

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

KARINA BUCKER

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE
FEIJOEIRO COMUM**

DOIS VIZINHOS

2023

KARINA BUCKER

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE
FEIJOEIRO COMUM**

**BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN DIFFERENT COMMON BEAN
GENOTYPES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof. Dr. Lucas da Silva Domingues.

DOIS VIZINHOS

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

KARINA BUCKER

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE
FEIJOEIRO COMUM**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em agronomia da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof. Dr. Lucas da Silva Domingues.

Data de aprovação: 28 de junho de 2023.

Lucas da Silva Domingues
Doutor em Agronomia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Adalberto Luiz de Paula
Doutor em Agronomia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Larissa Yuki Terada
Engenheira Agrônoma
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DOIS VIZINHOS

2023

AGRADECIMENTOS

Um trabalho de conclusão de curso, apesar de nomeado especificamente a um indivíduo, é resultante de trabalho e constante troca de informações entre várias pessoas. Atitudes envolvidas desde palavras de apoio, como um “vai dar tudo certo”, ou as práticas, tomando tempo em finais de semana e feriados para auxílio em avaliações, e ainda, conversas e orientações quanto a parte científica de um trabalho, todas, sem exceção, possuem seu valor e importância perante o produto final.

Agradeço, em especial, a meus pais, meus tios, meu namorado e demais familiares, por me permitirem e auxiliarem de todas as maneiras a cursar agronomia na UTFPR-DV, não medindo esforços para que esse sonho se transformasse em realidade.

A todo o corpo docente pelos ensinamentos repassados durante o período. E, em específico, a meu orientador, Lucas da Silva Domingues, por me permitir o acompanhamento em suas atividades de pesquisa desde o início da graduação e por todos os ensinamentos e orientações para com esse trabalho.

A todos os colegas do grupo de pesquisa em melhoramento do feijoeiro (PHAGEM), pelo auxílio para a realização das avaliações dessa pesquisa.

Aos os meus amigos do período de graduação, com os quais dividi temores e preocupações, mas também muitas alegrias, trazendo mais leveza e tranquilidade a esse período.

E, por fim, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos.

Muito obrigada!

RESUMO

O feijoeiro responde significativamente quando inoculado com organismos diazotróficos, estabelecendo relações benéficas com bactérias do gênero *Rhizobium sp.*. As bactérias promotoras do crescimento vegetal, como *Azospirillum brasiliensis* também podem exercer efeitos benéficos, principalmente quando em co-inoculação. No entanto, devido as particularidades genéticas de cada material, os genótipos tendem a responder de maneira distinta a essas associações. Nesse contexto, buscou-se avaliar o comportamento de genótipos de feijão quanto a inoculação e co-inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos, sob delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4X4, com seis repetições, composto pelos inoculantes *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasiliensis*, co-inoculação de *Rhizobium*+*Azospirillum* e um tratamento controle, aplicados a quatro genótipos de feijoeiro com diferentes graus de melhoramento (IPR Tangará, IPR Nhambu, BGLL e Rosinha). Foram realizadas amostragens aos 33 e 54 dias após plantio, com avaliações de índice de clorofila, comprimento de parte aérea, massa de matéria seca da parte aérea, comprimento de parte radicular, massa de matéria seca de raiz, volume de raiz e número de nódulos. Aos 33 DAP os efeitos da fixação biológica de nitrogênio não foram significativos para as interações genótipo e inoculante, foi verificada significância apenas para o feijão cavalo BGLL em comprimento de parte aérea, matéria seca de parte aérea e matéria seca de parte radicular. Aos 54 dias houve significância para o número de nódulos, onde a bactéria *Rhizobium tropici* se mostrou eficiente ao nodular três dos genótipos testados (IPR Tangará, BGLL e IPR Nhambu). A co-inoculação foi eficiente apenas para a IPR Nhambu. Para o material Rosinha nenhum dos inoculantes foi significativo para nenhuma das variáveis analisadas. Comprimento de parte aérea, comprimento de parte radicular e volume radicular apresentaram resultados significativos para os genótipos de maneira isolada. O genótipo BGLL apresentou o melhor valor para comprimento de parte aérea. IPR Tangara e BGLL apresentaram resultados positivos para comprimento de parte radicular e volume radicular. A bactéria *Rhizobium tropici* apresentou os melhores resultados para nodulação, porém não interferiu de maneira significativa nas demais variáveis relacionadas a fixação biológica de nitrogênio.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; inoculação; *Rhizobium sp*; co-inoculação.

ABSTRACT

Common beans respond significantly when inoculated with diazotrophic organisms, establishing beneficial relationships with bacteria of the genus *Rhizobium sp.* Plant growth promoting bacteria, such as *Azospirillum brasiliensis* can also exert beneficial effects, especially when in co-inoculation. However, due to the genetic particularities of each material, the genotypes tend to respond differently to these associations. In this context, we sought to evaluate the behavior of bean genotypes regarding the inoculation and co-inoculation of nitrogen-fixing bacteria. The experiment was conducted in the greenhouse of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Dois Vizinhos campus, under entirely randomized design, in a 4X4 factorial scheme, with six repetitions, composed by the inoculants *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasiliensis*, co-inoculation of *Rhizobium* + *Azospirillum* and a control treatment, applied to four bean genotypes with different degrees of improvement (IPR Tangará, IPR Nhambu, BGLL and Rosinha). Sampling was performed at 33 and 54 days after planting, with evaluations of chlorophyll index, aboveground length, aboveground dry matter mass, root length, root dry matter mass, root volume and number of nodules. At 33 DAP the effects of biological nitrogen fixation were not significant for the interactions genotype and inoculant, significance was found only for horse bean BGLL in aerial part length, aerial part dry matter and root part dry matter. At 54 days, there was significance for the number of nodules, where *Rhizobium tropici* bacteria were efficient in nodulating three of the genotypes tested (IPR Tangará, BGLL and IPR Nhambu). Co-inoculation was efficient only for IPR Nhambu. For Rosinha none of the inoculants was significant for any of the variables analyzed. The aerial part length, root part length and root volume presented significant results for the genotypes in isolation. BGLL showed the best value for aerial part length. IPR Tangara and BGLL showed positive results for root length and root volume. *Rhizobium tropici* bacteria showed the best results for nodulation, but did not interfere significantly in the other variables related to biological nitrogen fixation

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; inoculation; *Rhizobium sp*; co-inoculation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	Feijoeiro comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	16
3.2	Nitrogênio e a Fixação Biológica	17
3.3	Bactéria associativa <i>Azospirillum</i> spp. no feijoeiro	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Condução do experimento	21
4.2	Avaliações.....	22
4.2.1	Índice de clorofila.....	22
4.2.2	Comprimento de parte aérea.....	22
4.2.3	Comprimento radicular	22
4.2.4	Massa de matéria seca de parte aérea	22
4.2.5	Massa de matéria seca de raiz.....	23
4.2.6	Volume de raiz.....	23
4.2.7	Número de nódulos por planta	23
4.3	Análise dos dados.....	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

O feijão é um alimento cultivado a milhares de anos. É uma importante fonte de proteína vegetal na dieta dos seres humanos. Além disso, também apresenta vitaminas, principalmente do complexo B, ferro, cálcio, potássio, fósforo e fibras alimentares (CHAVES; BASSINELLO, 2014).

No Brasil, na safra 2020/21, para feijão preto, os três maiores produtores nacionais da leguminosa foram Paraná (336,4 mil t), Santa Catarina (65,1 mil t) e Rio Grande do Sul (55,1 mil t), o que é relativo a cerca de 94% da produção do país. Já para feijão de cores, os principais produtores foram Minas Gerais (501,3 mil t), Goiás (305,6 mil t) e Mato Grosso (202,4 mil t), correspondendo a 58% da produção brasileira (CONAB, 2022).

A expressão do potencial produtivo da cultura do feijoeiro é variável dependendo, do adequado suprimento nutricional (ROSELEM, 1987). Dentre os nutrientes exigidos pelo feijoeiro, o nitrogênio é o mais absorvido (SORRATTO *et al.*, 2013), de forma que a sua produtividade está diretamente relacionada à sua nutrição nitrogenada (BARBOSA *et al.*, 2010).

O feijão possui simbiose natural com as bactérias *Rhizobium tropici* (DWIVEDI *et al.*, 2015), que se associam a plantas hospedeiras formando nódulos. Dentro dessas estruturas, por meio de processos enzimáticos, ocorre a transformação do nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), que é uma das formas preferencialmente absorvível pelas plantas (HUNGRIA *et al.*, 1997).

Assim, suplementa-se a demanda da planta com adubação nitrogenada solúvel. No entanto, trata-se de um elemento que se perde facilmente por lixiviação (SANGOI, *et al.*, 2003), volatilização e desnitrificação no sistema solo-planta (FAGERIA; BALIGAR, 2005), logo, é necessária a adoção de técnicas que maximizem a eficiência de absorção pelas plantas.

A cultura do feijoeiro possui alta demanda de nitrogênio, esse fator atrelado ao aumento significativo do preço dos fertilizantes acarreta a um elevado custo de produção. Além disso, o uso desses insumos está ligado a problemas ambientais como a lixiviação e contaminação de lençóis freáticos com adubos nitrogenados. Portanto, atualmente uma das formas mais econômica e ecológica de entrada de nitrogênio ao solo é através da fixação biológica (SANTOS; SILVA, 2008).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é uma fonte alternativa e complementar de suplementação de N ao feijoeiro (PELEGRIM *et al.*, 2009). Nesse método de cultivo a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio é um meio de complementação de nitrogênio via semeadura, favorecendo a manutenção do rendimento de grãos com baixo custo em comparação apenas a uso de adubos minerais (BERTOLDO *et al.*, 2015).

Atualmente as estirpes utilizadas comercialmente para inoculação no feijoeiro são as SEMIA 4077, SEMIA 4080 E SEMIA 4088. Porém, a interação simbiótica no feijoeiro ainda é considerada de baixa eficiência quando em comparação com outras espécies, visto que sofre interferência de fatores bióticos e abióticos, como acidez do solo, temperatura, umidade e outros (GRAHAM, 1981; ALCÂNTARA *et al.*, 2014).

Pesquisas indicam resultados positivos quando utilizado o rizóbio associado ao *Azospirillum brasiliensis*, acarretando melhorias da FBN e melhor aporte nutricional para as plantas. Por consequência pode haver aumento da produtividade, o que pode ser atribuído a potencialização da nodulação e/ou atividade dos nódulos, e/ou ampliação do sistema radicular. Ou seja, com a técnica de co-inoculação é possível a obtenção de benefícios superiores aos adquiridos apenas via inoculação com *Rhizobium* (FERLINI, 2006).

Barbosa *et al.*, (2020) mencionam que as aplicações de fertilizantes nitrogenados apresentam parâmetros produtivos muito semelhantes ao uso de inoculantes, os quais se mostram como uma alternativa ao uso de adubos minerais solúveis.

Como alternativas ao suprimento de nitrogênio via fixação biológica, há o uso de estirpes comerciais de *Rhizobium tropici* de forma isolada, ou ainda combinadas ao uso de co-inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal, como o *Azospirillum*, visando maximizar o desempenho da FBN (BETTIOL, 2019).

Nesse contexto, partindo da hipótese que existe diferença na eficiência da fixação biológica de nitrogênio em genótipos distintos quando submetidos a inoculação com *Rhizobium* e co-inoculação com *Azospirillum*, objetivou-se o estudo com diferentes bactérias como fonte de inoculação no feijoeiro comum, aplicadas a plantas que diferem quanto a graus de melhoramento e hábitos de crescimento, no intuito de observar como ocorria a fixação biológica de nitrogênio, podendo por meio desse estudo verificar a efetividade do uso de inoculação e co-inoculação no aporte de nitrogênio para a cultura do feijão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento de genótipos de feijão sob inoculação e co-inoculação de bactérias fixadoras de N.

2.2 Objetivos específicos

Observar se há alterações nas respostas dos genótipos de feijão quando em associação com diferentes bactérias simbiotes.

Verificar se a co-inoculação com *Azospirillum brasiliensis* promove melhoria nos critérios analisados para a fixação biológica de nitrogênio.

Verificar qual associação simbiótica promove os melhores resultados de suprir o fornecimento de nitrogênio para a planta.

Observar como plantas com diferentes graus de melhoramento respondem a inoculação com *Rizhobium* e co-inoculação com *Azospirillum*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijoeiro pertence ao gênero *Phaseolus*. É uma das principais espécies leguminosas utilizadas na alimentação mundialmente, estando distribuída ao longo dos cinco continentes. O seu cultivo é considerado um dos mais antigos, havendo evidências de que já era conhecido há cerca de 5000 anos a. C. (OSPINA; DEBOUCK, 1980).

Há controvérsias quanto a centro de origem do feijoeiro comum, estudos arqueológicos têm encontrado evidências no Peru, Estados Unidos e México (VOYSEST, 1983). Existem considerações quanto a sua domesticação em dois centros de diversidade genética: mesoamericano (do México à região norte da América do sul), e o andino (Sul do Peru ao norte da Argentina) (GEPTS; DEBOUCK, 1991). Nas épocas pré-incaicas foram encontrados traços que remetem a características semelhantes à do vegetal que se conhece atualmente, de forma que a sua domesticação é associada a este período.

É caracterizado como pertencente à família Fabaceae (BASSINELLO, 2001). Sua composição nutricional apresenta proteína, lipídeos, carboidratos, fibras alimentares, cálcio, magnésio e fósforo, tendo variação de valores conforme o tipo e preparo do grão (TACO, 2011). Ribeiro *et al.* (2018), encontraram variações de proteína em sua pesquisa ao analisar 6 amostras diferentes de feijão, sendo o menor valor de 17,98% e o maior de 22,55%, o que pode estar atrelado às características genéticas ou ao manejo e clima.

De maneira morfológica, é considerada uma planta herbácea, constituída de nós e entre nós, onde se inserem os cotilédones, as folhas primárias e as trifoliadas. Quando com flores, estas se dispõem em inflorescências racemosas, axilares e terminais (SILVA, 1999).

O feijão possui classificação quando ao hábito de crescimento, podendo ser determinado, como a subclassificação “tipo um”, no qual apresenta porte ereto, ou classificado como indeterminado, grupo ao qual pertence os tipos dois, três e quatro. No tipo dois, a planta possui porte ereto com algumas ramificações; no tipo três, a planta é prostrada ou semiprostrada e com ramificações bem desenvolvidas; o tipo quatro, é o feijão trepador, poucas ramificações laterais e forte dominância apical. No

entanto, ainda podem ocorrer categorias cujas características se encontram entre os hábitos indeterminados, sendo estes nomeados de intermediários (DEBOUCK, 1978).

Possui flor papilionácea, bilateral, cálice gamossépalo, campanulado, com duas bractéolas na base, de tamanho igual ou maior que as sépalas; corola com cinco pétalas dialipétalas, uma mais externa e maior, o estandarte, duas laterais menores e estreitas, as asas, e duas inferiores, fusionadas, enroladas em espirais e envolvendo os órgãos reprodutores. Podem apresentar cor branca, rósea ou violeta, distribuída uniformemente por toda a corola, ou ser bicolor (SILVA, 1999). O fruto é um legume deiscente, tipo vagem, que quando maduro, as valvas se contorcem em espiral, com vagens de comprimento variável, de 10 a 20 cm, recurvadas ou não, terminada geralmente em bico proeminente e de lados convexos; quando maduro, o fruto apresenta geralmente a cor amarelada, com sementes de tamanhos e cores variadas de acordo com a variedade (AFONSO, 2010).

O Brasil tem a produção de três safras ao ano, a primeira de agosto a dezembro, a segunda entre janeiro e abril e a terceira de maio a julho, o que proporciona uma oferta constante do produto (CONAB, 2021). Segundo dados da CONAB (2021), na safra de 2020/2021 a produção brasileira foi de 2.856.1 mil toneladas de grãos, ocupando uma área de 2.923.3 mil hectares, com consumo interno de 2.900 mil toneladas e ainda exportando 160 mil toneladas.

O feijão é cultivado dentro de pequenas, médias e grandes áreas, alguns casos apenas para consumo da família e em muitos outros para comercialização, porém, o maior destaque produtivo é para a agricultura familiar (SILVA; WANDER, 2013). Em 2019, a área mundial ocupada com plantio de feijão era de 3,3 milhões de há e produção de 28,9 milhões de toneladas do grão (FAOSTAT, 2019).

3.2 Nitrogênio e a Fixação Biológica

O nitrogênio é um dos elementos minerais requeridos em maior quantidade pelas plantas e o que mais limita o crescimento (FERNANDES; SOUZA, 2008). Está presente em grandes quantidades na natureza (CHATT; LEIGH, 1968). Porém, para estar disponível para as plantas, é necessário que a ligação tríplice seja rompida e o nitrogênio esteja na forma de íons amônio.

O N está presente nos solos em várias formas, as espécies vegetais diferem quanto as suas preferências de formas de absorção, mas o absorvem preferencialmente como nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+) (WILLIAMS; MILLER, 2001).

Quando absorvido o nutriente é transportado para as folhas por meio do xilema e redistribuído das folhas para outros órgãos via floema, em forma de aminoácidos (FERNANDES; SOUZA, 2018).

Conseqüentemente, por ser convertido em aminoácidos faz parte da constituição das proteínas, sendo necessário para a estruturação e funcionamento das células, envolvido em todas as reações biológicas, inclusive na transmissão genética. É necessário para todas as reações enzimáticas nos vegetais. Está diretamente envolvido na fotossíntese, é um componente necessário da biotina, tiamina, niacina, riboflavina e de outras vitaminas. Ajuda a planta a produzir e a usar os carboidratos, além de afetar as reações energéticas (SANTOS; SILVA, 2010).

Algumas espécies de bactérias são capazes de realizar a quebra da tripla ligação do N_2 e converter para NH_3 , processo biológico conhecido como Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (REIS; TEIXEIRA, 2006), o qual é catalisado pela enzima nitrogenase (REATTO *et al*, 2004). Durante a associação com as leguminosas são observadas estruturas chamadas nódulos, onde os rizóbios se encontram na forma pleomórfica, estando envolvido na fixação do nitrogênio atmosférico em amônio, a qual pode ser utilizada pela planta hospedeira (MARIN *et al*, 1999).

Para que haja o processo de nodulação, a planta sintetiza sinais químicos que são percebidos pelos microrganismos que estão presentes no solo e libera compostos que atraem as bactérias simbiotes em direção às raízes (DROSDOWICZ, 1991). Para a formação dos nódulos, há inicialmente um aumento do número de bactérias ao redor do pelo radicular, que posteriormente se ligam a ele e promovem o seu encurvamento, após isso, ocorre a infecção seletiva do hospedeiro e a formação e crescimento do cordão de infecção e a liberação das bactérias nas células do córtex (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Ao atingir a região cortical o rizóbio passa para o interior das células e se adapta a função de fixação de nitrogênio. Após a ocorrência de todos esses processos de infecção a estrutura nodular está apta a fixação biológica de N. No feijão a fixação ocorre de 15 a 20 dias após a emergência das plantas (CASSINI; FRANCO, 2006).

Devido a presença dos genes específicos que controlam diferentes aspectos do processo de nodulação, uma estirpe de *Rhizobium* pode infectar somente algumas espécies de leguminosas, o que é chamado de especificidade hospedeira (REIS *et al*, 2006). Silva *et al*. (2010), ao testarem algumas estirpes na cultivar pérola, observaram que a inoculação com BR 534, BR 923 e BR 533 proporcionaram massa de parte

aérea muito semelhante a testemunha nitrogenada e superior ao da absoluta, revelando boa capacidade combinatória entre espécies.

Segundo Hungria *et al.* (1997) um dos fatores que afetam a fixação biológica de nitrogênio é o genótipo da espécie. Duque *et al.* (1985) observaram que genótipos de crescimento indeterminado e ciclo mais longos apresentaram resultados mais positivos quando inoculados. Oliveira; Sbardelotto (2011) ao testarem genótipos melhorados de feijão carioca também verificaram índices positivos de nodulação dos materiais testados.

Diferentes graus de melhoramento das plantas cultivadas também podem ser fatores que afetam a FBN. Milcheski (2018), ao utilizar variedades locais, com baixo grau de seleção, e as cultivares comerciais, IPR Tuiuiú e TAA Dama, observou diferenças na nodulação entre os genótipos, onde as variedades apresentaram resultados superiores ao das cultivares testadas. Oliveira; Sbardelotto (2011), também observaram em seus trabalhos que as variedades que receberam adição de inoculantes apresentam respostas positivas no número de nódulos e aumento em teores de massa seca da parte aérea das plantas, indicando correlação da fixação biológica de nitrogênio com esses fatores, que são relacionados a produtividade da cultura. E ainda, Brito (2013), ao analisar a produção de massa seca da parte aérea na floração, em plantio apenas com adição de inoculante e em tratamentos com a adubação nitrogenada, observou que os tratamentos não diferem estatisticamente, ou seja, é possível a obtenção de bons valores produtivos mesmo substituindo a adubação nitrogenada pela inoculação com os microrganismos simbiotes.

Nesse contexto, os inoculantes são uma alternativa que além de promover a nutrição das plantas, ainda favorece a diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados, os quais possuem alto custo econômico, e podem ocasionar contaminação de lençóis freáticos e contribuir para a maior emissão de gases de efeito estufa devido as perdas por volatilização (FONSECA, 2011).

3.3 Bactéria associativa *Azospirillum* spp. no feijoeiro

O *Azospirillum* pertence a um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas, as quais colonizam a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos da planta (DAVISON, 1988; KLOEPPER *et al.*, 1989). São capazes de realizar a fixação de N₂ processo que é predominantemente realizado através de associação, onde a energia resulta de exsudatos das raízes das plantas hospedeiras,

estimando-se que este tipo de fixação tenha capacidade de fornecer entre 40 a 200 Kg de N ha.ano⁻¹ (Marschner, 1995). Há ainda estudos que indicam que estes organismos estão ligados a biossíntese de fitormônios, especialmente auxinas e pequenas quantidades de giberilinas e citocininas, o que pode favorecer o crescimento e desenvolvimento das plantas (BOTTINI *et al.*, 1989; MARTÍNEZ; MORALES *et al.*, 2003).

Devido aos mecanismos de fixação de nitrogênio e produção de hormônios de plantas, os quais estimulam a ramificação da raiz e aumentam a biomassa de parte aérea e radicular, podem ser observadas melhorias da permeabilidade da raiz, a absorção de minerais em geral, e a resistência a condições adversas como seca, salinidade e compostos tóxicos (BASHAN; BASHAN, 2005). Em associação com leguminosas, tem demonstrado efeito benéfico na FBN, proporcionando maior produção vegetal (BÁRBARO *et al.*, 2008).

O *Azospirillum* estimula a produção dos pelos radiculares, estruturas pelas quais se inicia o processo de nodulação nas leguminosas, por consequência, a presença dessa rizobactéria pode ocasionar aumento de nódulos na planta (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Peres *et al.* (2016), ao avaliarem a eficiência da co-inoculação de *R. tropici* e *A. brasiliensis* sob duas lâminas de irrigação, observaram aumento da nodulação no tratamento co-inoculado, em segundo ano de cultivo. Logo, percebe-se que a eficiência da utilização do nitrogênio é aumentada quando a espécie é co-inoculada com *Azospirillum* e *R. tropici*, apresentando resultados superiores a tratamentos com incremento em adubação nitrogenada. A co-inoculação disponibiliza o N necessário para o desenvolvimento das plantas, não sendo preciso adição de outros fertilizantes (GEROLA *et al.*, 2016).

O tratamento com rizobactérias promotoras do crescimento vegetal propicia melhorias nos fatores relacionados a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro, como o número de nódulos, massa seca de parte aérea e quantidade de nitrogênio fixado, indicando capacidade para aumentar o potencial simbiótico de rizóbios (YADEGARI, *et al.*, 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na fazenda experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos, localizada no município de Dois Vizinhos, Sudoeste do Paraná. A classificação climática, segundo Köppen, é do tipo Cfa, subtropical, úmido (ALVARES *et al.*, 2013).

Para o cultivo foram utilizados canos de PVC, cortados em aproximadamente 50 cm, com utilização de tampo em PVC para o fundo. Esses recipientes foram preenchidos com substrato comercial MAXXI® – Seixos terra nova, sendo em seguida realizada a semeadura.

O ensaio seguiu o modelo matemático de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com esquema fatorial de 4x4 com 6 repetições, totalizando 96 unidades amostrais. Como primeiro fator se tem as cultivares: IPR tangará, IPR nhambu, rosinha e BGLL. Como segundo fator os inoculantes, que foram compostos pela estirpe de *Rhizobium* SEMIA 4077, concentração de 1×10^9 células viáveis/ml aplicada por meio da utilização do produto Bioma Rhizo®. Somados a esse se teve a utilização de *Azospirillum brasiliensis*, aplicado isolado e em co-inoculação, obtido por meio da utilização do produto Bioma Mais®, composto das cepas Ab-V5 e Ab-V6 a concentração de 4×10^8 células viáveis/ml. Somados a um tratamento controle, sem inoculação.

Em cada unidade experimental foram distribuídas três sementes por vaso, a uma profundidade de 2,5 cm. A inoculação foi realizada 4 horas antes do plantio, sendo estas armazenadas em local fresco até o momento da semeadura. As dosagens utilizadas seguiram as recomendações do fabricante de 150 ml/50 kg de semente de Bioma Rhizo® e 100 ml/ha de Bioma Mais®.

O plantio foi realizado aos vinte e um dias do mês de setembro do ano de dois mil e vinte e dois. Devido a condução ser realizada em casa de vegetação sem sistema de irrigação, houve necessidade de irrigar manualmente com uso de regador durante o período do ciclo da cultura.

Transcorridos dezesseis dias após o plantio, quando as plântulas já apresentavam queda dos cotilédones, foi efetuado o desbaste, deixando uma planta por vaso, com o critério de seleção de planta mais vigorosa.

As avaliações foram realizadas a partir de duas épocas de coleta do material.

A primeira foi efetuada aos trinta e três dias após a semeadura, com três das repetições de cada tratamento. E a segunda, quando as plantas atingiram o pleno florescimento (R6), aos cinquenta e quatro dias pós plantio, com o restante das plantas.

O procedimento consistiu em remover as plantas dos tubos e em sequência realizar a aferição de comprimento de parte aérea e radicular, e volume de raiz. Posterior a isso, as plantas foram embaladas em sacos de papel Kraft e encaminhadas ao laboratório para o procedimento de pesagem de matéria seca e contagem de nódulos, no caso da segunda coleta.

4.2 Avaliações

4.2.1 Índice de clorofila

Para realizar as aferições de teor de clorofila foliar foi utilizado o aparelho clorofilômetro da FALKER, modelo CFL103, com aferição de clorofila A e B. Para a leitura foi utilizada a terceira folha trifoliolada completamente expandida a partir do ápice da planta, a qual é classificada como diagnóstica. Em cada um dos folíolos foi realizada uma medição, sendo posteriormente feita a média entre os resultados.

4.2.2 Comprimento de parte aérea

O comprimento de parte aérea foi obtido mediante retirada das plantas do vaso e medição do comprimento a partir da região do colo até o ápice da parte aérea do feijoeiro.

4.2.3 Comprimento radicular

O comprimento radicular foi aferido após a retirada das plantas dos vasos e medição do comprimento da raiz a partir do colo até a extremidade da mesma, procedimento realizado com uso de fita métrica.

4.2.4 Massa de matéria seca de parte aérea

A determinação da massa de matéria seca foi realizada submetendo a parte aérea das plantas de feijoeiro para secagem em estufa com circulação forçada e ar quente a temperatura de 65° durante 72 horas, seguindo a metodologia proposta por

Tedesco *et al.* (1995). Após esse período o material teve a massa verificada por meio de balança de precisão.

4.2.5 Massa de matéria seca de raiz

A massa de matéria seca de raiz também foi determinada seguindo a metodologia proposta por Tedesco *et al.* (1995) para amostras de tecido vegetal radicular, sendo o material levado para secagem em estufa de ventilação forçada e com temperatura de 65° pelo período de 72 horas. Posteriormente as amostras foram pesadas em balança de precisão.

4.2.6 Volume de raiz

A aferição do volume de raiz foi obtida de acordo com a metodologia de Rossiello *et al.* (1995), onde é medido por meio da inserção da raiz em uma proveta graduada de 1000 ml, já previamente preenchida com volume de água conhecido, que para esse experimento foi de 800 ml, o qual apresentou variações com a colocação do material, onde a diferença de valores obtidos indicou o volume do sistema radicular da planta.

4.2.7 Número de nódulos por planta

O sistema radicular das plantas foi lavado em água e secos com papel toalha. Na sequência os nódulos foram removidos das raízes enquanto se deu a realização da contagem de todas as estruturas visíveis com auxílio de pinça e lupa, quando necessário, visto que as estruturas apresentavam diâmetros muito pequenos.

4.3 Análise dos dados

Após a realização das avaliações os dados foram tabulados e analisados no software Rbio (BHERING, 2017), com a verificação dos efeitos significativos através da Análise de Variância (ANOVA) e posterior comparação de médias através do teste de Scott Knott, considerando a ocorrência ou não de interação significativa. Para ambas as análises, ANOVA e teste de comparação de médias, foi considerado 5% de probabilidade de erro ($p > 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância em função dos dados obtidos na primeira coleta para avaliação da eficiência simbiótica do feijão está descrita na tabela 1.

Tabela 1: Análise de variância das características comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de parte radicular (CPR), volume radicular (VR), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de parte radicular (MSPR), e clorofila total (CLTT) referentes a primeira coleta.

Fontes de Variação	P-valor					
	CPA	CPR	VR	MSPA	MSPR	CLTT
Inoculantes (I)	0.81	0.99	0.6	0.84	0.53	0.69
Genótipos (G)	0.00*	0.24	0.37	0.03*	0.01*	0.15
IxG	0.88	0.99	0.88	0.99	0.98	0.87
Resíduo	3.71	1.66	2.44	1.42	3.03	5.91
Média	22.78	48.78	34.27	2.64	3.66	55.22
CV(%)	24.01	19.55	35.05	39.39	44.33	3.9

* Resultados significativos a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Fonte: O autor, 2023.

São observadas diferenças significativas para os genótipos ($P < 0,05$) nas variáveis comprimento de parte aérea (CPA), matéria seca de parte aérea (MSPA) e matéria seca de parte radicular (MSPR), resultados que podem estar atrelados as características de cada material e ao vigor. Lopes et al. (1982) sugere que a taxa de crescimento da cultura tem aumento significativo entre 15 e 50 dias após emergência. Atrelando isso as características intrínsecas de cada variedade, é esperado que haja variações conforme seus hábitos de crescimento.

Os inoculantes não apresentaram diferenças significativas em nenhuma variável. Genótipos e inoculantes não apresentaram interação significativa para nenhum dos atributos avaliados até os trinta e três dias após o plantio. Resultados que podem ser indicativos que a FBN ainda não havia se estabelecido de maneira efetiva durante esse período, pois, como sugere Peña Cabiales et al. (1993), tem início por volta de 20 dias após emergência, quando se dá a formação efetiva dos nódulos. Entretanto, nessa amostragem não foi verificado presença perceptível de nódulos, e, portanto, essa avaliação não foi contabilizada para análise. No entanto, sua ausência pode ser indicativa da associação simbiótica tardia no feijoeiro.

Em adverso aos dados observados nesse experimento, Rocha (2013), observou ao trabalhar com adubação nitrogenada, extrato de nódulos e inoculação com *Rhizobium tropici* na cultivar Ouro vermelho, que os melhores resultados para 28 DAP foram apresentados pelas plantas com extrato de nódulos e inoculantes, com

médias de número de nódulos de 62,33 e 51,33, respectivamente, indicando que o processo simbiótico já estava sendo estabelecido.

Na tabela 2 estão descritas as médias dos tratamentos e suas respectivas interações com os genótipos, onde é possível verificar a significância de cada um.

Tabela 2: Médias dos efeitos dos genótipos de acordo com teste Skot-Knot a 5% de probabilidade de erro para a primeira coleta referentes aos atributos comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de parte radicular (CPR), volume radicular (VR), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de parte radicular (MSPR) e clorofila total (CLTT)

VARIÁVEIS ANALISADAS						
GENÓTIPOS	CPA (cm)	CPR (cm)	VR (ml)	MSPA (g)	MSPR (g)	CLTT
IPR TANGARÁ	21.42 b	43.85 ^{ns}	31.67 ^{ns}	2.57 b	3.10 b	55.220 ^{ns}
BGLL	31.96 a	51.26	39.58	3.45 a	5.15 a	55.49
IPR NHAMBU	20.31 b	49.91	33.33	2.45 b	3.22 b	54.07
ROSINHA	17.46 b	50.12	32.50	2.19 b	3.21 b	46.12

Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste skot-knott.

^{ns} Não significativo a 5%.

Fonte: O autor, 2023.

O feijão rajado BGLL apresentou as maiores médias para CPA (31,96 cm), MSPA (3,45 g) e MSPR (5,15 g), com valores indicativos de um crescimento vigoroso. Mioranza (2018), ao caracterizar 13 variedades locais quanto os aspectos morfoagronômicos, observou para a variedade amendoim, de origem andina, valores significativos (43,1 cm) para altura de planta, na fase R6 da cultura, configurando uma planta de maior porte perante as demais. Portanto, o valor observado para a BGLL pode apresentar maior interferência das características do genótipo, não sendo resultante de efeitos simbióticos, pois não foi visualizado interação significativa das mesmas nessa amostragem.

As variedades IPR Tangará, IPR Nhambu e Rosinha se mostraram estatisticamente iguais para CPA, MSPA, MSPR indicando que a influência dos genótipos aos 33 DAP ocorre de maneira semelhante entre elas. As médias dos fatores CPR, VR, e CLTT não apresentaram significância, indicando que todos os genótipos apresentaram comportamentos semelhantes para tais atributos aos 33 DAP, não havendo destaque para nenhum dos materiais testados.

Para a primeira amostragem os resultados observados estão mais relacionados as características do genótipo relacionadas a seu crescimento. Não foi observado resultados significativos para a fixação biológica de nitrogênio nesse período, indicando que, dentre os genótipos testados, o estabelecimento efetivo da simbiose é mais tardio. Para poder realizar tais afirmações com certeza sugere-se a condução de

um novo experimento, disposto em casa de vegetação e em condições de campo, incluindo determinações de nitrogênio total para verificar a eficiência da FBN.

A segunda coleta foi realizada durante o estágio fenológico R6 da cultura. A análise de variância dos dados obtidos está retratada na tabela 3.

Tabela 3: Análise de variância das características comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de parte radicular (CPR), volume radicular (VR), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de parte radicular (MSPR), número de nódulos (NN), clorofila total (CLTT) referentes a segunda coleta.

Fontes de Variação	P-valor						
	CPA	CPR	VR	MSPA	MSPR	NN	CTT
Inoculantes (I)	0.10	0.8	0.17	0.50	0.21	2.48E-03*	0.574
Genótipos (G)	0.00*	0.0001*	0.008	0.10	0.62	5.20E-05*	0.203
IxG	0.15	0.37	0.19	0.43	0.85	0.000*	0.724
Resíduo	13.11	3.18	2.59	3.51	6.86	2.39	1.78
Média	68.02	56.7	109.06	10.95	12.95	33.33	53.61
CV(%)	27.68	16.49	20.32	18.82	44.36	28.64	5.88

* Resultados significativos a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Fonte: O autor, 2023.

Os genótipos avaliados não expressaram diferenças significativas perante as fontes de inoculação, apresentando médias estatisticamente iguais para comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de parte radicular (CPR), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de parte radicular (MSPR), volume radicular (VR) e clorofila total (CLTT). Para a variável número de nódulos (NN) houve interação significativa ($P < 0,05$) entre genótipo e inoculantes. Os genótipos isolados apresentaram significância para os atributos CPA, CPR, VR e NN. Os inoculantes isolados apresentam interação positiva apenas para NN.

Lourenço (2016) em seus estudos sobre co-inoculação de *Rhizobium* e *Azospirillum* na ausência de adubação nitrogenada não verificou diferenças significativas relacionadas a produtividade e nem aporte de matéria seca para as cultivares estudadas, no entanto, obteve resultados significativos para a variável número de nódulos entre os genótipos analisados. Do mesmo modo, Fonseca (2011) observou apenas interação significativa das cultivares para o número de nódulos, não verificando interação da inoculação para com as variáveis analisadas e tampouco interação entre os fatores (inoculantes x cultivares). Hammes (2021) obteve resultados onde não houveram diferenças significativas para os valores de clorofila total dentre as variedades utilizadas em seu trabalho, onde efetuou medições nos períodos de V3 e R6.

A tabela 4 descreve as médias dos genótipos obtidas para cada uma das variáveis analisadas, classificando-as em grupo quanto a sua significância.

Tabela 4: Médias dos efeitos dos genótipos de acordo com teste Skot-Knot a 5% de probabilidade de erro para a segunda coleta para as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de parte radicular (CPR), volume radicular (VR), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de parte radicular (MSPR) e clorofila total (CLTT).

GENÓTIPOS	VARIÁVEIS ANALISADAS					
	CPA (cm)	CPR (cm)	VR (ml)	MSPA (g)	MSPR (g)	CLTT
IPR TANGARÁ	58.68 b	63.64 a	121.67 a	10.89 ^{ns}	12.29 ^{ns}	53.46 ^{ns}
BGLL	105.83 a	64.27 a	119.17 a	12.21	13.72	52.92
IPR NHAMBU	52.50 b	48.60 b	102.92 b	10.1	14.28	52.78
ROSINHA	55.08 b	50.30 b	92.50 b	10.52	11.51 ^s	55.30

Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste skot-knot.

^{ns} Não significativo a 5%.

Fonte: O autor, 2023.

Para CPA, o genótipo BGLL apresentou a maior média, enquanto as demais foram estatisticamente iguais. IPR tangará e BGLL obtiveram os melhores valores para CPR e VR, indicando desenvolvimento radicular superior quando em comparação a IPR nhambu e a crioula rosinha. Para NN houve interação significativa entre genótipos x inoculantes, estando retratado a seguir (tabela 5) os resultados dessa interação.

Tabela 5: Médias da variável resposta número de nódulos (NN).

INOCULANTES	GENÓTIPOS			
	IPR TANGARÁ	BGLL	IPR NHAMBU	ROSINHA
TESTEMUNHA	1.667 Cb	20.000 Bb	15.333 Bb	34.333 ^{NS} a
RHIZOBIUM	101.667 Aa	44.333 Ab	52.000 Ab	34.333 ^{NS} b
AZOSPIRILLUM	58.333 Ba	5.333 Bc	19.667 Bb	33.667 ^{NS} b
CO-INOCULAÇÃO	11.000 Cc	15.667 Bc	51.333 Aa	34.667 ^{NS} b

Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste skot-knot.

Letras maiúsculas comparam os quatro genótipos com relação aos diferentes inoculantes (colunas). Letras minúsculas comparam os três inoculantes e a testemunha entre cada um dos genótipos (linhas).

^{NS} Não significativo a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor, 2023.

Quando comparados os genótipos dentro de cada categoria de inoculante se observa que o IPR tangará, BGLL e IPR Nhambu obtiveram melhor resultados de formação de nódulos quando associados a bactéria *Rhizobium tropici*, e, para o Rosinha, que configura uma variedade local, nenhuma das bactérias testadas promoveu efeitos significativos para a nodulação. Resultados semelhantes aos obtidos foram observados por Oliveira, (1996) onde as variedades crioulas não diferiram de maneira significativa quanto ao número de nódulos em coletas realizadas

aos 25 dias após plantio, contraditório a isso, Andriolo et al. (1994), obteve resultados onde as formas silvestres apresentaram grande quantidade de pequenos nódulos em suas raízes.

Para a análise dos inoculantes para cada genótipo, é verificado que dentro da testemunha a variedade que obteve destaque foi a rosinha, diferindo das demais, nas quais, por não haver inoculação com bactérias simbiotes, houve os menores valores para número de nódulos. Para o *Rhizobium* a maior média foi apresentada pela IPR tangará, a qual também apresentou a melhor interação para a inoculação a base de *Azospirillum brasiliensis*. Para a co-inoculação os resultados de maior significância foram apresentados pela IPR nhambu.

De acordo com Dias (2017) nodulação e a eficiente fixação biológica do N₂ atmosférico variam significativamente entre os genótipos. Portanto, diferentes cultivares tendem a apresentar características de nodulação distintas (ANDRAUS et al., 2016), devido as especificidades da planta-hospedeiro, o que justifica um valor de coeficiente de variação (CV%) mais elevado (28,64%) para esse atributo. Andraus (2014), ao conduzir um experimento testando cultivares com diferentes ciclos de crescimento, obteve resultados onde a variação nos percentuais de atividade dos nódulos, nitrogênio total, área foliar e massa seca de parte aérea são afetados pelas cultivares, indicando a influência dos genótipos na FBN das plantas.

A variável número de nódulos não pode ser analisada de maneira isolada, visto que os efeitos da FBN, que é atrelada a boa nodulação, possuem interferência para valores de clorofila e formação de tecidos da planta. Os resultados obtidos para NN foram relevantes, no entanto não refletiu em diferenças para as demais variáveis analisadas. Segundo Döbereiner (1966), ainda que a formação de nódulos seja indicativa da fixação biológica de nitrogênio, a presença de grande número de nódulos de tamanho reduzido afeta a sua eficiência. Hungria (2009), explica que o processo de nodulação só é bem sucedido quando a troca de sinais entre planta e hospedeiro apresenta uma relação recíproca, do contrário, há a formação de pseudonódulos, sem capacidade de FBN.

Os nódulos obtidos em resultados dos tratamentos, apesar de não aferidos para fins avaliativos, apresentaram diâmetros muito pequenos, de modo que não teve sua viabilidade foi mensurada. O feijoeiro apresenta sensibilidade e sofre influências do ambiente externo quanto a sua eficiência de nodulação, como solo,

clima, estirpe do microrganismo, temperatura do solo, vegetação associada e fatores nutricionais (PEREIRA, 1982).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de nódulos foi verificada apenas para a segunda amostragem, indicando nodulação tardia.

A co-inoculação foi eficiente apenas para a IPR Nhambu. Para a cultivar Rosinha, genótipo não melhorado, todas as fontes de inoculação se equipararam a testemunha.

A bactéria *Rhizobium tropici* apresentou os melhores resultados relacionados a nodulação para os genótipos IPR Tangará, BGLL e IPR Nhambu, sugerindo que a mesma possui capacidade de nodular amplo grupo de genótipos, no entanto, nesse estudo não interferiu nos demais caracteres relacionados a fixação biológica de nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. M. E. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 44p., 2010. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/4083>. Acesso em 27 mar. 2022.
- ALCÂNTARA, R. M. C. M. et al. Fixação biológica de nitrogênio. Planaltina. Embrapa. **Série 500 perguntas 500 respostas**. 2014. p. 96 – 105.
- ANDRAUS, M. P. **Nodulação de cultivares de feijoeiro-comum influenciada por diferentes ciclos de crescimento**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Água) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3620>. Acesso em: 18 maio 2022.
- ANDRAUS, M. P. et al. Differences in nodulation and grain yield on common bean cultivars with different growth cycles. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n. 9, p. 1148-1161, 2016.
- ANDRIOLO J. et al. 1994. Variabilidade entre linhas de formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* quanto a características relacionadas com a fixação biológica de N₂. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 29: 831-837
- BÁRBARO, I.M.; et al. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm. Acesso em: 11 maio 2022.
- BARBOSA, G. F. et al. Nitrogênio em cobertura e molibdênio foliar no feijoeiro de inverno. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 01, p. 117-123, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i1.1065>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- BARBOSA, K. R.; et al. Adubação nitrogenada, inoculação e coinoculação na cultura do feijoeiro-comum. **Caderno de ciências agrárias**. v. 12, p. 01-06, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.19307>. Acesso em: 07 mar. 2022.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford: Elsevier, 2005. v.1, p. 103-115.
- BERTOLDO, J. G.; PELISSER, A.; DA SILVA, R. P.; FAVRETO, R.; DE OLIVEIRA, L. A. D. Alternativas na fertilização de feijão visando a reduzir a aplicação de N-ureia. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. 2015.
- BERTOLO, F. O. A, et al. A fixação biológica de nitrogênio e os inoculantes. EMBRAPA. **Comunicado Técnico**. Porto Alegre, 2021. 21p.

BETTIOL, J. V. T. **Produção sustentável de feijão comum: inoculação, coinoculação e adubação mineral em cultivares de ciclo precoce**. Dissertação (mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal – SP. 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/191506>. Acesso em: 18 maio 2022.

Bhering, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017.

BOTTINI, R. et al. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in culture of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v.89, p.1-3, 1989.

BRITO, L. F. **Iniciação da nodulação em cultivares de feijoeiro**. Dissertação (mestrado em ciência do solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2013. 56p. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/jspui/handle/jspui/3226>. Acesso em: 01 mar. 2022.

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

CIAT. Sistemas de produção de feijol. Unidade de recursos genéticos. **Lista descritiva del germoplasma de *Phaseolus spp* II – materiais promissores**. Colombia. 1978.

CHAVEZ, M. O.; BASSINELLO, P. Z. O feijão na alimentação humana. GONZAGA, A. C. O. (Ed). Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 2 ed. **Série 500 perguntas 500 respostas**. Embrapa arroz e feijão. Brasília, DF. p. 15-23. 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: **Série histórica de grãos, maio de 2022**. Safra 2020/21. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>. Acesso em: 20 maio 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira – grãos: **Boletim de grãos – setembro de 2021**. Safra 2020/21. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?limitstart=0>. Acesso em: 17 mar. 2022.

CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 13., 2021, Goiânia. **Conectividade tecnológica, intensificação sustentável: resumos**. Brasília, DF: Embrapa; Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2021.

DA SILVA, J. D. C. et al. Avaliação do potencial simbiótico de cultivares de feijoeiro em combinação com estirpes elite de rizóbio. In: **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, p. 10. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011.

DAVISON, J. Plant beneficial bactéria. **Nat Biotechnology**, v.6, p.282-286, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nbt0388-282>. Acesso em: 12 maio 2022.

DIAS, P. A. **Potencial genético de linhagens elite de feijoeiro-comum para fixação biológica de nitrogênio**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2017. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7281>. Acesso em 20 de maio de 2023.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodulation weight. **Nature**, London, v. 210, n. 5038, p. 850-852, May 1966.

DROZDOWICZ, A. G. Microbiologia ambiental. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Tratado de microbiologia**. Rio de Janeiro: Manole, v. 2, 1991, p. 1-102.

DWIVEDI, S. L.; et al. Advances in host plant and rhizobium genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. **Advances in Agronomy**. Newark, v. 129, p. 1–116, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.09.001>. Acesso em: 20 mar. 2022.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, v. 88, n.05, p. 97-185, 2005. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)88004-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)88004-6). Acesso em: 23 mar. 2022.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database 2019**. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 02 maio 2022.

FERLINI, H. A. Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. **Artículos Técnicos – Agricultura**. 2006. Disponível em: <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/co-inoculacion-en-soja-t26446.htm>. Acesso em: 23 mai 2022.

FONSECA, G. G. **Resposta de cultivares de feijoeiro-comum a inoculação das sementes com estirpes de rizóbio em Minas Gerais**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/1785>. Acesso em 7 de maio de 2023.

GEPTS, P. & DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: van SCHOONHOVEN, A. & VOYSEST, O., eds. **Common beans: Research for crop improvement**. Wallingford, CAB, 1991. p.7-53.

GEROLA, J. G., et al. Eficiência de utilização do N por plantas de feijão em resposta a coinoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em associação com substâncias húmicas. **XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. Natal – RN. 2016.

HAMMES, C. F. **Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em diferentes cultivares de feijão na Região das Missões – RS**. Monografia (agronomia). Universidade Federal da Fronteira Sul. Cerro Largo, 2020. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/4225>. Acesso em 13 de maio de 2023.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Interações entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação e transporte de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 21, p.127-140, fev.

HUNGRIA, M; VARGAS, M. A. T.; ARAÚJO, R. S. Fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA M, eds. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina. Embrapa – CPAC. 1997, p. 189-294.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791–801, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5>. Acesso em: 12 maio 2022.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**. v.7, p.39-43, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7). Acesso em: 27 mar. 2022.

LOPES, N. F. et al. Análise de crescimento e conversão de energia solar em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) submetido a três níveis de densidade de fluxo radiante. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 29, n. 166, p. 586-606, 1982

LOURENÇO, F. J. C. **Desempenho de Cultivares de Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Rio Pomba, Minas Gerais, no Sistema Orgânico de Produção, a partir da Coinoculação das Sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense***. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2016. Disponível em: <https://cursos.ufrrj.br/posgraduacao/17857>. Acesso em 10 de maio de 2023.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim, Academic Press: Germany, 1995. 889 p.

MARTÍNEZ-MORALES, L.J et al. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, v.228, p.167-173, 2003

MILCHESKI, V. F. **Nodulação em variedades locais e cultivares comerciais de feijão comum**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Curitibanos – SC. 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/192024>. Acesso em: 28 mar. 2022.

MIORANZA, C. **Caracterização morfoagronômica de variedades locais de feijoeiro comum**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Curitibanos – SC. 2018. Disponível em: <https://repositório.ufsc.br/handle/123456789/187772>. Acesso em 10 jun. 2023.

OLIVEIRA, R.C.; SBARDELOTTO, J.M. Nodulação em diferentes variedades de feijão inoculadas com *Rhizobium Tropici*. **Cultivando o saber**. Cascavel. v.4, n.2, p.46-52. 2011.

OSPINA H. F.; DEBOUCK, D. G. 1980. **Morfología de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

PEREIRA, P. A. A. (1982). Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 90, p. 41-46, 1982.

PERES, Amanda Ribeiro. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação: produção e qualidade fisiológica de sementes**. 2014. 71 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/111098>. Acesso em: 10 maio 2022.

REATTO, A.; et al. **Cerrado: correção do solo e adubação**. Editores técnicos Djalma Martinhão Gomes de Sousa, Edson Lobato. 2 ed. Brasília, DF: Embrapa informação tecnológica, 2004. 416p.

RIBEIRO, N.D., et al. Qualidade tecnológica e valor nutricional de marcas comerciais de feijão carioca. **Simpósio de segurança alimentar – FAURGS**. 2018.

ROCHA, Brauly Martins. **Prática alternativa de inoculação de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. ouro vermelho) com estirpes rizobianas localmente adaptadas**. 2013. 50 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agricultura Orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Agronomia, Seropédica, 2013. Disponível em: <https://teded.ufrj.br/jspui/3551>. Acesso em: 7 de junho de 2023.

ROSOLEM, C.A. **Nutrição e adubação do feijoeiro**. Piracicaba: Potafós, 93 p. (Boletim Técnico, 8). 1987.

ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétrico e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. **Pesquisa agropecuária brasileira.**, v.30, n.5, p.633-638, 1995.

SANGOI, L. et al. Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação da uréia e manejo dos restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 01, p. 65-70, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000100010>. Acesso em: 15 maio 2022.

SINGH, S.P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, New York, v. 45, n. 3, p. 379–396, 1991.

SILVA, H. T. da. **Análise da divergência genética do germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) melhorado e tradicional (Crioulo) cultivado no Brasil, e das formas silvestres de origem Centro e Sul Americana**. 1999. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA, O. F.; WANDER, A.E.; **O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2013, 63p.

SORATTO, R. P. et al. Extração e exportação de nutrientes por cultivares de feijão sob diferentes níveis de adubação: I - macronutrientes. **Rev. Brás. Ciênc. Solo**, Viçosa , v. 37, n. 4, pág. 1027-1042, agosto de 2013 . Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000400020>. Acesso em: 10 de maio 2022.

Tabela brasileira de composição de alimentos/NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TEDESCO, M.J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147p. (Boletim Técnico, 5).

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. 524 p.

VIEIRA, R. F.; LIMA, M. S.; NEVES, J. C. L.; ANDRADE, M. J. B. Adubação. In: CARNEIRO, J. E.; JÚNIOR, T. J. P.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão do plantio à colheita**. Viçosa: Ed. UFV, 2015. p.145-172.

VOYSEST, Oswaldo. **Variedades del frijol en America Latina y su origen**. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 83p. 1983.

WILLIAMS, L.E. & MILLER, A.J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.**, 103:659-688, 2001.

YADEGARI, M. et al. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 33, n. 12, p. 1733-1743, 2010. **Cadernos de Agroecologia**. Vol 7. No. 2, Dez 2012.