inoculados.....	149
6.4	DISCUSSÃO	152
6.4.1	Fixação de N ₂ em plantas não inoculadas	152
6.4.2	Fixação de N ₂ em plantas inoculadas	153
6.4.3	Efeitos da inoculação adicional.....	154
6.4.4	Componentes de produtividade.....	155
6.4.5	Benefícios da fixação biológica de N ₂	156
6.5	CONCLUSÕES	156
	REFERÊNCIAS.....	158
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	164
	APÊNDICE C - Imagens.....	165

1 INTRODUÇÃO

Organismos diazotróficos apresentam elevada diversidade genética e versatilidade metabólica, podendo ser aeróbios (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Burkholderia*) ou anaeróbios obrigatórios/facultativos. Essa diversidade reflete na forma com a qual esses organismos vivem e distribuem-se nos diferentes ecossistemas, o que resulta em uma colaboração no “input” de nitrogênio (N) nas diversas cadeias alimentares (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008). Entre todas as bactérias fixadoras de N e as espécies vegetais, a associação íntima entre as bactérias dos grupos dos rizóbios e as plantas da família das leguminosas é a mais bem-estudada e caracterizada (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), apresenta-se como uma das formas mais eficientes de acrescentar esse nutriente ao solo (ESPINDOLA *et al.*, 2004). Uma vez que, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é considerada o segundo processo biológico mais importante da natureza, atrás apenas da fotossíntese (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), um processo natural que consiste na redução do nitrogênio atmosférico (N₂) a compostos amoniacais, pela enzima nitrogenase (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008).

Estudos recentes visando maximizar o desempenho da fixação biológica de N, com o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) como o *Azospirillum brasilense*, associadas a inoculação de rizóbio (*Rhizobium tropici* e/ou *Bradyrhizobium japonicum*), tem comprovado efeitos benéficos dessa associação na nodulação e produtividade de leguminosas produtoras de grãos (BETTIOL *et al.*, 2020; CARDILLO *et al.*, 2019; STEINER *et al.*, 2019; MORETTI *et al.*, 2018). No entanto, alguns fatores podem interferir nesse processo de fixação, como os estresses ambientais (salinidade, estresses hídricos e elevadas temperaturas), população nativa de rizóbios, genótipo da planta, baixa disponibilidade de nutrientes no solo como fósforo e molibdênio, nodulação tardia e senescência precoce dos nódulos (HUNGRIA; VARGAS, 2000; FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008; ALCÂNTARA *et al.*, 2009). Essa senescência precoce dos nódulos tem sido observada em várias leguminosas, tais como o feijoeiro-comum e a soja, com o rápido declínio na fixação de N₂, coincidindo com o começo do enchimento das vagens (ALCÂNTARA *et al.*, 2009), pois qualquer fator que reduza a nodulação, pode diminuir a contribuição da FBN (HUNGRIA *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a inoculação adicional com bactérias diazotróficas durante o desenvolvimento da cultura, pode ser uma alternativa para a extensão da atividade do nódulo e consequente colaboração no fornecimento de N, caso ocorra falhas na inoculação nas sementes em ambientes desfavoráveis para a simbiose planta-bactéria. Contribuindo assim, com a sustentabilidade dos agroecossistemas de produção agrícolas, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados, que além do seu elevado custo, impactam negativamente com as perdas de N para o meio ambiente, como a contaminação de rios e lagos, além de poder aumentar as emissões de gases de efeito estufa, especialmente pela desnitrificação (RODRIGUES *et al.* 2017).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a fixação biológica de nitrogênio, com ou sem inoculação adicional com diazotróficos aeróbios (*Rhizobium tropici*/ *Bradyrhizobium japonicum*), nas culturas do feijoeiro e soja, inoculados e/ou co-inoculados com bactérias diazotróficas (*Rhizobium tropici*/ *Azospirillum brasilense*/ *Bradyrhizobium japonicum*).

Esta tese, está estruturada em quatro capítulos, mas antes de inicia-los um referencial teórico abordando o tema e as culturas estudadas é apresentado. Em seguida, o Capítulo 1 abrange as características agrônômicas e os componentes de produção e produtividade do feijão comum em sistema orgânico, assim como a metodologia mais simples de avaliação da FBN. No Capítulo 2, são apresentados os resultados referentes a análises mais detalhadas da fixação simbiótica na fisiologia das plantas de feijão, como os compostos nitrogenados (alantoína e ácido alantóico), teores de açúcares totais, sacarose, pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas. No Capítulo 3, consta a análise econômica do feijão produzido em sistema orgânico, assim como a rentabilidade de cada tratamento utilizado e o custo dessa produção. E por fim, no Capítulo 4, são apresentados os resultados da estimativa da porcentagem do N fixado pela FBN com o uso de bactérias diazotróficas em plantas de soja, pelo método de diluição isotópica ^{15}N . E as considerações finais observadas para conclusão do trabalho.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O uso de bactérias diazotróficas foi suficiente para fornecer o nitrogênio necessário para o desenvolvimento das plantas de feijão-comum em sistema orgânico e, soja em solo sem cultivo prévio da cultura. Além disso, com o uso dessa tecnologia foi possível atingir elevadas produtividades, proteger contra danos oxidativos nas plantas e obter menores custos de produção do feijão-comum em sistema orgânico.

- A inoculação adicional em V₄₋₅ com *Rhizobium tropici*, é uma tecnologia promissora para a extensão da atividade do nódulo. Pois, além de aumentar o número e massa seca dos nódulos durante os estádios reprodutivos da cultura do feijão-comum, o aumento da massa seca em R₉, pode ter influenciado na maior produtividade de grãos e consequentemente índice de lucratividade, quando as sementes também receberam a inoculação com *Azospirillum brasilense*.

- Foi confirmado pela correlação que a massa seca do nódulo é uma metodologia eficaz da estimativa de fixação de N₂ (%Ndfa), fornecendo um método facilmente acessível e de baixo custo para entender a FBN.

- Assim, é recomendado a inoculação nas sementes com *Azospirillum brasilense* em combinação com a inoculação adicional em estágio V₄₋₅ com *Rhizobium tropici*, como o conjunto de bactérias que proporcionou as maiores produtividades, desempenho da fixação biológica de N e 83% de lucro.

- Não é recomendado o uso do esterco de aves aplicado no estágio fenológico V₃ para o fornecimento de N na cultura do feijão-comum em sistema orgânico, pois além das proporções inadequadas de nutrientes na sua composição, proporcionou baixas produtividades, altos custos e menores rentabilidades.

APÊNDICE C - Imagens

1. Semeadura do feijão BRS Estilo inoculado com bactérias diazotróficas (A), aplicação em cobertura do esterco de aves (B), desenvolvimento da cultura (C) e aplicação da inoculação adicional com *Rhizobium tropici* (D). Andradina- SP, 2018.

A.



B.



C.



D.



2. Visão geral do experimento com feijão BRS Estilo em sistema orgânico (A) e desenvolvimento da cultura (B). Andradina- SP, 2018.

A.



B.



3. Milheto antecedendo a cultura principal (feijão de inverno) (A), incorporação superficial do milheto (B), plantio de feijão com bactérias diazotróficas (C) e emergência do feijão IAC Sintonia (E). Selvíria- MS, 2019.

A.



B.



D.



E.



4. Desenvolvimento do feijão IAC Sintonia em sistema orgânico (A, B e C) e excelente sanidade das plantas (D e E). Selvíria- MS, 2019.

A.



B.



C.



D.



E.



5. Visão geral do experimento com feijão IAC Sintonia em sistema orgânico irrigado (A e B). Selvíria- MS, 2019.

A.



B.



6. Coleta de plantas de feijão para análise da nodulação (A), solo da coleta de plantas (B), florescimento pleno do feijão IAC Sintonia (C), enchimento de vagens (D) e colheita das plantas (E). Selvíria- MS, 2019.

A.



B.



C.



D.



E.



7. Composto orgânico em área total (A), emergência das plantas de feijão BRS Estilo (B), desenvolvimento do feijão em sistema orgânico (C e D) e aplicação foliar do produto microbiológico (E). Selvíria- MS, 2020.

A.



B.



C.



D.



E.



8. Período das aplicações foliares com temperaturas mais amenas e pouca incidência de vento. Selvíria- MS, 2020.



9. Visão geral do experimento com feijão BRS Estilo em sistema orgânico irrigado. Selvíria-MS, 2020.

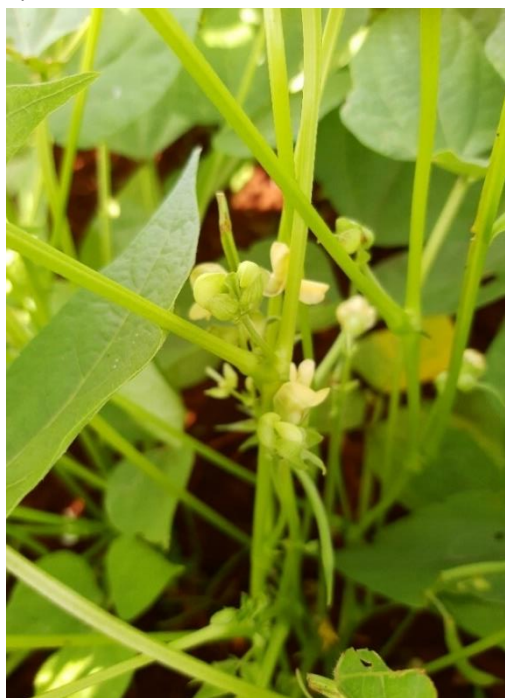


10. Estádios reprodutivos do feijão: florescimento pleno- R₆ (A), formação das vagens- R₇ (B), enchimento das vagens – R₈ (C) e início da maturação- R₉ (D). Selvíria- MS, 2020.

A.



B.



C.

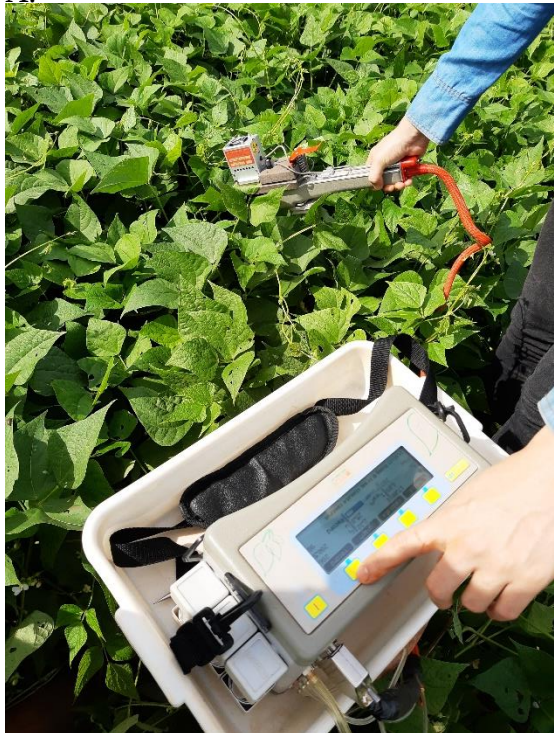


D.

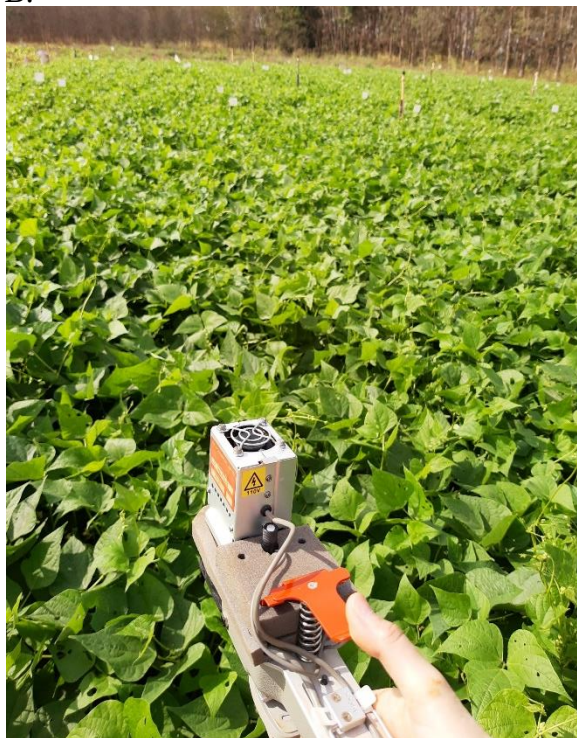


11. Avaliações fisiológicas e em campo de feijão-comum em sistema orgânico irrigado, com IRGA (A e B), e análise da nodulação das plantas de feijão: lavagem das raízes e contagem do número de nódulos (C e D). Selvíria- MS, 2020.

A.



B.



C.



D.

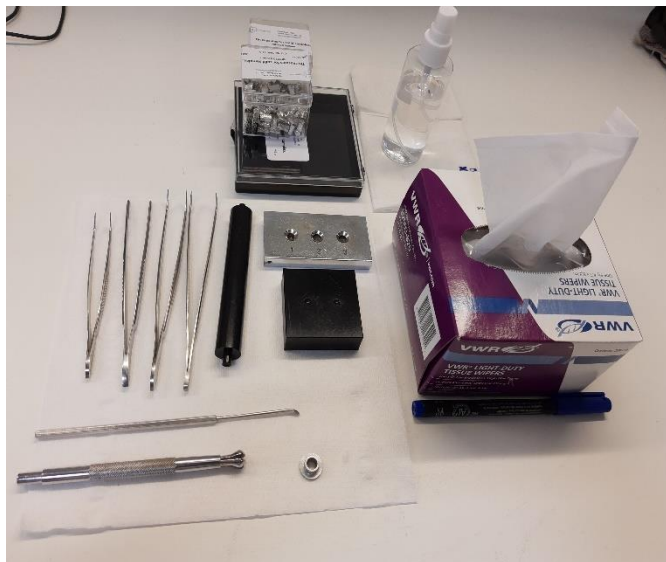


12. Avaliação da fixação biológica de N em soja pelo método da diluição isotópica ^{15}N . Emergência da soja (A), equipamentos utilizados para preparar as amostras de ^{15}N (B e D) e biomassa da parte aérea de plantas de soja (C). AU Foulum- Dinamarca, 2019.

A.



B.



C.



D.



13. Análise da nodulação das plantas de soja: retirada do solo (A), lavagem das raízes e nódulos (B e C). Componentes de produtividade: número de vagens por planta em cada tratamento (D). AU Foulum- Dinamarca, 2019.

A.



B.



C.



D.



Sem inoculação
(controle)