


KARINA GALVÃO DE SOUZA



**CRESCIMENTO E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO COMUM EM
RESPOSTA A COINOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM
Rhizobium tropici e *Azospirillum brasilense***

RIO BRANCO - AC

2014

KARINA GALVÃO DE SOUZA

**CRESCIMENTO E NODULAÇÃO DO FEIJOEIRO COMUM EM
RESPOSTA A COINOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM
Rhizobium tropici e *Azospirillum brasilense***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Jorge Ferreira Kusdra

RIO BRANCO - AC

2014

*A minha querida avó,
Hilda Galvão Costa (in memoriam)*
Ofereço.

*Aos meus pais,
Jadir Teixeira de Souza e Ana Lúcia Galvão Costa de Souza*
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos que me proporciona todos os dias.

Aos meus pais, Jadir Teixeira de Souza, Ana Lucia Galvão Costa de Souza e as minhas irmãs, Bruna Galvão de Souza e Amanda Beatriz Galvão de Souza pelo amor infinito e apoio nos momentos de necessidade.

Aos meus familiares pelo carinho e atenção a mim dedicados.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra pelos ensinamentos, paciência e dedicação.

À querida coordenadora do PPG em Produção Vegetal Profa. Dra. Regina Lúcia Félix Ferreira pelo imenso apoio e atenção a mim prestados.

Aos amigos Maria Isabel, Cassiano Henrique, Antônio Carlos, Franciele Costa, Máisa Bravín, Waldiane Almeida, Denis Tomio, Romário Boltd, Roger Ventura, Thays Lemos, Geazí Penha, Gisley Emerick, Gleice Bento, Shirlei Minosso, Andréia Moreno, Faellen Kolln pelos momentos inesquecíveis que passamos juntos e pela ajuda nos momentos necessários.

Aos demais que de alguma forma contribuíram para o meu desenvolvimento humano e profissional.

“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

RESUMO

O feijoeiro é uma Fabaceae nodulífera com potencial de se beneficiar do nitrogênio fixado pela simbiose com bactérias da família Rhizobiaceae conhecidas genericamente como rizóbios. Porém, diversos fatores comprometem a eficiência dessa associação como, por exemplo, o ciclo curto da cultura, o desempenho da combinação simbiótica e a disponibilidade de nutrientes no solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito isolado e combinado do *Rhizobium tropici* e do *Azospirillum brasilense*, introduzidos via inoculação das sementes, no crescimento e nodulação do feijoeiro comum. Foram realizados dois experimentos, em casa de vegetação, um com a cultivar BRS Estilo e o outro com a Pérola. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x2+1 que corresponde a inoculação ou não nas sementes de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, mais um tratamento adicional com aplicação ao solo de 30 kg de N.ha⁻¹. De cada tratamento (combinado e adicional) foram consideradas 6 repetições totalizando 30 unidades experimentais constituídas por tubos de PVC branco com volume 2,5 L. Foram avaliadas as massas secas da parte aérea, da raiz, dos nódulos e total, número de nódulos, nitrogênio total da parte aérea e efetuada a estratificação e classificação dos nódulos por tamanho. Verificou-se que o *Azospirillum brasilense* e o *Rhizobium tropici* promovem efeitos distintos nas características de nodulação e crescimento das plantas das cultivares avaliadas. Na cultivar BRS Estilo o *Rhizobium tropici* promove aumento do N total da parte aérea e do número total de nódulos e a aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* reduz as massas secas da parte aérea e total. A aplicação de 30 kg de N.ha⁻¹ e a inoculação de *Azospirillum brasilense* favorece o crescimento inicial do feijoeiro Pérola. Em um mesmo solo a aplicação de *Azospirillum brasilense* promove o crescimento da cultivar de feijoeiro Pérola e reduz o da BRS Estilo. O inoculante rizobiano aumenta a nodulação das cultivares de feijoeiro BRS Estilo e Pérola. A coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* proporciona acúmulo de N total da parte aérea do feijoeiro pérola superior ao que se obtém pelo efeito isolado das bactérias e similar à aplicação de 30 kg de N.ha⁻¹.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio. Rizóbios. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs).

ABSTRACT

The bean is a noduliferous Fabaceae with the potential to benefit from the nitrogen fixation by symbiotic bacteria of the Rhizobiaceae family known generically as rhizobia. However, several factors can compromise the efficiency of this association, for example, the short crop cycle, the performance of symbiotic combination and availability of nutrients in the soil. The aim of this study was to evaluate the isolated and combined effect of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* introduced by seed inoculation on growth and nodulation of common bean. Two experiments were carried out in a greenhouse one with bean cultivar BRS Estilo and other with Pérola. The experimental design was completely randomized in a 2x2+1 factorial design corresponding to inoculation and no inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* more an additional treatment with soil application of 30 kg N.ha⁻¹. For each treatment (combined and additional) were considered 6 repetitions totaling 30 experimental units composed of white PVC tubes with volume 2,5 L. The variables evaluated were the dried mass of the aerial part, root, nodules and total, number of nodules, total nitrogen of shoot and classification of nodules by size. It was found that the *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici* promoted distinct effects on nodulation and growth characteristics of the cultivars. In the BRS Estilo cultivar *Rhizobium tropici* increases the total N of the shoots and the total number of nodes and isolated application of *Azospirillum brasilense* reduces dried mass from the aerial part and total. The application of 30 kg N.ha⁻¹ and inoculation of *Azospirillum brasilense* favors the initial growth of Pérola bean. In the same soil the application of *Azospirillum brasilense* promotes the growth of bean cultivar Pérola and reduces of the BRS Estilo. The rhizobiano inoculant increases nodulation of bean cultivars BRS Estilo and Pérola. The co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* provides the accumulation of total N from the aerial part of Pérola bean highest than that obtained by the isolated effect of bacteria and similar to the application of 30 kg N.ha⁻¹.

Key-words: *Phaseolus vulgaris*. Biological nitrogen fixation. Rhizobia. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR).

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Massas secas dos nódulos, da raiz, da parte aérea e total da planta de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidas em função da aplicação de nitrogênio ao solo e da coinoculação das sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014 26
- Figura 2 - Massas secas dos nódulos, da raiz, da parte aérea e total da planta de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em função da aplicação de nitrogênio ao solo e da coinoculação das sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014 30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Massas secas da parte aérea (MPAS), da raiz (MRS) e total (MTS) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014..... 22
- Tabela 2 - Nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014..... 23
- Tabela 3 - Massa dos nódulos secos (MNS), número de nódulos grandes (NNG), médios (NNM), pequenos (NNP) e muito pequenos (NNMP) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014..... 24
- Tabela 4 - Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), total (MST), nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014 25
- Tabela 5 - Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014..... 27
- Tabela 6 - Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014..... 27
- Tabela 7 - Nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e massa seca dos nódulos (MSN) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014..... 28
- Tabela 8 - Número total de nódulos (NTN), médios (NNM), pequenos (NNP) e muito pequenos (NNMP) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014..... 28

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A – Verificação da normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e da homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), dos nódulos (MSN), total (MST) e média unitária dos nódulos (MSMUN), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, em Rio Branco, AC, 2014..... 42
- APÊNDICE B – Verificação da normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e da homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), dos nódulos (MSN), total (MST) e média unitária dos nódulos (MSMUN), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro comum cultivar Pérola, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, em Rio Branco, AC, 2014..... 42
- APÊNDICE C – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, em Rio Branco, AC, 2014 43
- APÊNDICE D – Análise de variância do nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, em Rio Branco, AC, 2014 43
- APÊNDICE E – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) do feijoeiro comum cultivar Pérola, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, em Rio Branco, AC, 2014 44

LISTA DE SIGLAS

FBN – Fixação biológica de nitrogênio

GL – Graus de liberdade

MSN – Massa seca dos nódulos

MSPA – Massa seca da parte aérea

MSR – Massa seca da raiz

MST – Massa seca total

NTN – Número total de nódulos

NNG – Número de nódulos grandes

NNM – Número de nódulos médios

NNMP – Número de nódulos muito pequenos

NNP – Número de nódulos pequenos

NTPA – Nitrogênio total da parte aérea

QM – Quadrado médio

RPCPs – Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas

SQ – Soma de quadrados

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 FEIJOEIRO.....	13
2.2 NITROGÊNIO NA CULTURA DO FEIJOEIRO.....	14
2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA CULTURA DO FEIJOEIRO.....	15
2.4 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCPs)	16
2.5 COINOCULAÇÃO DE RPCPs.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO BRS ESTILO.....	19
3.2 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO PÉROLA.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO BRS ESTILO.....	22
4.2 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO PÉROLA.....	26
5 CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32
APÊNDICES	41

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro é uma espécie exigente nutricionalmente, sendo o nitrogênio (N) normalmente requerido em maior quantidade. As principais fontes de N para a cultura são derivadas da decomposição da matéria orgânica presente no solo, da adição de fertilizantes nitrogenados e da fixação biológica do nitrogênio (FBN) do ar atmosférico pela simbiose com bactérias conhecidas genericamente como rizóbios.

O fornecimento do nitrogênio à cultura com baixo custo econômico e sem causar danos ao meio ambiente estão entre as principais vantagens da FBN. Entretanto, no caso do feijoeiro, diversos fatores relacionados à planta, à bactéria e a associação destas comprometem a eficiência deste processo em disponibilizar N à cultura. Dentre estes fatores destacam-se o ciclo curto da cultura (PORTES et al., 2009), a resposta tardia da planta ao simbiote (HUNGRIA et al., 1997), a promiscuidade nodular do feijoeiro (FONSECA, 2011) e a competição das estirpes introduzidas em relação às nativas (RUFINI et al., 2011). Por outro lado a soja, ao contrário do feijoeiro, apresenta relação simbiótica altamente eficiente com os rizóbios introduzidos via inoculante rizobiano sendo obtidas altas produtividades da cultura sem a adição de N mineral (HUNGRIA et al., 2001)

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) constituem um grupo de microrganismos que inclui várias espécies de bactérias rizosféricas como, por exemplo, *Azospirillum brasilense*, capazes de estimular o crescimento vegetal mediante vários mecanismos, especialmente pela síntese de fitohormônios. Embora existam divergências na literatura (ARAUJO, 2008; FIGUEIREDO et al., 2010; FREITAS, 2007; HOSSAIN, 2007; VARGAS et al., 2010) sobre considerar ou não os rizóbios como RPCPs estes também são capazes de promover o crescimento de plantas, porém de forma simbiótica e restrita a leguminosas nodulíferas da família Fabaceae e, portanto, com atuação mais específica que *Azospirillum brasilense* que não se associa as plantas de forma simbiótica e está relacionado a rizosfera de diversas famílias de vegetais.

A coinoculação de RPCPs pode se constituir em uma alternativa capaz de aumentar a eficiência da associação destes microrganismos com as plantas. Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito no crescimento e nodulação do feijoeiro da coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes de duas cultivares (BRS Estilo e Pérola).

2 REVISÃO DE LITERATURA

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das mais representativas explorações agrícolas do Brasil, não só pela área de cultivo, que na safra de 2010/11 ocupou 3,9 milhões de hectares e produção de 3,7 milhões de toneladas (AGRIANUAL, 2012), mas, principalmente, pelo fato do feijão ser um importante constituinte da alimentação por fornecer nutrientes essenciais, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas, carboidratos e fibras (MESQUITA et al., 2007).

Apesar de apresentar produtividade nacional de 899 kg.ha⁻¹ (IBGE, 2014), o feijoeiro está em processo de transição tecnológica, deixando de ser de subsistência para altamente tecnificado (PEREIRA et al., 2004), sendo explorado em sistemas bem variados onde o alto nível tecnológico proporciona produtividades superiores a 3000 kg.ha⁻¹ (SILVA et al., 2009a).

Para a melhoria na produção da cultura, vários estudos estão sendo realizados tais como otimização da irrigação (CARVALHO et al., 2014; LOPES et al., 2011; MANTOVANI et al., 2012), adaptabilidade das cultivares para cada região (DOMINGUES et al., 2013; LIMA et al., 2013; VIEIRA et al., 2014), calagem (SCHULTZ et al., 2011; SILVA et al., 2011), nutrição mineral (COUTO JUNIOR et al., 2013; NASCENTE et al., 2012; SANTI et al., 2013; VIANA et al., 2011), inoculação das sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio (ALBUQUERQUE et al., 2012; MATOSO; KUSDRA, 2014) e manejo integrado de pragas, doenças e plantas daninhas (CAMPOS et al., 2014; LEHNER et al., 2014).

2.1 FEIJOEIRO

O feijoeiro comum é uma fabácea anual herbácea, com hábitos de crescimento determinado ou indeterminado que, combinados com o porte da planta e ramificações do caule, constitui quatro tipos morfológicos: Tipo I, hábito de crescimento determinado, arbustivo e porte de planta ereto; Tipo II, hábito de crescimento indeterminado, arbustivo, porte de planta ereto e caule pouco ramificado; Tipo III, hábito de crescimento indeterminado, prostrado ou semiprostrado, com ramificações bem desenvolvidas e aberta; Tipo IV, crescimento indeterminado, trepador, caule com forte dominância apical e número reduzido de ramos laterais (SANTOS; GAVILANES, 1998).

O ciclo biológico do feijoeiro divide-se em duas fases: a primeira conhecida

como fase vegetativa, que tem seu início com a germinação da semente e vai até o aparecimento dos primeiros botões florais; e a fase reprodutiva que se inicia no florescimento e finaliza com a maturação fisiológica dos grãos (PORTES et al., 2009).

Fernandez et al. (1986) definem os estádios fenológicos do feijoeiro em: germinação (V0); emergência (V1); folhas primárias (V2); folha trifoliolada (V3); terceira folha trifoliolada (V4); primeiro botão floral (R5); a abertura da flor (R6); primeira vagem (R7); enchimento das vagens (R8) e maturação fisiológica (R9).

O cultivo do feijoeiro pode ser realizado em áreas que não estejam sujeitas ao encharcamento, com pouca ou nenhuma declividade, preferencialmente em solos soltos e friáveis pelo fato de seu sistema radicular estar localizado em sua maioria (80-90%) nos primeiros 20 cm (RIBEIRO et al., 2011).

Diversos fatores influenciam a produtividade do feijoeiro destacando-se a temperatura, a precipitação (distribuição e quantidade das chuvas) e a disponibilidade de nutrientes (YOKOYAMA et al., 1996). A demanda nutricional do feijoeiro varia de acordo com as cultivares, sendo que os nutrientes exigidos em maiores quantidades são o nitrogênio (N), o potássio (K) e o fósforo (P) (EMBRAPA, 2014).

2.2 NITROGÊNIO NA CULTURA DO FEIJOEIRO

Por ser uma espécie de ciclo curto o feijoeiro necessita que os nutrientes necessários ao seu crescimento, desenvolvimento e produção sejam colocados à disposição da planta em quantidades adequadas no decorrer de pequeno espaço de tempo (ALMEIDA et al., 2000).

O efeito positivo do N sobre a produtividade da cultura é indiscutível. Por esse motivo a adubação nitrogenada deve propiciar boa nutrição da planta até o florescimento. Normalmente a aplicação de N via adubação promove aumento na produção de massa seca e do número de vagens por planta (ARF et al., 2011; BARBOSA et al., 2010; CARVALHO, 2002; VIANA et al. 2011).

Quando aplicado no solo o N pode ser perdido por lixiviação ou por volatilização. Para minimizar essas perdas o parcelamento tem sido uma técnica muito empregada, assim como a utilização de fontes com menor potencial de perda (CRUSCIOL et al., 2007).

Arf et al. (2011), estudando fontes de adubos nitrogenados em feijoeiro no sistema plantio direto, não observaram diferença na produtividade e características

agronômicas utilizando uréia, sulfato de amônia e entec (sulfonitrato de amônio). Segundo Valderrama et al. (2009), independente da fonte de nitrogênio, o feijoeiro apresenta resposta linear as doses de adubos nitrogenados para teor de N foliar e produtividade de grãos.

A maior parte do N acumulado pelo feijoeiro é provido pela FBN, seguido pelo contido no solo e o de fertilizantes. No entanto, o aumento das doses de fertilizantes nitrogenados proporciona redução na FBN sendo esta, porém, favorecida pela adubação de arranque (BRITO et al., 2009; BRITO et al., 2011).

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA CULTURA DO FEIJOEIRO

A FBN é o processo de transferência do N do ar atmosférico (N_2) para o solo (NH_3), mediado por organismos diazotróficos constituídos por bactérias que possuem a enzima nitrogenase, os quais podem ser de vida livre, associativos ou mutualistas com grande diversidade morfológica, fisiológica, bioquímica e genética (CANTARELLA, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SOUZA; FERNANDES, 2006).

As bactérias que fixam N_2 simbioticamente com leguminosas (fabáceas) pertencem à família Rhizobiaceae, sendo comumente denominadas como rizóbios. Os principais gêneros são *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Rhizobium*. Quando associadas com as plantas estas bactérias são altamente seletivas (MARENCO; LOPES, 2007). No feijoeiro a associação ocorre com o gênero *Rhizobium* que pode estar presente no solo (rizóbios nativos) ou ser inoculado via semente (rizóbios introduzidos) (HUNGRIA et al., 1997).

A interação entre o rizóbio e a Fabácea resulta na formação dos nódulos que são as estruturas radiculares onde ocorre a FBN. O processo inicia-se com a infecção do pêlo radicular, o mesmo curva-se no local da infecção, após a curvatura ocorre invaginação da plasmalema que origina o filamento de infecção, cresce em direção a base do pêlo, penetrando nas células do córtex. A formação do nódulo ocorre quando as bactérias liberam substâncias que estimulam a divisão celular (MARENCO; LOPES, 2007).

A nitrogenase tem por função catalisar a conversão de N_2 em NH_3 . É formada por dois complexos protéicos: a Fe-proteína e a MoFe-proteína. (MARENCO; LOPES, 2007). Essa enzima é sensível ao oxigênio que em excesso pode inibir sua atividade e causar danos irreversíveis. A regulação do oxigênio no nódulo é

realizada pela leg-hemoglobina, uma proteína com alta afinidade com o oxigênio que o libera em quantidade suficiente para a respiração celular da bactéria e sem prejuízo à atividade da enzima (HOFFMANN, 2007).

Segundo Hungria et al. (1997) diversos fatores estão relacionados com a eficiência do processo de nodulação radicular sendo estes físicos, nutricionais, ambientais, biológicos e relacionados com a interação da cultivar do feijoeiro com a estirpe do rizóbio (HUNGRIA et al., 1991).

Quando a associação *Rhizobium*-feijoeiro é eficiente a FBN pode substituir a utilização de adubação nitrogenada (FERREIRA et al., 2000). Entretanto, os rizóbios nativos que nodulam o feijoeiro apresentam baixa eficiência no processo, além de dificultar a introdução de estirpes mais eficientes introduzidas via uso de inoculante rizobiano (OLIVEIRA et al. 1996). A promiscuidade do feijoeiro é um dos fatores que mais interfere na eficiência da FBN uma vez que várias espécies de rizóbios são capazes de promover nodulação ineficiente nessa fabácea (FONSECA, 2011). A eficiência da FBN também pode ser limitada por várias condições do solo como pH, temperatura e umidade (HUNGRIA et al., 2001; RUFINI et al., 2011).

2.4 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCPs)

Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) constituem um grupo de microrganismos que inclui várias espécies de bactérias que exercem efeito benéfico sobre o crescimento vegetal podendo ser de vida livre no solo ou colonizadoras da planta tanto a rizosfera como o interior das raízes, proliferando nos espaços intercelulares (MARENCO; LOPES, 2007).

O gênero *Azospirillum* constitui um dos principais grupos de microrganismos considerados como RPCPs. Entretanto entre estas incluem-se também espécies pertencentes a outros gêneros especialmente *Bacillus* e *Pseudomonas* como, por exemplo, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas putida*. As bactérias do gênero *Rhizobium* também são consideradas como RPCPs (ARAUJO, 2008; FIGUEIREDO et al., 2010; VARGAS et al., 2010) embora existam divergências na literatura (FREITAS, 2007) quanto a incluí-las neste grupo pelo fato destas estabelecerem relação simbiótica com leguminosas podendo estas, porém, neste caso, serem consideradas como RPCPs em espécies não leguminosas (ANTOUN et al., 1998; HOSSAIN, 2007).

Os efeitos das RPCPs nas plantas podem ocorrer de dois modos: a) direto,

por mecanismos como fixação de nitrogênio, síntese de sideróforos, produção de fitohormônios, solubilização de fosfato e mineralização de nutrientes; e b) indireto, por mecanismos como indução de resistência sistêmica, redução de fatores de estresse, produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos (OLIVEIRA et al., 2003).

As RPCPs podem ser utilizadas em tratamento de sementes, explantes e mudas micropopragadas, incorporadas aos substratos de plantio, como tratamento de estacas, tubérculos, raízes e em pulverizações foliares (MARIANO et al., 2004).

A associação de plantas com *Azospirillum* ocorre em diversas espécies de interesse comercial, tais como: milho (REPKE et al., 2013; MÜLLER, 2013), trigo (RODRIGUES et al., 2014; MENDES et al., 2011; LEMOS et al., 2013) e cana-de-açúcar (LOPES, 2013; SCHULTZ et al., 2012). Segundo Bashan et al. (2004) e Bashan e Holguin (1997) esta bactéria possui ampla faixa de hospedeiros sendo sua presença já confirmada na rizosfera de mais de 100 espécies de plantas. Na associação com a planta, o *Azospirillum* é mantido pelos exsudatos das raízes, que servem como fonte de carbono e energia (BALDANI et al., 1997).

Segundo Hungria (2011) há vários mecanismos de ação do *Azospirillum* que podem interferir favoravelmente no crescimento das plantas destacando-se entre estes a síntese de fitohormônios.

A associação de poáceas e *Azospirillum* contribui com parte no N necessário às plantas (DÖBEREINER et al., 1976). Portanto, mesmo com a inoculação de sementes com *Azospirillum* ainda há a necessidade de suplementação de N na forma de adubo nitrogenado (REPKE et al., 2013). Hungria et al. (2010), em estudo realizado para a seleção de estirpes mais eficientes para compor inoculantes comerciais de trigo, constataram eficiência de várias estirpes e produções próximas à media nacional da cultura, mesmo com baixa aplicação de N.

2.5 COINOCULAÇÃO DE RPCPs

A coinoculação de rizóbios com outras RPCPs tem se mostrado como alternativa promissora para aumento do crescimento das plantas, melhoria da nodulação e otimização da fixação de N₂ em leguminosas como caupi (ARAÚJO et al., 2012; LIMA et al., 2011), soja (ARAÚJO; HUNGRIA, 1999; BÁRBARO et al., 2009; HUNGRIA et al., 2013). Além disso, Hungria et al. (2013) observaram aumento na produtividade de soja e feijão quando efetuaram a coinoculação de *Bradyrhizobium*

japonicum (soja) e *Rhizobium tropici* (feijão) com *Azospirillum brasilense*.

Cassán et al. (2009), estudando a interação de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* na germinação e desenvolvimento de plântulas em meio de cultura, constataram que a coinoculação desses organismos aumenta o crescimento das plântulas de milho e a nodulação na soja.

Dardanelli et al. (2008), avaliando a interação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* em feijoeiro cultivar Negro Jamapa em meio de cultura sob estresse salino, constataram que a coinoculação favoreceu o crescimento das plantas, aumentando o sistema radicular, as atividades de redução do acetileno, a absorção de fósforo e potássio além de promover melhor aproveitamento do ferro e molibdênio, essenciais para a fixação biológica de nitrogênio.

Araújo et al. (2010) avaliaram a coinoculação de rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena e observaram aumento no crescimento das raízes de ambas as espécies de plantas e acréscimo da nodulação do feijão-caupi.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação localizada no Campus da Universidade Federal do Acre, Rio Branco (AC), a 9°57'35,2" S de latitude e 67°52'11,1" W e a altitude de 150 m. Segundo Acre (2010), o clima da região é classificado como quente úmido, tipo Am segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual em torno de 24,5° C, umidade relativa do ar em torno de 84% e precipitação média anual variando de 1.700 a 2.400 mm.

3.1 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO BRS ESTILO

Foi realizado no período de 26 de maio a 5 de julho de 2014, utilizando o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2+1 que corresponde a ausência e presença de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e um tratamento adicional com aplicação de nitrogênio. Foram utilizadas 6 repetições por tratamento, totalizando 30 unidades experimentais, constituídas por tubos de PVC branco com volume 2,5 L.

A planta teste utilizada foi o feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, pertencente ao grupo comercial carioca, com porte ereto e hábito de crescimento indeterminado, tipo II com ciclo médio de 90 dias.

O solo utilizado foi classificado de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013) como Argissolo Vermelho-Amarelo alítico plíntico, e no momento da coleta do solo se encontrava com os seguintes atributos químicos: pH (H₂O) = 6,13; matéria orgânica = 24,2 g.dm⁻³; P = 98,2 mg.dm⁻³; K = 37 mg.dm⁻³; Ca = 7,55 cmol_c.dm⁻³; Ca+Mg = 8,6 cmol_c.dm⁻³; Al = 0,0 cmol_c.dm⁻³; Al+H = 2,0 cmol_c.dm⁻³; soma de bases = 8,7 cmol_c.dm⁻³; CTC = 10,7 cmol_c.dm⁻³; saturação de bases = 81,3%.

Pela análise granulométrica do solo verificou-se que este possuía 466,5 g.kg⁻¹ de areia, 384,5 g.kg⁻¹ de silte e 149 g.kg⁻¹ de argila. A densidade aparente foi de 1,36 g.cm⁻³ e a de partículas 2,36 g.cm⁻³.

Na caracterização biológica do solo obteve-se respiração basal de 0,96 mg.C-CO₂.kg⁻¹.solo.hora⁻¹, biomassa microbiana de 146,58 mg C-CO₂.kg⁻¹.solo.hora⁻¹, quociente metabólico de 6,55 mg.C-CO₂.g⁻¹.C-miq.h⁻¹ e quociente microbiano de 1,04%.

Visando melhorar os atributos de fertilidade para experimentos em vaso foram aplicados 100 mg.kg^{-1} de solo de K_2O e P_2O_5 , na forma de cloreto de potássio (60% de K_2O) e superfosfato simples (18% de P_2O_5), respectivamente. Para o tratamento adicional efetuou-se a aplicação de nitrogênio (uréia) ao solo na dose equivalente à 30 kg.ha^{-1} .

A fonte de *Rhizobium tropici* foi um inoculante comercial em turfa esterilizada contendo as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080. O número mais provável de células viáveis, estimado pelo método da diluição seriada e contagem em placas com meio ágar manitol extrato de levedura¹, foi de $2,0 \cdot 10^8$ unidades formadoras de colônia por grama de produto.

A fonte de *Azospirillum brasilense* foi um inoculante em formulação líquida contendo as estirpes AbV5 e AbV6. O número mais provável de células viáveis, estimado pelo método da diluição seriada e contagem em placas com meio 79 modificado², foi de $2,7 \cdot 10^6$ unidades formadoras de colônia por mililitro de produto.

No tratamento com *Rhizobium tropici* foi utilizado, por quilo de semente 4 g inoculante e 6 mL de solução açucarada a 10%. No tratamento com *Azospirillum brasilense* foi utilizado 6 mL do produto por quilo de semente. No tratamento combinado foi aplicado 4 g e 6 mL dos produtos contendo *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, respectivamente.

Na semeadura, realizada após a aplicação dos produtos biológicos, foram utilizadas 5 sementes por unidade experimental, na profundidade de 2,5 cm. O desbaste foi realizado 10 dias após a semeadura, mantendo-se a planta mais vigorosa. A irrigação foi efetuada regularmente de forma a manter a umidade do solo em torno de $3/4$ da capacidade de campo.

A avaliação do experimento foi realizada 40 dias após a semeadura, quando as plantas se encontravam no estágio fenológico R6. Foram avaliadas as massas secas da parte aérea, das raízes, dos nódulos e total, o número de nódulos e efetuada a quantificação de N na parte aérea das plantas. Também efetuou-se a estratificação dos nódulos por tamanho de acordo com Kusdra (2002) separando-os em quatro classes, denominadas: nódulos grandes (maiores que 4,00 mm); nódulos médios (entre 3,99 e 2,00 mm); nódulos pequenos (entre 1,99 e 1,00 mm) e nódulos muito pequenos (inferiores a 1,00 mm).

¹ K_2HPO_4 (0,5 g); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g); NaCl (0,1 g); Manitol (10 g); extrato de levedura (0,5 g); ágar (0,20 g); água destilada (1 L).

² K_2HPO_4 (0,5 g); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 g); NaCl (0,1 g); $\text{FeCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,015 g); KOH (4,8 g); extrato de levedura (0,5 g); ágar (20 g); água destilada (1 L).

O corte das plantas foi realizado rente ao solo separando-as em parte aérea e radicular. Posteriormente, com auxílio de peneiras para evitar a perda de nódulos, efetuou-se a lavagem das raízes e acondicionamento temporário destas em álcool 70%, para conservação até o momento da separação e contagem dos nódulos. Para obtenção das massas secas da parte aérea, raiz e nódulos o material foi mantido em estufa de ventilação forçada na temperatura de 65° C, até obtenção de massa constante. A massa total da planta foi determinada pela somatória das massas secas da parte aérea, da raiz e dos nódulos. A determinação do nitrogênio da parte aérea foi realizada pelo método Semimicro Kjeldahl, de acordo com Embrapa (2009).

Os resultados das variáveis foram submetidos às verificações da presença de dados discrepantes pelo teste de Grubbs (1969), normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk (1965) e homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett (1937). No caso de falta de homogeneidade de variâncias e/ou normalidade dos erros efetuou-se a transformação dos dados. Posteriormente efetuou-se a análise de variância pelo teste F de Snedecor e Cochran (1948). Quando verificou-se efeito significativo do tratamento adicional este foi comparado aos demais pelo teste de Dunnett (1955). Quando os dados não atenderam os pressupostos da análise de variância os mesmos foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (1952).

3.2 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO PÉROLA

Esse experimento foi realizado e avaliado de forma similar ao primeiro, diferenciando-se deste em relação ao período de realização (1 a 21 de julho de 2014), cultivar de feijoeiro (Pérola, grupo comercial carioca, porte semiprostado, hábito de crescimento indeterminado tipo II e III e ciclo médio de 90 dias), unidades experimentais (recipientes de polietileno com capacidade de 1,7 L, envoltos com manta térmica para minimizar a transferência de calor do ar para o solo) e período de avaliação (estádio fenológico V4).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos (*Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*) aplicados nas sementes interferiram de forma distinta nas variáveis relacionadas a nodulação e crescimento das plantas avaliadas em ambos os experimentos.

4.1 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO BRS ESTILO

As massas secas da parte aérea e total da planta foram influenciadas pelo efeito do *Azospirillum brasilense* (Tabela 1). O *Rhizobium tropici* promoveu aumento do nitrogênio total da parte aérea e do número total de nódulos (Tabela 2). As massas da raiz seca (Tabela 1), dos nódulos secos e o número de nódulos grandes, médios, pequenos e muito pequenos não foram influenciadas pelos tratamentos (Tabela 3).

Tabela 1 – Massas secas da parte aérea (MPAS), da raiz (MRS) e total (MTS) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Variável	<i>Rhizobium tropici</i>	<i>Azospirillum brasilense</i>		CV (%)
		Não inoculado	Inoculado	
MSPA g	Não inoculado	2,68 Aa	1,84 Bb	19,95
	Inoculado	2,55 Aa	2,65 Aa	
MSR g	Não inoculado	0,63 Aa	0,52 Aa	19,60
	Inoculado	0,67 Aa	0,65 Aa	
MST g	Não inoculado	3,58 Aa	2,40 Bb	18,90
	Inoculado	3,31 Aa	3,40 Aa	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste F.

Análises de variância no APÊNDICE C (MSPA; MSR; MST).

A introdução de *Rhizobium tropici*, via inoculante rizobiano, independente da inoculação ou não de *Azospirillum brasilense*, não interferiu nas massas secas da parte aérea e total. Por outro lado, estas foram reduzidas pelo efeito isolado

Azospirillum brasilense. Quando comparado ao N mineral (30 kg.ha⁻¹) a aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* também reduziu as massas secas da parte aérea e total (Tabela 4).

Como a presença de *Azospirillum brasilense* não interferiu ($p > 0,05$) nas variáveis relacionadas a nodulação (número, massa total e tamanho dos nódulos) e no nitrogênio total na parte aérea, a diminuição das massas secas da parte aérea e total pode estar relacionada com a especificidade da interação entre o feijoeiro e a rizobactéria introduzida. Segundo Mehnaz e Lazarovits (2006) a interação do *Azospirillum* com as plantas está relacionada com as espécies vegetal e da bactéria.

Pascoaloto et al. (2014), avaliando a influência da inoculação de *Azospirillum brasilense* no crescimento inicial (10 dias) de seis cultivares de feijoeiro (IAC-Alvorada, BRS Notável, Carioca Precoce, BRS Estilo, IAC-Imperador e Pérola) obtiveram respostas diferentes dessas interações, sendo que inoculação da bactéria reduziu a massa total das plantas da cultivar BRS Notável e não interferiu nas demais cultivares.

Tabela 2 – Nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

<i>Rhizobium tropici</i>	NTPA	NTN
mg.....unidades....
Não inoculado	43,35 b	106,67 b
Inoculado	55,59 a	208,56 a
CV (%)	26,52	36,79

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste F.

Análises de variância no APÊNDICE D.

Embora sejam apresentadas as médias originais da variável NTN seus dados foram transformados em $\sqrt{x}/2$ para promover o atendimento dos pressupostos da análise de variância paramétrica.

Tabela 3 – Massa dos nódulos secos (MNS), número de nódulos grandes (NNG), médios (NNM), pequenos (NNP) e muito pequenos (NNMP) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Tratamentos	MNS	NNG	NNM	NNP	NNMP
	...mg... unidades			
Testemunha	67,83 a	2,67 a	35,00 a	76,33 a	27,50 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	40,17 a	0,67 a	24,83 a	36,50 a	18,33 a
<i>Rhizobium tropici</i>	96,33 a	0,33 a	52,33 a	97,67 a	21,33 a
<i>A. brasilense</i> x <i>R. tropici</i>	93,83 a	0,16 a	49,33 a	140,67 a	36,83 a
Nitrogênio	54,00 a	0,33 a	24,17 a	46,33 a	17,83 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste Kruskal-Wallis.

Nódulos grandes (NG): maiores ou iguais a 4,00 mm; nódulos médios (NM): entre 2,00 e 3,99 mm; nódulos pequenos (NP): entre 1,00 e 1,99 mm; nódulos muito pequenos (NMP): menores que 1,00 mm.

A inoculação do *Rhizobium tropici* interferiu positivamente no acúmulo de nitrogênio na parte aérea e o número total de nódulos (Tabela 2). Da mesma forma Barros et al. (2013), avaliando a interação da inoculação rizobiana, adubação nitrogenada e épocas de plantio, observaram maior número de nódulos nos tratamentos inoculados. Por outro lado Souza et al. (2011), ao avaliarem a aplicação de N mineral e a inoculação rizobiana em feijoeiro comum em cultivo de sucessão após milho consorciado com braquiária, não observaram efeito do rizóbio introduzido no número de nódulos.

No presente trabalho a inoculação rizobiana aumentou em 28% o nitrogênio total na parte aérea das plantas (Tabela 2), indicando haver maior eficiência simbiótica dos rizóbios introduzidos em relação aos nativos. Porém os resultados da interação entre os rizóbios nativos do solo e os introduzidos via inoculante rizobiano são muito divergentes. Pelegrin et al. (2009) e Valadão et al. (2009) não observaram diferenças no acúmulo de N foliar no feijoeiro derivado do efeito dos rizóbios nativos e introduzidos. Por outro lado Araújo et al. (2007), observaram que plantas cujas sementes foram inoculadas apresentaram maior teor de N em relação as não inoculadas. De modo geral a interferência do inoculante rizobiano no feijoeiro comum está relacionada com a competitividade nodular estabelecida entre o *Rhizobium tropici* introduzido e as populações de rizóbios nativos presentes solo.

Tabela 4 – Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), total (MST), nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014

Tratamentos	MSPA	MSR	MST	NTPA	NTN
	g	g	g	mg	unidades
Testemunha	2,68 a	0,63 a	3,58 a	53,12 a	088,67 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	1,84 b	0,52 a	2,40 b	61,25 a	171,67 a
<i>Rhizobium tropici</i>	2,55 a	0,67 a	3,31 a	52,75 a	227,00 a
<i>A. brasilense</i> x <i>R. tropici</i>	2,65 a	0,65 a	3,40 a	35,01 a	080,33 a
Nitrogênio	3,07 a	0,68 a	3,80 a	51,68 a	133,00 a
CV (%)	19,95	19,60	18,90	26,52	36,79

Médias seguidas de letra igual à do tratamento adicional (nitrogênio) não diferem ($p > 0,05$) deste pelo teste de Dunnett.

Análises de variância nos APÊNDICES C (MSPA; MSR; MST) e D (NTPA; NTN).

Embora sejam apresentadas as médias originais da variável NTN seus dados foram transformados em $\sqrt{x}/2$ para promover o atendimento dos pressupostos da análise de variância paramétrica.

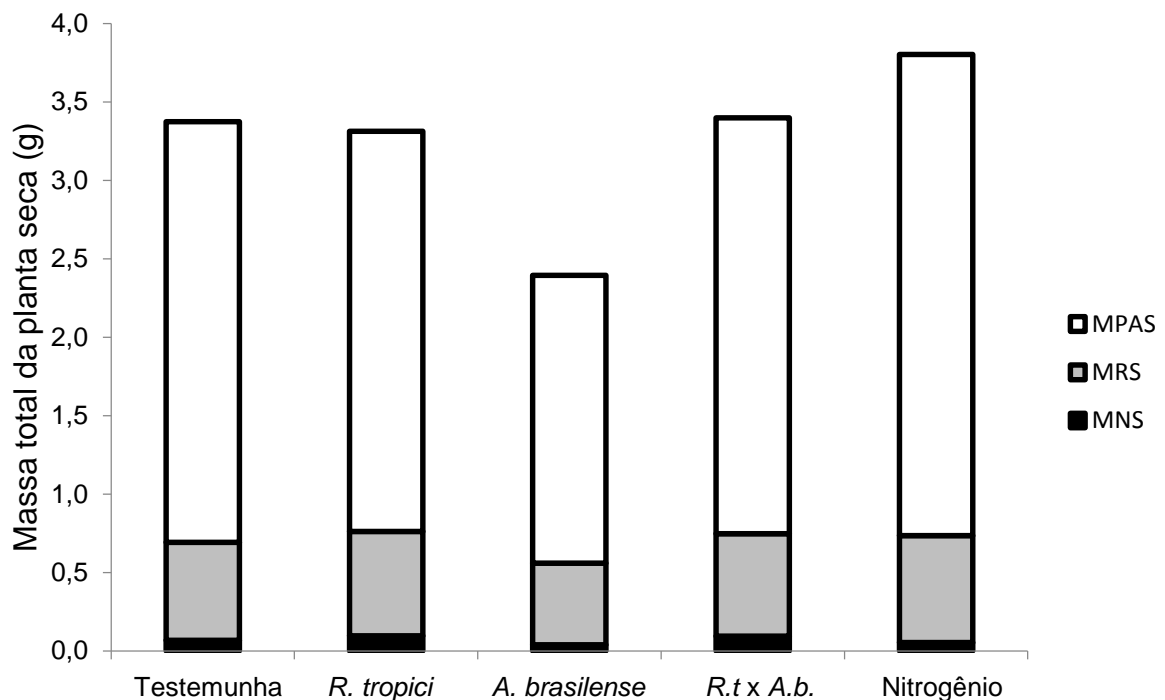
Como se verificou correlação altamente significativa ($r = 0,98^{**}$) entre a massa de nódulos secos e o número de nódulos médios, estes foram o que mais contribuíram para o aumento da massa nodular. Além disso, como também se observou correlação ($r = 0,88^*$) entre o número de nódulos médios e o total de N acumulado na parte aérea das plantas, provavelmente nódulos com tamanho entre 2,00 e 3,99 mm foram os que mais contribuíram para a fixação simbiótica do N no feijoeiro comum cultivar BRS estilo.

A testemunha não diferiu do tratamento adicional com aplicação no solo de 30 kg.ha⁻¹ de N (Tabela 4). Provavelmente as boas condições de fertilidade do solo (pH = 6,13; P = 98,2 mg.dm⁻³; MO = 24,2 g.kg⁻¹; Ca+Mg = 8,6 mg.dm⁻³; CTC = 10,7 mg.dm⁻³ e V% = 81,3%) foram suficientes a suprir as necessidades nutricionais da planta. Brito et al. (2011) observaram que a absorção do N contido no solo não é influenciada pela aplicação de fertilizantes nitrogenados.

Na Figura 1 observa-se que a massa dos nódulos contribuiu para a composição da massa total em todos os tratamentos, independente da introdução de rizóbios,

comprovando assim a nodulação promovida pelos rizóbios nativos do solo. Também pode ser observado a redução da massa da parte aérea seca das plantas inoculadas somente com *Azospirillum brasilense*.

Figura 1 – Massas secas dos nódulos, da raiz, da parte aérea e total da planta de feijoeiro comum cultivar BRS Estilo obtidas em função da aplicação de nitrogênio ao solo e da coinoculação das sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014



Os resultados referentes ao efeito isolado de *Azospirillum brasilense* indicam que, nas condições experimentais trabalhadas, em vez da bactéria agir na promoção de crescimento desta cultivar (BRS Estilo) pode ter atuado como um patógeno menor ou secundário, causando redução das massas das plantas sem, no entanto, causar sintomas de doenças (Tabelas 1 e 4 e Figura 1).

4.2 COINOCULAÇÃO DE RPCPs EM FEIJÃO PÉROLA

Não foi observado o efeito do *Rhizobium tropici* isolado ou combinado com *Azospirillum brasilense* nas variáveis massas secas da parte aérea, da raiz e total (Tabela 5). Por outro lado a inoculação de *Azospirillum brasilense* promoveu aumento nas massas secas da parte aérea e total (Tabela 5).

Tabela 5 – Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014

		MSPA	MSR	MST
	g.....		
<i>Azospirillum brasilense</i>	Não inoculado	0,89 b	0,26 a	1,16 b
	Inoculado	0,99 a	0,28 a	1,28 a
<i>Rhizobium tropici</i>	Não inoculado	0,89 a	0,27 a	1,17 a
	Inoculado	0,98 a	0,28 a	1,28 a
CV (%)		6,73	4,31	4,07

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem ($p > 0,05$) entre si pelo teste F. Análises de variância no APÊNDICE E.

Médias originais cujos dados foram transformados em $\frac{1}{\sqrt{x}}$, $\sqrt[3]{x}$ e $\sqrt[3]{x}$ para MSPA, MSR e MST, respectivamente, para promover o atendimento dos pressupostos da análise de variância paramétrica.

Tabela 6 – Massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* nas sementes e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014

Tratamentos	MSPA	MSR	MST
g.....		
Testemunha	0,83 b	0,25 b	1,09 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,95 b	0,29 b	1,24 b
<i>Rhizobium tropici</i>	0,94 b	0,27 b	1,23 b
<i>A. brasilense</i> X <i>R. tropici</i>	1,03 b	0,28 b	1,33 b
Nitrogênio	1,57 a	0,43 a	1,99 a
CV (%)	6,73	4,31	4,07

Médias seguidas de letra igual à do tratamento adicional (nitrogênio) não diferem ($p > 0,05$) deste pelo teste de Dunnett.

Análise de variância no APÊNDICE E

Médias originais cujos dados foram transformados em $\frac{1}{\sqrt{x}}$, $\sqrt[3]{x}$ e $\sqrt[3]{x}$ para MSPA, MSR e MST, respectivamente, para promover o atendimento dos pressupostos da análise de variância paramétrica.

Tabela 7 - Nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e massa seca dos nódulos (MSN) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014

Tratamento	NTPA	MSN
mg.....	
Testemunha	17,51 cb	0,00 c
<i>Azospirillum brasilense</i>	18,46 bc	0,20 b
<i>Rhizobium tropici</i>	20,46 b	19,67 a
<i>A. brasilense</i> x <i>R. tropici</i>	44,33 a	16,67 a
Nitrogênio	43,87 a	0,00 c

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem ($p>0,05$) entre si pelo teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 8 - Número total de nódulos (NTN), médios (NNM), pequenos (NNP) e muito pequenos (NNMP) de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidos em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em função da inoculação isolada e combinada de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* e um tratamento adicional correspondente à aplicação de nitrogênio ao solo, em Rio Branco, AC, 2014

Tratamentos	NTN	NNM	NNP	NNMP
unidades.....			
Testemunha	00,67 b	00,33 b	00,17 b	00,17 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	00,67 b	00,33 b	00,17 b	00,17 b
<i>Rhizobium tropici</i>	65,50 a	15,50 a	39,50 a	10,50 a
<i>A. brasilense</i> x <i>R. tropici</i>	68,33 a	12,50 a	40,00 a	12,50 a
Nitrogênio	00,17 c	00,00 c	00,17 b	00,00 c

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem ($p>0,05$) entre si pelo teste de Kruskal-Wallis. Nódulos grandes (NG): maiores ou iguais a 4,00 mm; nódulos médios (NM): entre 2,00 e 3,99 mm; nódulos pequenos (NP): entre 1,00 e 1,99 mm; nódulos muito pequenos (NMP): menores que 1,00 mm.

A não observação de resposta da aplicação de *Rhizobium tropici* pode estar relacionada com o período de avaliação do experimento (estádio V4) quando ainda é baixa a atividade da FBN. Brito et al. (2009), avaliando a marcha de absorção do nitrogênio derivado da fixação biológica, de fertilizantes nitrogenados e do solo para o crescimento do feijoeiro observaram que as maiores taxas de fixação de N ocorrem

a partir da pré-floração (estádio R5).

A aplicação de nitrogênio mineral proporcionou maior crescimento das plantas que nos demais tratamentos (Tabela 6). Desta forma o N disponível no solo e proveniente da FBN não foi suficiente para promover resposta similar à obtida com o N derivado da adubação evidenciando a necessidade da suplementação deste elemento para favorecer o crescimento inicial das plantas. Entretanto, é importante destacar que, mesmo com a inoculação rizobiana, diversos trabalhos (PELEGRIN et al., 2009; BRITO et al., 2011) sugerem a necessidade de aplicação da dose de arranque de N para a cultura do feijoeiro.

A coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* proporcionou nitrogênio total da parte aérea similar ($p > 0,05$) ao obtido com a aplicação de 30 kg de N.ha⁻¹, demonstrando sinergismo das bactérias inoculadas nas sementes em aumentar a eficiência da FBN inicial das plantas. Com a inoculação isolada do rizóbio o teor desse nutriente na parte aérea das plantas foi em torno de 215% menor em relação ao verificado nas plantas que receberam a coinoculação nas sementes e aplicação de N mineral ao solo (Tabela 7). Araújo et al. (2010), avaliando o efeito da coinoculação de *Bradyrhizobium* e *Bacillus* na soja, verificaram que o teor de N foliar obtido mediante a interação desses microrganismos foi equivalente ao observado com fertilização mineral. Resultado similar também foi obtido por Araújo e Hungria (1999).

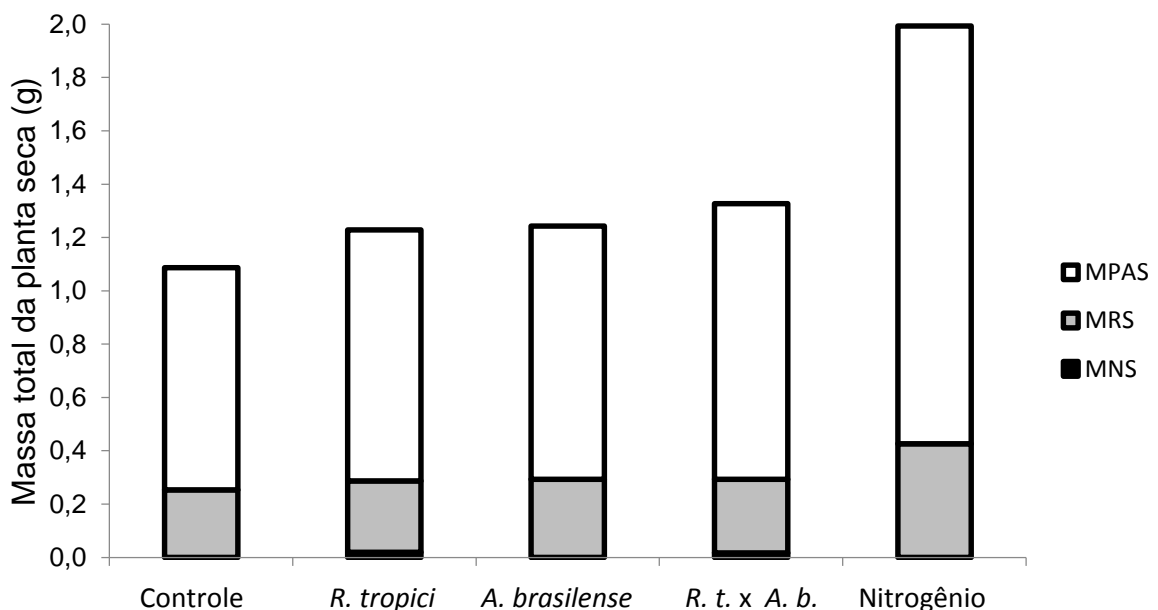
O maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas derivado da coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* nas sementes comparado à testemunha e a inoculação isolada de ambas as espécies evidencia que o efeito combinado destas bactérias pode ser tão eficiente neste aspecto quanto à adubação nitrogenada (Tabela 7). Hungria et al. (2013) observaram efeitos positivos nas massa total das plantas, no N foliar e nas características de nodulação do feijoeiro com a coinoculação. Entretanto, ainda há dúvidas quanto a origem dos benefícios do *Azospirillum* nessa interação, se provém dos efeitos hormonais que os mesmos causam nas plantas ou de melhoria na nodulação promovida pelos rizóbios. Darnadelli et al. (2008) associaram o efeito positivo da coinoculação a expansão radicular e redução da atividade do acetileno. Entretanto Cásson et al. (2009) relacionam os benefícios dessa interação à liberação de compostos reguladores de crescimento.

Na tabela 8 pode-se observar que a nodulação foi aumentada e antecipada pela aplicação de inoculante rizobiano uma vez que verificou-se, mesmo de forma

prematura (estádio V4), maior número total de nódulos e de tamanhos médio, pequeno e muito pequeno nos tratamentos com inoculação isolada de *Rhizobium tropici* ou combinada (coincoculação) com *Azospirillum brasilense*. Além disso, a presença de nódulos, mesmo que de pequeno tamanho, em plantas cujas sementes não foram inoculadas com *Rhizobium tropici* (testemunha e inoculação apenas de *Azospirillum brasilense*) evidencia que a nodulação promovida pelos rizóbios nativos do solo estava iniciando nessa fase e que o *Azospirillum brasilense*, isoladamente, não interferiu nos indicadores de nodulação (Tabela 8). Por outro lado, observa-se também na Tabela 8 que em decorrência da aplicação de N mineral, o número de nódulos foi menor até mesmo que a testemunha evidenciando que sua maior disponibilidade para as plantas pode atrasar o início da nodulação ou até mesmo inibi-la. Silva et al. (2009b) e Albuquerque et al. (2012) observaram diminuição linear do número e massa dos nódulos em consequência do acréscimo da N aplicado.

Na Figura 2 observa-se a inexpressiva contribuição da massa dos nódulos na composição da massa total dos tratamentos não inoculados com *Rhizobium tropici*, confirmando a importância da inoculação das sementes desta cultivar de feijão. Também pode ser observada a importante contribuição da fertilização com N mineral no crescimento inicial do feijoeiro.

Figura 2 – Massas secas dos nódulos, da raiz, da parte aérea e total da planta de feijoeiro comum cultivar Pérola obtidas em função da aplicação de nitrogênio ao solo e da coincoculação das sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014



5 CONCLUSÕES

O *Azospirillum brasilense* quando inoculado isoladamente em feijão BRS Estilo reduz o crescimento das plantas.

O inoculante rizobiano permite obter maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea do feijoeiro BRS Estilo.

A coinoculação não interfere na nodulação e crescimento do feijoeiro BRS Estilo.

A inoculação de *Azospirillum brasilense*, independente da introdução ou não de *Rhizobium tropici*, aumenta o crescimento inicial do feijoeiro Pérola.

A aplicação de nitrogênio mineral no solo permite obter maior crescimento inicial do feijoeiro Pérola do que a inoculação isolada ou combinada de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*.

A inoculação de *Rhizobium tropici* torna a nodulação mais precoce e aumenta a massa nodular do feijoeiro Pérola.

A coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* proporciona acúmulo do nitrogênio na parte aérea do feijoeiro Pérola superior à obtida pelo efeito isolado destas bactérias e similar à aplicação de 30 kg de N.ha⁻¹ de N ao solo.

Em um mesmo solo a aplicação de *Azospirillum brasilense* promove o crescimento do feijoeiro cultivar Pérola e reduz o da cultivar BRS Estilo.

O inoculante rizobiano aumenta a nodulação das cultivares de feijoeiro Pérola e BRS Estilo.

REFERÊNCIAS

- ACRE, Governo do Estado do Acre. **Zoneamento ecológico econômico do Acre: Fase II** (Escala 1: 250.000). 2. ed. Rio Branco, AC: SEMA, 2010. 356 p.
- AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2012. 512 p.
- ALBUQUERQUE, H. C. de; PEGORARO, R. F.; VIEIRA, N. M. B.; AMORIM, I. de J. F.; KONDO, M. K. Capacidade de nodulatória e características agronômicas de feijoeiros comuns submetidos à adubação molíbdica parcelada e nitrogênio. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p. 214-221, abr./jun. 2012.
- ALMEIDA, C. de; CARVALHO, M. A. C. de; ARF, O.; SÁ, M. E. de; BUZETTI, S. Uréia em cobertura e via foliar em feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 293-298, abr./jun. 2000.
- ANTOUN, H.; BEAUCHAMP, C. J.; GOUSSARD, N.; CHABOT, R.; LALAND, R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on nonlegumes: effect on rodishes (*Raphanus sativus* L.). **Plant and Soil**, Netherlands, v. 204, n. 1, p. 57-67, Jan./Jun. 1998.
- ARAÚJO, A. S. F. de; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. de. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeitos sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 1, p. 182-185, fev. 2010.
- ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p.456-462, abr. 2008.
- ARAÚJO, F. F. de; ARAÚJO, A. S. F de; SOUZA, M. R. Inoculação do feijão-caupi com rizobactérias promotoras do crescimento e desempenho na produção de biomassa. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, p.53-58, jan./dez. 2012.
- ARAÚJO, F. F. de; CARMONA, F. G.; TIRITAN, C. S.; CRESTE, J. E. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetida a dosagens de inoculante e tratamento químico nas sementes comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, out./dez. 2007.
- ARAÚJO, F. F. de; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, set. 1999.
- ARF, M. V.; BUZETTI, S.; ARF, O.; KAPPES, C.; FERREIRA, J. P.; GITTI, D. de C.; YAMAMOTO, C. J. T. 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, jul./set. 2011.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5-6, p. 911-922, May/June. 1997.

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

BARBOSA, G. F.; ARF, O.; NASCIMENTO, M. S. do; BUZETTI, S.; FREDDI, O. da S. Nitrogênio em cobertura e molibdênio foliar no feijoeiro de inverno. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 117-123, jan./mar. 2010.

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

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 160, n. 1, p. 268-282, May, 1937.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8 p. 521-577, Aug. 2004.

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, Feb. 1997.

BRITO, M. de M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. da. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 206-215, jan./mar. 2011.

BRITO, M. de M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. da. Marcha de absorção de nitrogênio no solo, de fertilizantes e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) WALP.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de ¹⁵N. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 4, p. 895-905, jul./ago. 2009.

CAMPOS, A. C. T. de; RADUNZ, L. L.; RADUNZ, A. L.; MOSSI, A. J.; DIONELLO, R. G.; ECKER, S. L. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de carqueja doce sobre o caruncho do feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 8, p. 861-865, ago. 2014.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CARVALHO, E. A. **Avaliação agrônômica de disponibilização de nitrogênio à cultura do feijoeiro sob sistema de semeadura direta**. 2002. 63 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

CARVALHO, J. J.; SILVA, N. F. da; ALVES, D. M.; MORAIS, W. A.; CUNHA, F. N.; TEIXEIRA, M. B. Produtividade e teores de nutrientes em grãos de feijão sob diferentes manejos do solo e da irrigação. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 8, n. 3, p. 296-307, maio/jun. 2014.

CÁSSAN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* AZ 39 and *Bradyrhizobium japonicum* E119, inoculated singly or in combination, promoted seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, Braunschweig, v. 45, n. 1, p. 28-35, Jan./Dec. 2009.

COUTO JUNIOR, P. A.; SILVA, A. de A.; LANA, R. M. Q. Aplicação de diferentes doses e adubação de micronutrientes via solo na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 8-14, jan./fev. 2013.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; SILVA, L. M. da; 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, MG, v. 31, n. 6, p. 1545-1552, nov./dez. 2007.

DARNADELLI, M. S.; CÓRDOBA, F. J. F. de; ESPUNY, M. R.; CARVAJAL, M. A. R.; DÍAZ, M. E. S.; SERRANO, A. M. G.; OKON, Y.; MEGÁS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and nos-factor production under salt stress. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 11, p. 2713-2914, Nov. 2008.

DOBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. In: NEWTON W. E, NYMAM, C. J. N. (Ed.). **Proceedings of the Institute International Symposium on Nitrogen Fixation**. Washington: Pulman, Washington State University of Press. 1976. p. 518-538.

DOMINGUES, L. da S.; RIBEIRO, N. D.; MINETTO, C.; SOUZA, J. F. de; ANTUNES, I. F. Metodologias de análise de adaptabilidade e de estabilidade para a identificação de linhagens de feijão promissoras para o cultivo no Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1065-1076, maio/jun. 2013.

DUNNETT, C. W. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. **Jornal of the American Statistical Association**, Alexandria, v. 50, n. 272, p. 1096-1121, Jan./Mar., 1955.

EMBRAPA. **Cultivo do feijoeiro comum**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/adubacao.htm>>. Acesso em: 7 ago. 2014.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa do solo, 2013. 353 p.

FERNANDEZ de C, F.; GEPTS, P.; LÓPES, M. **Etapas de desarrollo de la planta del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Cali: CIAT, 1986.

FERREIRA, A. N.; CARVALHO, M. A. C. de; ARAÚJO, R. S.; SÁ, M. E. de; BUZZETTI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na nodulação do feijoeiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 507-512, jul./set. 2000.

FIGUEIREDO, M. V. B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F. F. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications In: MAHESHWARI, D. K. (Ed.). **Plant growth and health promoting bacteria**. Berlin: Springer-Verlag, 2010. p. 45-68.

FREITAS, A. D. S. de; VIEIRA, C. L.; SANTOS, C. E. de R e S; STAMFORD, N. P.; LYRA, M. do C. C. P. de. Caracterização de rizóbios isolados de jacatupé cultivado em solo salino do estado de Pernambuco, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 3, p. 497-504, jul./set. 2007.

FONSECA, G. G. **Resposta de cultivares de feijoeiro comum à inoculação de sementes com estirpes de rizóbio em Minas Gerais**. 2011. 166 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

GRUBBS, F. E. Procedures for detecting outlying observations in samples. **Technometrics**, Princeton, v. 11, n. 1, p. 1-21, Feb. 1969.

HOFFMANN, L. V. Biologia molecular da fixação biológica do nitrogênio. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. (Ed.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas. 2007. p. 153-164.

HOSSAIN, M. D. **Potential use of *Rhizobium* spp. To improve growth of non-nitrogen fixing plants**. 2007. 31 f. Thesis (Master of Soil Science) – Department of Soil Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden, 2007.

HUNGRIA, M.; BARRADAS, C. A.; VALLSGROVE, R. M. Nitrogen fixation, assimilation and transport during the initial growth stage of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, v.42, n. 7, p.839-844, Jul. 1991.

HUNGRIA, M.; CAMPO, J. R.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa-Soja, 2001. 48 p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, June. 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 20 p. (Documentos, 325)

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

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAÚJO, R. S. Fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC. 1997. p. 187-294.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 27, n. 4, maio. 2014. 117 p.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, Alexandria, v. 47, n. 260, p. 583-621, Dec. 1952.

KUSDRA, J. F. **Nodulação do feijoeiro e fixação biológica do nitrogênio em resposta à microbiolização das sementes e à aplicação de micronutrientes**. 2002. 128 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

LEHNER, M. S.; PAULA JUNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; LIMA, R. C.; SILVA, R. A.; SOARES, B. A.; NASCIMENTO, M.; CARNEIRO, J. E. S. Potencial de herbicidas para o controle de patógenos do solo do feijão. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 32, n. 1, p. 117-123, jan./mar. 2014.

LEMONS, J. M.; GUIMARÃES, V. F.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; SANTOS, M. F. dos; OFFEMANN, L. C. Resposta de cultivares de trigo à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e à adubação nitrogenada em cobertura. **Cientifica**, Jaboticabal, v. 41, n. 2, p. 189-198, jul./dez. 2013.

LIMA, L. K. de; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, R. A. D. C.; ABREU, A. de F. B. Repeatability of adaptability and stability parameters of common bean in unpredictable environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 48, n. 9, p. 1254-1259, set. 2013.

LIMA, A. S. T. de; BARRETO, M. do C. S.; ARAÚJO, J. M.; SELDIN, L.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. do V. B. Sinergismo *Bacillus*, *Brevibacillus* e, ou, *Paenibacillus* na simbiose *Bradyrhizobium-caupi*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 713-721, maio/jun. 2011.

LOPES, A da S.; OLIVEIRA, G. Q. de; SOUTO FILHO, S. N.; GOES, R. J.; CAMACHO, M. A. Manejo de irrigação e nitrogênio no feijoeiro comum cultivado em sistema plantio direto. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 51-56, jan./mar. 2011.

LOPES, V. R. **Melhoramento genético de cana-de açúcar em associação com bactérias promotoras de crescimento vegetal**. 2013. 133 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MANTOVANI, E. V.; MONTES, D. R. P.; VIEIRA, G. H. S.; RAMOS, M. M.; SOARES, A. A. Estimativa de produtividade da cultura do feijão irrigado em Cristalina-GO para diferentes lâminas de irrigação como função da uniformidade de aplicação. **Revista Engenharia Agrícola**, v. 32, n. 1, p. 110-120, jan./fev. 2012.

MARENCO, R. A. M.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral.** Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2007.

MARIANO, R. de L. R.; SILVEIRA, E. B. da; ASSIS, S. M. P. de; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para a agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, n. 1, p. 89-111, jan. 2004.

MATOSO, S. C. G.; KUSDRA, J. F. Nodulação e crescimento do feijoeiro em reposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 6, p. 567-573, jun. 2014.

MEHNAZ, S.; LAZAROVITS, G. Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Ghiconacetobacter azotocaptans* and *Azospirillum lipoferum* on com plant growth iinder greenhouse conditions. **Microbial Ecology**, New York, v. 51, n. 3, p. 326-335, Mar. 2006.

MENDES, M. C.; ROSÁRIO, J. G. do; FARIA, M. V.; ZOCICHE, J. C.; WALTER, A. L. B. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade da farinha. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 4, n. 3, p. 95-110, set./dez. 2011.

MESQUITA, F. R.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P. de; LIMA, R. A. Z.; ABREU, A. de F. B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, jul./ago. 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA. 2006. p. 449-542.

MÜLLER, T. M. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada à níveis crescentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na cultura do milho.** 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

NASCENTE, A. S.; KLUTHCOUSKI, J.; CRUSCIOL, C. A. C.; COBUCCI, T.; OLIVEIRA, P. de. Adubação de cultivares de feijoeiro comum em várzeas tropicais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 407-415, out./dez. 2012.

OLIVEIRA, A. L. M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I.; **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 40 p. (Documentos, 161).

OLIVEIRA, I. P.; ARAÚJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição mineral e fixação biológica de feijoeiro. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONR, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: Potafós, 1996. p. 169-221.

PASCOALOTO, I. M.; VAZQUEZ, G. H.; SÁ, M. E. de; ALVEZ, C. J.; ABRANTES, F. L.; FÁVERO, M. S. Resposta de diferentes cultivares de feijão à inoculação com *Azospirillum brasilense*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 11., 2014, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2014.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação de rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 219-226, maio/jun. 2009.

PEREIRA, J. C. dos R.; RODRIGUES, R. A. F.; ARF, O.; ALVAREZ, A. C. C. Influência do manejo do solo, lâminas de água e doses de nitrogênio na produtividade do feijoeiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 13-19, jan./mar. 2004.

PORTES, T. de A.; KLUTHCOUSKI, J.; OLIVEIRA, P. de. Aspectos fenológicos do feijoeiro comum como ferramenta para tomada de decisões fitotécnicas. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). **Fundamentos para uma agricultura sustentável, com ênfase na cultura do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. p. 47-63.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J. da; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, set./dez. 2013.

RIBEIRO, F. E.; DEL PELOSO, M. J.; BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. de O.; OLIVEIRA, L. F. C. de. **Recomendações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) nas regiões norte e nordeste do Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. (Comunicado técnico, 89).

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B. da; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; COSTA, A. C. P. R. da. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 1, p. 31-37, jan. 2014.

RUFINI, M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; OLIVEIRA, D. P.; ANDRADE, M. J. B. de; MOREIRA, F. M. de S. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro comum em diferentes valores de pH. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 1, p. 81-88, jan. 2011.

SANTI, A. L.; BASSO, C. J.; LAMEGO, F. P.; DELLA FLORA, L. P.; AMADO, T. J. C.; CHERUBIN, M. R. Épocas e parcelamentos da adubação nitrogenada aplicada em cobertura na cultura do feijoeiro, grupo comercial preto e carioca, em semeadura direta. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 43, n. 5, p. 816-822, maio, 2013.

SANTOS, J. B. dos; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J. de; BORÉM. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1998. p. 55-81.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F. de; SILVA, J. A. da; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. de B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. J.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, n. 2, p. 261-268, fev. 2012.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, Oxford, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, Dec. 1965.

SILVA, E. F. da; MARCHETTI, M.E.; SOUZA, L. C. F. de; 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, n. 2, p.443-451, abr./jun. 2009b.

SILVA, T. R. B. da; GRUTKA, G. H. H.; MAIA, S. C. M.; FREITAS, L. B. de. Nitrogênio em cobertura no feijoeiro cultivado em plantio direto sobre diferentes coberturas vegetais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 107-111, jan. 2009a.

SILVA, T. R. B. da; LEMOS, L. B.; CRUSCIOL, C. A. C. Produtividade e características tecnológicas de cultivares de feijão em resposta à calagem superficial em plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 196-205, jan./mar. 2011.

SCHULTZ, N.; LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; BEUTTER, S. J.; ZONTA, E. Desenvolvimento de feijoeiro comum cultivado em amostras de Organossolo com diferentes níveis de calagem. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 285-291, abr./jun. 2011.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University Press. 1948.

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

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 215-252.

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

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

VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; GIONGO, A.; BENEDUZI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Potential of rhizobia as plant growth-promoting rhizobacteria. In: KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (Ed.). **Microbes for legume improvement**. Viena: Springer Verlag, 2010, cap. 7, p. 137-155.

VIANA, T. de O.; VIEIRA, N. M. B.; MOREIRA, G. B. L.; BATISTA, R. O.; CARVALHO, S. J. P. de; RODRIGUES, H. F. F. Adubação do feijoeiro cultivado no norte de Minas Gerais com nitrogênio e fósforo. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, n. 1, p. 115-120, jan./fev. 2011.

VIEIRA, R. F.; PAULA JUNIOR, T. J. de; CARNEIRO, J. E. de S.; QUEIROZ, M. V. Genotypic variability in seed accumulation of foliar-applied molybdenum to common bean. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 38, n. 1, p. 205-213, jan./fev. 2014.

YOKOYAMA, L. P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos sócio econômicos da cultura. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. p.1-21.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Verificação da normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e da homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), dos nódulos (MSN), total (MST) e média unitária dos nódulos (MSMUN), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Variáveis	Shapiro-Wilk		Bartlett	
	W	Hipótese	χ^2	Hipótese
MSPA	0,980	NR	0,40	NR
MSR	0,966	NR	3,87	NR
MSN ⁽¹⁾	0,928	NR	11,77	R
MST	0,966	NR	0,36	NR
MSMUN	0,977	NR	4,62	NR
NTN	0,892	R	12,14	R
NTN (transformado)	0,933	NR	9,15	NR
NTPA	0,979	NR	0,86	NR

⁽¹⁾ Análise não-paramétrica (Kruskal-Wallis). Não foi possível obter uma transformação que permitisse atender os pressupostos da análise de variância.

NR: não rejeita-se a hipótese; R: rejeita-se a hipótese.

APÊNDICE B – Verificação da normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e da homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett) das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), dos nódulos (MSN), total (MST) e média unitária dos nódulos (MSMUN), número total de nódulos (NTN) e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) do feijoeiro comum cultivar Pérola, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Variáveis	Shapiro-Wilk		Bartlett	
	W	Hipótese	χ^2	Hipótese
MSPA	0,884	R	6,29	NR
MSPA (transformado)	0,955	NR	9,40	NR
MSR	0,898	R	1,45	NR
MSR (transformado)	0,935	NR	0,79	NR
MSN ⁽¹⁾	0,692	R	-(²)	-
MST	0,889	R	5,54	NR
MST (transformado)	0,929	NR	5,54	NR
MSMUN ⁽¹⁾	0,750	R	-(²)	-
NTN	0,719	R	95,66	R
NTPA ⁽¹⁾	0,760	R	1,97	NR

⁽¹⁾ Análise não-paramétrica (Kruskal-Wallis). Não foi possível obter uma transformação que permitisse atender os pressupostos da análise de variância.

⁽²⁾ Um ou mais tratamentos com variabilidade zero.

NR: não rejeita-se a hipótese; R: rejeita-se a hipótese.

APÊNDICE C – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		MSPA	MSR	MST
<i>Rhizobium tropici</i> (Rt)	1	0,66 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1,20 ^{ns}
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	0,80 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,08 ^{ns}
Rt x Ab	1	1,37*	0,02 ^{ns}	1,81*
Fatorial x Trat. adicional	1	2,01*	0,02 ^{ns}	2,36*
Tratamentos	4	-	-	-
Erro	22	0,26	0,02	0,38
Total	26	-	-	-
CV (%)		19,95	19,60	18,90

^{ns} Não significativo; * significativo a 5% de probabilidade.

APÊNDICE D – Análise de variância do nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e número total de nódulos (NTN) do feijoeiro comum cultivar BRS Estilo, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Fontes de variação	GL	Quadrado médio	
		NTPA	NTN
<i>Rhizobium tropici</i> (Rt)	1	770,54*	20,88*
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	620,65 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Rt x Ab	1	356,96 ^{ns}	4,24 ^{ns}
Fatorial x Trat. adicional	1	95,79 ^{ns}	14,93 ^{ns}
Tratamentos	4	-	-
Erro	22	173,03	3,98
Total	26	-	-
CV (%)		26,52	36,79

^{ns} Não significativo; * significativo a 5% de probabilidade

APÊNDICE E – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) do feijoeiro comum cultivar Pérola, em experimento realizado no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2+1, em Rio Branco, AC, 2014

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		MSPA	MSR	MST
<i>Rhizobium tropici</i> (Rt)	1	0,015 ^{ns}	0,000 ^{ns(1)}	0,006 ^{ns}
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab)	1	0,026*	0,002 ^{ns}	0,009*
Rt x Ab	1	0,000 ^{ns(1)}	0,001 ^{ns}	0,000 ^{ns(1)}
Fatorial X Trat. adicional	1	0,273*	0,052*	0,174*
Tratamentos	4	0,079*	0,014*	0,047*
Erro	25	0,004	0,001	0,002
Total	29			
CV (%)		6,73	4,31	4,07

^{ns} Não significativo; * significativo a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ Valor menor que 0,001.