

**Campus
Sudeste**
UnU - Ipameri



**Universidade
Estadual de Goiás**



Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

**REINOCULAÇÃO DE DOSES DE RIZÓBIO EM COBERTURA,
SOB PRESENÇA OU NÃO DE AZOSPIRILLUM EM CULTIVARES
DE FEIJÃO COMUM**

QUIRLENE RAQUEL DE ALMEIDA

MESTRADO

**Ipameri
2022**

QUIRLENE RAQUEL DE ALMEIDA

**REINOCULAÇÃO DE DOSES DE RIZÓBIO EM COBERTURA,
SOB PRESENÇA OU NÃO DE AZOSPIRILLUM EM
CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM**

Orientador: Prof. Dr. Itamar Rosa Teixeira

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Unidade Universitária de Ipameri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal para obtenção do título de MESTRE.

Ipameri-GO
2022

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A447r Almeida, Quirlene Raquel de
Reinoculação de doses de Rizobio em cobertura, sob
presença ou não de Azospirillum em cultivares de feijão
comum / Quirlene Raquel de Almeida; orientador Itamar
Rosa Teixeira. -- Ipameri, 2022.
41 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Mestrado Acadêmico em Produção Vegetal) -- Unidade de
Ipameri, Universidade Estadual de Goiás, 2022.

1. Feijão comum . 2. Fornecimento biológico de
nitrogênio . 3. Coinoculação . 4. Reinoculação . 5.
Produtividade. I. Rosa Teixeira, Itamar , orient. II.
Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “REINOCULAÇÃO DE DOSES DE RIZÓBIO EM COBERTURA, SOB A PRESENÇA OU NÃO DE AZOSPIRILLUM EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM”

AUTOR(A): Quirlene Raquel de Almeida

ORIENTADOR(A): Itamar Rosa Teixeira

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE(A) EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:

Prof. Dr. Itamar Rosa Teixeira (Orientador)

Universidade Estadual de Goiás / Campus Anápolis - GO

Prof. Dr. Cleiton Gredson Sabin Benett

Universidade Estadual de Goiás/Unidade Universitária Ipameri-GO

Prof. Dr. Hamilton Kikuti

Universidade Federal de Uberlândia - MG

Registro de

Declaração Número: 159

Livro: R-01 Folhas:

03 Data: 29/04/2022

Assinatura:

Data da realização: 29 de abril de 2022

AGRADECIMENTOS

Para chegar até aqui, foi trilhado um longo caminho. Foram anos, meses e dias que me trouxeram experiências e pessoas, algumas dela ficarão pela vida toda. Agradeço imensuravelmente a todos que de forma direta e indireta contribuíram para que hoje eu estivesse aqui, no fim de mais uma jornada e conquista de algo tão valioso para mim. Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Itamar Rosa Teixeira pelo conhecimento a mim transferido. Aos alunos da graduação, João Paulo Ferreira Lopes e Paulo Ricardo Lopes, pelo auxílio na condução do experimento em campo. Brenner Cabalheiro e Wagner Nunes que se tornaram voz e inspiração em muitos momentos de angústia, sempre generosos e companheiros. O empenho para com o mestrado me afastou de casa, agradeço aos meus filhos Gabriel Biava e Renato Biava, por compreender e apoiar minha decisão. E ao meu namorado Paulo Fernando Arruda Marinho, que sempre esteve ao meu lado dispondo de apoio e atenção. Agradeço a Deus pelo dom da vida e oportunidade de poder alcançar meus objetivos com saúde e força.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO.....	5
3. MATERIALEMÉTODOS	6
3.1. Local do experimento	6
3.2. Delineamento experimental e tratamentos	7
3.3. Descrição das parcelas experimentais, implantaçãoe e condução	8
3.4. Avaliações realizadas	9
3.5. Análises estatísticas	9
4. RESULTADOS	10
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÕES.....	28
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

As bactérias do grupo *Rhizobium* são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico e fornecê-lo a cultura do feijão, contudo os resultados do uso desta técnica ainda são questionáveis no campo pelos agricultores. Assim, a realização deste estudo teve por objetivo investigar a nodulação, o crescimento e a produção de cultivares de feijão comum em condições de campo, submetidas a reinoculação de rizóbio em cobertura aplicado em diferentes doses, em mistura ou não com *Azospirillum*. Empregou-se o delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial $2 \times 4 \times 2 + 2$, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos de dois materiais genéticos de feijão comum (BRS Estilo e BRS Esteio), reinoculadas com *R. tropici* em cobertura nas seguintes doses: 0 (testemunha); 1; 2 e 4 vezes à dose referência, em mistura ou não com *Azospirillum* em co-inoculação. Foram testados ainda como tratamentos adicionais a adubação N mineral nitrogenada (20 e 50 kg ha⁻¹ respectivamente na base e em cobertura) para ambas as cultivares testadas. No estágio R6 foram avaliadas as características de nodulação (número de nódulos ativos e massa seca de nódulos) e morfológicas das plantas (comprimento de raiz, peso seco de raiz, altura de planta, peso seco de parte aérea e teor de nitrogênio), e na colheita os componentes, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, peso médio de cem grãos e rendimento de grãos. A condução do estudo propiciou a obtenção das seguintes conclusões: A reinoculação envolvendo a associação de *R. tropici* com *A. brasilense* influenciou o processo de nodulação e características morfológicas do feijoeiro. A reinoculação de *R. tropici* na dose correspondente a 2,5 vezes a dose de referência, equivalente a 375 L ha⁻¹, associado a co-inoculação com *A. brasilense* na dose de 100 L ha⁻¹ realizada no estágio V4, propicia a obtenção de maiores rendimentos da cultura do feijão, equivalente aos valores obtidos com adubação mineral nitrogenada. A adoção da reinoculação de células rizobianas associadas com *azospirillum*, em complementação a inoculação de realizada na sementes, pode substituir totalmente o fornecimento de N mineral na cultura de feijão comum.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Nutrição de plantas. FBN. Reinoculação. Co-inoculação. Rendimento.

ABSTRACT

Bacteria of the *Rhizobium* group are able to fix atmospheric nitrogen and supply it to the bean crop; however, the results of using this technique are still questionable in the field by farmers. Thus, this study aimed to investigate the nodulation, growth, and yield of common bean cultivars under field conditions, subjected to *Rhizobium* re-inoculation in topdressing applied at different doses, mixed or not with *Azospirillum*. A randomized block design was used, in a 2 x 4 x 2 + 2 factorial scheme, with four replications. The treatments consisted of two common bean cultivars (BRS Estilo and BRS Esteio), re-inoculated with *R. tropici* in topdressing at the following doses: 0 (control), 1, 2, and 4 times the reference dose, mixed or not with *Azospirillum* in co-inoculation. As additional treatments, mineral nitrogen fertilization (20 and 50 kg ha⁻¹ respectively in the sowing furrow and top dressing) was assessed for both cultivars. In the R6 stage, the nodulation (number of active nodules and dry mass of nodules), morphological traits of the plants (root length, root dry weight, plant height, shoot dry weight), and nitrogen content) were evaluated. The yield components (number of pods per plant, number of grains per pod, and 100-grain weight) and grain yield were assessed at harvest. The conduction of the study led to the following conclusions: Reinoculation involving the association of *R. tropici* with *A. brasilense* influenced the nodulation process and morphological traits of the common bean plants. The re-inoculation with *R. tropici* at a dose corresponding to 2.5 times the reference dose, equivalent to 375 L ha⁻¹, associated with co-inoculation with *A. brasilense* at a dose of 100 L ha⁻¹ performed at stage V4, provides obtaining higher yields of the bean crop, equivalent to the values obtained with mineral nitrogen fertilization. The adoption of the re-inoculation with *Rhizobium* cells associated with *Azospirillum*, in addition to the inoculation carried out in the seeds, can replace the supply of mineral N in the common bean crop.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Plant nutrition. BNF. Reinoculation. Co-inoculation. Yield.

1. INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) o principal produto comercializado que juntamente com arroz constitui o prato básico do brasileiro, como a principal fonte protéica. Motivo que torna esta fabaceae, produto de importância econômica e social no Brasil (FERNANDES et al., 2020). Na safra 2020/21 foram plantadas 2.939,7 milhões de hectares de feijão, produzindo 2.940 milhões de toneladas (CONAB, 2021), sendo o Estado de Goiás o quarto maior produtor de feijão do país. A produtividade média nacional do grão gira em torno de 1,0 tonelada ha⁻¹, e que é considerada baixa, sendo as inadequações no fornecimento de nutrientes, sobretudo a adubação nitrogenada um dos fatores responsáveis por este fato. As perdas por lixiviação, desnitrificação, imobilização e erosão do solo são causas limitantes a disponibilidade do nitrogênio ao feijoeiro (SORATTO et al., 2013). Porém, o preparo físico-químico do solo de forma adequada, garantindo o sincronismo entre a disponibilidade de nitrogênio no solo e a necessidade das plantas podem maximizar a eficiência do uso desse nutriente, refletindo no aumento da produção de grãos (MAIA et al., 2017).

As quantidades médias de nutrientes exportados por 1.000 kg de grãos são: 35,5 kg de nitrogênio, 4,0 kg de fósforo, 15,3 kg de potássio, 3,1 kg de cálcio, 2,6 kg de magnésio e 5,4 kg de enxofre (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994). O nutriente com ação determinante para o feijoeiro atingir elevada produtividade, é o nitrogênio, que normalmente é disponibilizado a partir de fertilizantes que possuem alto custo onde é estimada a extração de 140 kg ha⁻¹ deste nutriente (SORATTO et al., 2017). Todavia, as sugestões de recomendação de adubação nitrogenada para cultura do feijoeiro com emprego de alto nível tecnológico e produtividade esperada acima de 2.500 kg ha⁻¹ é de 100 kg ha⁻¹ de nitrogênio fracionada em duas aplicações de 40 kg ha⁻¹ durante o plantio e 60 kg ha⁻¹ em cobertura (VIEIRA, 1998).

A deficiência de nitrogênio pode limitar o desenvolvimento e produtividade da maioria das culturas. Para o feijoeiro, que apresenta alta exigência nutricional e possui ciclo curto, a disponibilidade imediata do nitrogênio nos estádios de maior demanda, é necessária para que a produtividade não seja afetada (ARF et al., 2011; NASCENTE et al., 2012). O teor de nitrogênio na planta e a quantidade de matéria orgânica disponível no solo a ser cultivado, é influenciada pela época de cultivo, o histórico da área e sistema de manejo do solo. Esses fatores determinarão as doses de nitrogênio a serem aplicadas na cultura do feijão comum (MAIA et al., 2017). Para estar prontamente disponível, os fertilizantes nitrogenados precisam ter alta

solubilidade em água, serem concentrados e contar com tecnologias para proteção do fertilizante (SCIVITTARO et al., 2010).

O nitrogênio compõe aminoácidos, proteínas e macromoléculas vegetais como é a clorofila, pigmento de cor verde necessário a transformação da energia solar em energia química a partir da fotossíntese, processo necessário para a produção de energia e fotoassimilados pelas plantas, além de participar da formação do protoplasma e de moléculas de ácidos nucleicos (SORATTO et al., 2017). Participa na composição de várias vitaminas, como a biotina, tiamina, niacina e riboflavina (GOYAL et al., 2021). O nitrogênio é um nutriente móvel na planta, por isso, sintomas de sua deficiência são observados inicialmente em folhas mais velhas que se tornam amareladas (clorose). A deficiência acentuada acarreta também redução no crescimento da planta (MASCHNER, 2012).

Os compostos nitrogenados mais utilizadas para a adubação do feijoeiro são, fertilizantes nitrogenados, mineralização da matéria orgânica e fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN) através de bactérias rizobianas, que podem se associar as raízes do feijoeiro (PELEGRIN, 2009). O percentual de eficiência da utilização do nitrogênio na produção de feijão varia entre 30 a 60% e é considerada baixa (SANTOS et al., 2003).

Rizóbios são bactérias do solo com capacidade para indução da formação de nódulos em raízes e, eventualmente no caule de plantas leguminosas, auxiliando na conversão do nitrogênio atmosférico em formas utilizáveis ao seu metabolismo. Por ação da enzima nitrogenase transforma o N₂ em amônia, que é incorporada à compostos nitrogenados assimiláveis pela planta (SILVA et al., 2020). Essas bactérias invadem os espaços intracelulares na planta onde realizam a FBN por simbiose (SILVEIRA; FREITAS, 2007). Elas crescem normalmente em condições aeróbicas e os nódulos se formam sob temperaturas de 25 a 30 ° C e um pH ideal de 6 ou 7 (MOREIRA, 2017).

Existem na natureza dois tipos de microrganismos fixadores de nitrogênio, as bactérias incapazes de realizar simbiose, como aquelas de vida livre como as cianobactérias *Anabaena* spp. e *Nostoc* spp. e gêneros como *Beijerinckia*, *Azotobacter* e *Clostridium*; e as bactérias que realizam simbiose, como as do gênero *Rhizobium* (BASU; KUMAR, 2020). A maioria dos microrganismos com habilidade em associar-se por simbiose em leguminosas são membros dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

No Brasil, é produzido o inoculante para o feijoeiro com uma espécie de rizóbio com adaptação em solos tropicais, o *R. tropici* que pode fixar cerca de 20 a 30% do nitrogênio necessários a planta, podendo contribuir com até 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (SOARES et al., 2016). Atualmente as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4088 e SEMIA 4080 compõem os inoculantes comerciais destinados ao uso na cultura do feijoeiro (BRASIL, 2011). Estas estirpes

são resistentes a elevadas temperaturas do solo, condição de acidez e maior competitividade quando comparadas as populações naturais de rizóbios no solo, o que as torna mais adaptadas ao cultivo em solos tropicais (BRITO et al., 2015).

Além das espécies de *Rhizobium* já citadas, outra bactéria, o *Azospirillum brasilense*, pode trazer benefícios a produtividade do feijoeiro. Entretanto, embora o número de pesquisas envolvendo essas bactérias estejam aumentando nos últimos anos no Brasil, com sucesso comprovado nas culturas de soja (HUNGRIA et al., 2013; GALINDO et al., 2018) e milho (HUNGRIA et al., 2010; GALINDO et al., 2016), na cultura do feijoeiro, muito pouco se conhece sobre o efeito desses microrganismos no fornecimento de nitrogênio.

O *Azospirillum* também promove alterações fisiológicas nas plantas do feijoeiro inoculadas, devido à liberação de auxinas e citocininas, hormônios que aumentam o crescimento radicular, onde ocorre a absorção das soluções nutritivas (MOREIRA et al., 2010; DARTORA et al., 2013). Além disso, podem promover tolerância ao estresse hídrico e salino por produzirem fatores enzimáticos que são ativados na planta, como a produção de enzimas antioxidantes como o APx (ascobartoperoxidase), CAT (catalase) e o SOD (superóxido dismutase) (CURÁ et al., 2017; FUKAMI et al., 2018). Destaca-se ainda, que devido a habilidade do *Azospirillum* potencializar o desenvolvimento da planta, principalmente raízes, isso pode melhorar a absorção dos solutos do solo e promover nova nodulação quando associado ao *R. tropici*, resultando em o crescimento da parte aérea e a aumento na produção de grãos (HUNGRIA et al., 2013). Desta forma, quando associadas às espécies *R. tropici* com *A. brasilense*, em coinoculação no início do estágio reprodutivo é esperado incrementos nos rendimentos da cultura (ZAFAR et al., 2012).

Um dos problemas responsáveis pela baixa eficiência da FBN na cultura de feijão é o envelhecimento precoce da população de bactérias nodulantes associada ao estresse ambiental, que podem causar senescência nodular e cessa a FBN, em um momento que geralmente coincide com o estágio de floração e enchimento de grãos, fases da planta com alta demanda por água, nutrientes e fotoassimilados (PUPPO et al., 2005). Desta forma, os nódulos produzidos pela inoculação realizada via semente com *R. tropici* podem não fornecer nitrogênio durante estas fases.

Neste aspecto, a reinoculação das plantas realizada no início do estágio de abertura dos botões florais (R5) pode provocar uma nova nodulação, garantido suplemento de nitrogênio na fase em que a planta mais necessita, a reprodutiva (VAN de VELDE et al., 2006), como também corroborando para acréscimos de produtividade de cultura, conforme verificado em pesquisa conduzida recentemente por Teixeira et al. (2022) nas condições do cerrado goiano. Apesar do

disso, as informações sobre o potencial de uso da técnica da reinoculação do feijoeiro são escassas e pouco conclusivas.

2. OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo avaliar a capacidade de nodulação e as características agronômicas de cultivares de feijão comum, em função da aplicação de doses de inoculação com *Rhizobium tropici* submetidos ou não à coinoculação com *Azospirillum brasilense*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido na safra das águas de 2020, na área experimental pertencente à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Unidade Universitária de Ipameri, Ipameri-GO, localizada nas seguintes coordenadas geográficas: 17°43'27''S e 48°08'55''W, com altitude média de 800m (GOOGLEEARTH, 2019). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, com temperaturas mensais superiores a 20°C, e precipitação pluviométrica variando de 1100 a 1800 mm anuais (CARDOSO et al., 2014).

A temperatura máxima registrada durante o período do experimento no campo foi de 34,9°C e a mínima de 13,1,7°C. A precipitação total durante o período experimental foi de 397,7 mm (Figura 1).

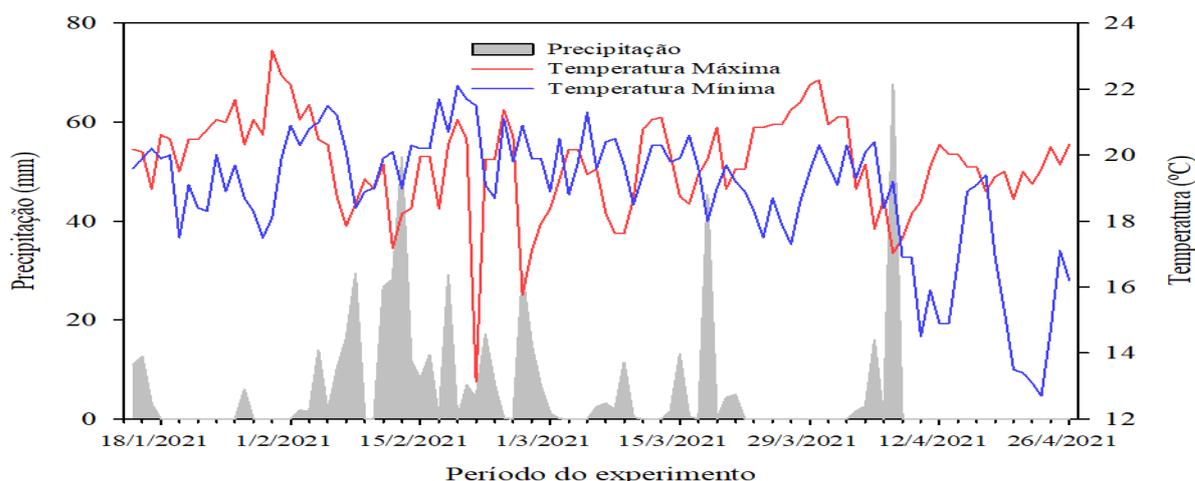


Figura 1. Dados climáticos referentes à precipitação pluviométrica (mm), temperatura máxima (°C) e temperatura mínima (°C) para o período entre 15 de janeiro à 26 de abril de 2021. Fonte: INMET (2022).

Antes da instalação do experimento foram retiradas amostras da camada de 0-20cm do solo, para caracterização físico-química. A classificação do solo foi determinada como Latossolo Vermelho Amarelo distroférico de textura média-arenosa (EMBRAPA, 2013). Os resultados destas análises estão representados na tabela abaixo.

Tabela 1. Resultado da análise físico-química (camada de 0-20 cm) da área experimental. Ipameri-GO, UEG, 2022.

Ca	Mg	Al	H+Al	K	P	Na	Zn	B	Cu	Fe	Mn
----- cmolc dm ⁻³ -----			-- mg dm ⁻³ --			----- mg dm ⁻³ -----					
4,9	1,8	0,0	2,2	398,0	9,2	5,4	0,5	0,3	0,4	30,8	23,2
V	MO	C	pH	CTC	Argila	Silte	Areia				
%	--- g dm ⁻³ ---		CaCl ₂	cmolc dm ⁻³	----- g kg ⁻¹ -----						
77,9	35	20,3	5,5	9,9	370,0	90,0	540,0				

Ca = cálcio, Mg = magnésio, Al = alumínio, H = hidrogênio, K = potássio, P (Melich) = fósforo, Na = sódio, Zn = zinco, B = boro, Cu = cobre, Fe = ferro, Mn = manganês, V = saturação por bases, MO = matéria orgânica, C = carbono, pH = potencial hidrogeniônico, CTC = capacidade de troca catiônica.

3.2. Delineamento experimental e tratamentos

Empregou-se o delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 4 x 2 + 2, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos de dois materiais genéticos de feijão comum (BRS Estilo e BRS Esteio e), reinoculadas com *R. tropici* em cobertura nas seguintes doses: 0 (testemunha); 1; 2 e 4 vezes à dose referência, em mistura ou não com *Azospirillum* em co-inoculação. Foram testados ainda como tratamentos adicionais a adubação N mineral nitrogenada (20 e 50 kg ha⁻¹ respectivamente na base e em cobertura) para ambas as cultivares testadas.

A cultivar BRS Estilo faz parte do grupo comercial carioca, com planta de porte ereto, hábito de crescimento indeterminado (tipo II) e ciclo médio de 83 dias. Já a cultivar BRS Esteio pertencente ao grupo comercial de grão preto, possui ciclo de maturação entre 85 a 90 dias, com porte ereto e hábito de crescimento do tipo II (EMBRAPA, 2021).

As sementes foram inoculadas inicialmente com inoculante líquido Biomax Premium, com estirpes do rizóbio de *R. tropici* recomendado para o feijão (SEMIA 4088 e SEMIA 4077) (2x10⁹ UFC ml⁻¹) por ocasião da semeadura, na dose de 150 mL por 50 kg de semente (dose de referência), conforme sugestão de uso do produto pelo fabricante, e posteriormente reinoculadas em cobertura, no estádio V4 nas referidas doses citadas acima. O *Az. brasilense* foi aplicado na mesma ocasião empregando o produto Biomax[®] Azum (3 x 10⁹ UFC ml⁻¹), em dose única correspondente a 100 L ha⁻¹ por 50 kg de semente, recomendada para o feijoeiro. As aplicações dos fertilizantes biológicos, foram realizadas com pulverizador costal de 20 L, no final da tarde, usando bico tipo leque e jato direcionado ao solo, conforme recomendação de Moretti et al. (2018), usando pulverizador costal de 20 L, e volume de calda de 200 L ha⁻¹ para ambos os produtos. A adubação N mineral foi realizada na semeadura, junto com a adubação básica e em cobertura.

3.3. Descrição das parcelas experimentais, implantação e condução

A área experimental com predominância de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) foi dessecada com o herbicida 2,4-D + glyphosate (2,5 L ha⁻¹ de cada produto), e sete dias após foi submetida ao preparo convencional, com uma aração e duas gradagens leves. A correção do solo foi dispensada conforme resultado da análise de solo. Em seguida foi realizada a adubação de base dos tratamentos empregando 400 kg ha⁻¹ no adubo formulado 00-20-20, a exceção dos tratamentos adubação mineral que receberam o adubo formulado 05-25-20 na mesma dose.

A unidade experimental foi constituída de seis fileiras de 5,0 m de comprimento, espaçadas de 0,50 m, sendo duas linhas utilizadas para avaliação de nodulação e crescimento de planta e as outras duas linhas centrais para avaliação das características agronômicas na colheita. As duas linhas laterais foram consideradas bordaduras.

A densidade de sementeira empregada foi de 15 plantas por metro linear para ambas as cultivares de feijão, não sendo realizada desbaste devido a emergência uniforme do estande populacional das plantas. A adubação de cobertura com adubo mineral foi realizada no início do estágio V4, empregando a uréia como fonte, distribuído em filete contínuo ao longo das linhas, próximo das plantas.

O controle de plantas daninhas foi realizado através da aplicação do herbicida pós-emergente Fusiflex[®] (30 L ha⁻¹) no início do estágio V3, e posteriormente completado com capina manual. Foi utilizado o inseticida Engeo[®] S (30 mL 100 L⁻¹) no controle de vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e mosca-branca (*Bemisia tabaci*). Para controle preventivo de doenças fúngicas mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e oídio (*Erysiphe polygoni*) aplicou-se o fungicida Approve[®] (100g p.c 100 L⁻¹ de água).

3.4. Avaliações realizadas

No estádio R6 foram coletadas três plantas em cada linha da área útil da parcela, contendo o sistema radicular das plantas, com auxílio de uma pá reta, para avaliação das características de nodulação (número de nódulos ativos e massa seca de nódulos) e morfológicas das plantas (comprimento de raiz, peso seco de raiz, altura de planta, peso seco de parte aérea e teor de nitrogênio).

As plantas foram coletadas, colocadas em sacos de aniagem e imediatamente levadas para o laboratório. Em seguida foi feita o seccionamento da raiz, seguido da lavagem, destaque e contagem dos nódulos ativos (coloração rósea) com mais de 1 mm, e posteriormente levados à estufa de circulação forçada por 48 horas à 65°C, para determinação da massa seca dos nódulos. Com auxílio de uma régua graduada foi aferido o comprimento da raiz principal da planta medindo a distância entre o colo da planta e a extremidade final da raiz (coifa), e quantificada a massa seca de raiz, após a secagem em estufa regulada a 72°C até atingir peso constante. Também foi avaliada a altura de planta, medindo a distância entre o colo da planta e o ápice da haste principal; a massa seca da parte aérea secada em estufa regulada a 72°C e o teor de N seguindo metodologia proposta por Silva (2009).

Por ocasião da colheita foram colhidas 10 plantas na área útil de cada parcela para determinação dos componentes, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, peso médio de cem grãos e rendimento de grãos. A massa média de 100 grãos foi expressa em gramas, e o rendimento de grãos expresso em kg ha⁻¹ corrigidos para 13% de umidade. Foi avaliado ainda, o estande final, correspondente ao número de plantas existentes na parcela amostrada, no final do experimento.

3.5. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos inicialmente aos testes de homogeneidade da variâncias e a normalidade dos resíduos pelos testes de Levene e Shapiro Wilk, respectivamente. Posteriormente foi realizada a análise de variância dos dados, e as médias do fatorial comparadas entre si pelo teste de Tukey, e com os tratamentos adicionais pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. Empregou-se o software R (R CORE TEAM, 2016) nas análises de dados.

4. RESULTADOS

Pelos resultados da análise de variância pode-se constatar que houve efeitos significativos das interações na maioria das variáveis estudadas (Tabela 2). O número de nódulos (NN), altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), peso seco da parte aérea (PSPA), peso seco da raiz (PSR), teor de N (TN), número de vagens por planta (NVP), peso de cem grãos (PCG) e o rendimento de grãos (RG) foram influenciados significativamente ($p < 0,05$) pelas combinações dos tratamentos (cultivar, reinoculação e co-inoculação) ou pela interação do tratamento adicional vs fatorial. O peso seco de nódulos (PSN) e o número de grãos por vagem (NGV) apresentaram efeito significativo somente para os fatores co-inoculação e reinoculação, respectivamente. O estande final (EF) foi a única variável avaliada que não foi influenciada significativamente pelos fatores estudados de forma isolada e/ou pela sua interação. Pode-se notar ainda, que os valores dos coeficientes de variação (CV) obtidos variaram de 4 a 54%, sendo este último verificado para o PSN.

Os dados referentes à análise de regressão para o número de nódulos por planta (NN) ajustaram-se a uma regressão polinomial quadrática e/ou linear em função do fatorial triplo, no qual, o NN foi superior em ambas as cultivares (BRS Estilo e BRS Esteio) que receberam co-inoculação com *Azospirillum* (Figura 2A). Este fato, atrelado às doses de reinoculação, potencializaram o NN com um ponto de máximo efeito da dose de reinoculação, obtendo-se resultados de 24 NN na dose de 1,75 vezes a dose de referência ($262,5 \text{ L ha}^{-1}$) para a cultivar BRS Esteio co-inoculada, enquanto que a cultivar BRS Estilo co-inoculada se ajustou linearmente às doses de reinoculação, com um acréscimo de 1,55 no NN para cada unidade incrementada da dose de reinoculação (Figura 2A). O tratamento fatorial triplo apresentou 43% superior em NN quando comparado aos tratamentos adicionais (Figura 2B).

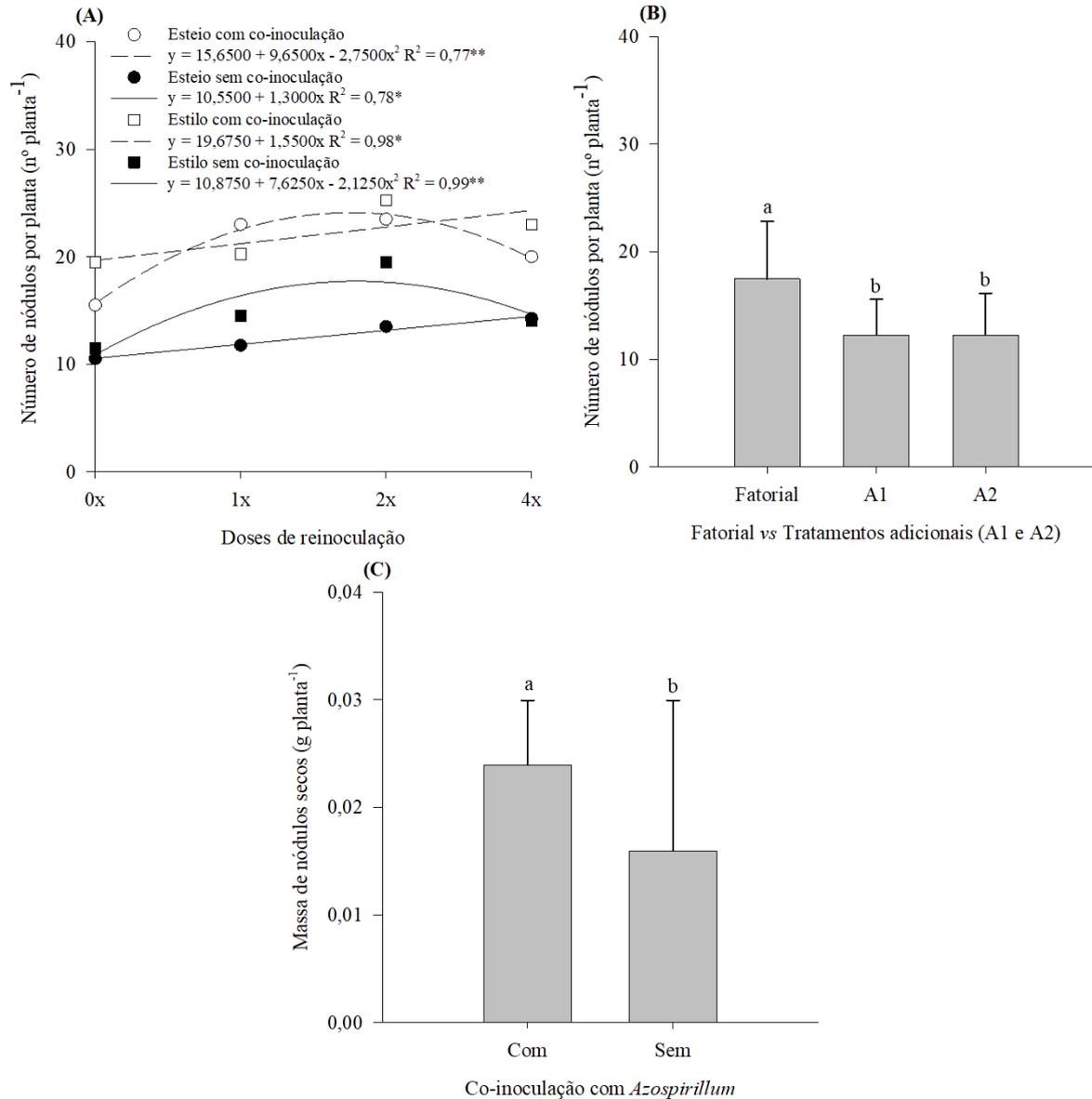
Quanto ao peso seco de nódulos (PSN), a presença da co-inoculação com *Azospirillum* elevou os valores da variável em questão, em relação à ausência da co-inoculação, com um aumento de até 50% no PSN (Figura 2C), independente da cultivar de feijão estudada.

Tabela 2. Análise de variância para as variáveis de nodulação, características biométricas e morfológicas, componentes agrônômicos e produtividade de cultivares de feijoeiro (A), submetidas a diferentes doses de reinoculação com *Rhizobium* (B) na presença ou ausência de co-inoculação com *Azospirillum* (C). Ipameri, UEG, 2022.

Quadrados médios					
FV	GL	NN	MNS	AP	CR
Bloco	3	27,9629*	0,00024 ^{NS}	169,384*	43,3472*
Cultivar (A)	1	60,0625**	0,00018 ^{NS}	0,56250 ^{NS}	506,250**
Reinoculação(B)	3	102,937**	0,00020 ^{NS}	2098,22**	107,770**
Co-inoculação (C)	1	915,062**	0,00100**	5148,06**	210,250**
A x B	3	10,8541 ^{NS}	0,00018 ^{NS}	151,729*	8,12500 ^{NS}
A x C	1	3,06250 ^{NS}	0,00008 ^{NS}	7.56250 ^{NS}	18,0625 ^{NS}
B x C	3	2,85416 ^{NS}	0,00010 ^{NS}	738.229**	22,2916 ^{NS}
A x B x C	3	21,6041*	0,00005 ^{NS}	152,562*	28,6041 ^{NS}
Adicional vs Fatorial	1	193,673**	0,00027 ^{NS}	2232,56**	377,006**
Resíduo	48	7,23353	0,00012	52,2147	11,3371
CV (%)	-	15,92	54,03	10,23	18,29
FV	GL	MPAS	MRS	TN	NVP
Bloco	3	19,1812**	20,2045 ^{NS}	10,2361 ^{NS}	18,1666*
Cultivar (A)	1	0,36000 ^{NS}	3,95015 ^{NS}	213,890**	4,51562 ^{NS}
Reinoculação (B)	3	161,054**	223,435**	471,473**	260,557**
Co-inoculação (C)	1	376,360**	1443,05**	1472,64**	669,515**
A x B	3	0,26791 ^{NS}	6,01182 ^{NS}	60,5156 ^{NS}	7,18229 ^{NS}
A x C	1	2,17562 ^{NS}	0,04515 ^{NS}	5,64062 ^{NS}	1,89062 ^{NS}
B x C	3	9,49291 ^{NS}	12,4026 ^{NS}	411,098**	11,6822 ^{NS}
A x B x C	3	5,43937 ^{NS}	9,42682 ^{NS}	71,3489 ^{NS}	5,39062 ^{NS}
Adicional vs Fatorial	1	159,390**	648,338**	226,251**	368,960**
Resíduo	48	4,26002	8,07460	29,8526	6,03703
CV (%)	-	14,54	20,76	12,71	14,91
FV	GL	NGV	PCG	EF	RG
Bloco	3	0,74125**	3,69939*	1,93981 ^{NS}	124888,79*
Cultivar (A)	1	0,13140 ^{NS}	8,41000*	0,01562 ^{NS}	1478352,01**
Reinoculação(B)	3	0,36765*	29,2272**	6,55729 ^{NS}	2898758,76**
Co-inoculação (C)	1	0,23765 ^{NS}	82,3556**	2,64062 ^{NS}	9598378,51**
A x B	3	0,07640 ^{NS}	4,51500*	0,80729 ^{NS}	39168,01 ^{NS}
A x C	1	0,19140 ^{NS}	0,72250 ^{NS}	0,76562 ^{NS}	223610,76*
B x C	3	0,22265 ^{NS}	0,38395 ^{NS}	1,34895 ^{NS}	192219,18**
A x B x C	3	0,04473 ^{NS}	1,53750 ^{NS}	5,47395 ^{NS}	331119,76**
Adicional vs Fatorial	1	0,25418 ^{NS}	83,8750**	2,64062 ^{NS}	6295290,08**
Resíduo	48	0,10377	1,26832	2,93389	40377,08
CV (%)	-	6,27	4,85	15,63	13,33

NN = número de nódulos, MNS = massa de nódulos secos, AP = altura de planta, CR = comprimento de raiz, MPAS = massa da parte aérea seca, MRS = massa de raiz seca, TN = teor de nitrogênio, NVP = número de vagens por planta, NGV = número de grãos por vagem, PCG = peso de cem grãos, EF = estande final e RG = rendimento de grãos. FV = fonte de variação, GL = Grau de Liberdade e CV = Coeficiente de Variação. ^{NS} = não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, * e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Figura 2. Número de nódulos por planta em função do fatorial triplo (cultivares x doses de reinoculação x co-inoculação) (A) e fatorial vs tratamentos adicionais (B). Massa de nódulos secos por planta em função da co-inoculação com *Azospirillum* (C).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

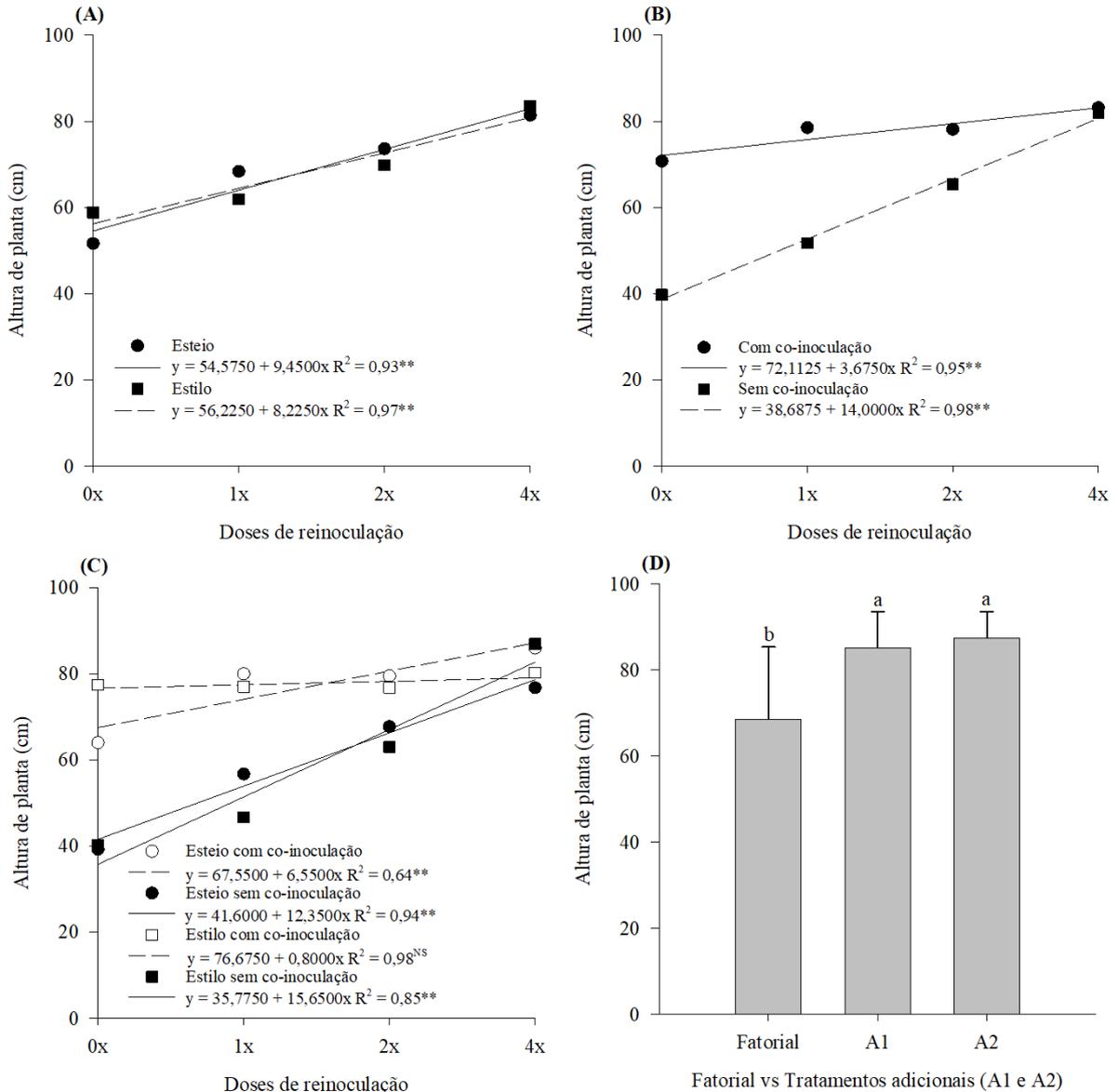
Quanto a variável altura de planta (AP), houve ajuste significativo da regressão entre os fatores cultivar em função das doses de reinoculação, co-inoculação em função das doses de reinoculação e para o fatorial triplo, com ajuste linear da resposta em todas as interações mencionadas (Figura 3A, 3B e 3C). Houve um aumento de 29,75 e 24,75 cm na AP para as cultivares BRS Esteio e BRS Estilo, respectivamente, quando comparado a dose de 4 vezes a dose de referência (600 L ha⁻¹) em relação a dose 0 de reinoculação (Figura 3A). Para a co-inoculação com *Azospirillum* em função das doses de reinoculação, nota-se que na dose 0 L ha⁻¹ a diferença para AP, entre os tratamentos com e sem a co-inoculação, foi de 31 cm, o que já na dose de 4 vezes, a dose de referência (600 L ha⁻¹), essa mesma comparação decresceu para

uma diferença na ordem de 1,25 cm entre o tratamento com e sem co-inoculação (Figura 2B). Quando observado o fatorial triplo, as duas cultivares, independentemente da presença ou ausência da co-inoculação, apresentaram uma tendência de acréscimo na AP em função das doses de reinoculação, o que ficou mais pronunciado na cultivar BRS Esteio na presença da co-inoculação, a qual resultou em uma máxima AP de 86 cm na dose de 4 vezes a dose de referência (600 L ha^{-1}) (Figura 3C). Além disso, os resultados para AP foram 26% superior ao utilizar os tratamentos adicionais (cultivares BRS Estilo e BRS Esteio com adubação com N mineral) em relação ao fatorial triplo (Figura 3D).

O comprimento de raiz (CR) foi influenciado estatisticamente pelas cultivares, na qual a cultivar BRS Estilo apresentou os maiores valores para CR (20,41 cm) quando comparada com a cultivar BRS Esteio (14,78 cm) (Figura 4A). As doses de reinoculação também apresentaram forte influência sob o CR, com um acréscimo linear até a dose de 4 vezes a dose de referência (600 L ha^{-1}), cujo aumento no CR foi de 5,19 cm em relação a dose 0 da reinoculação (Figura 4B).

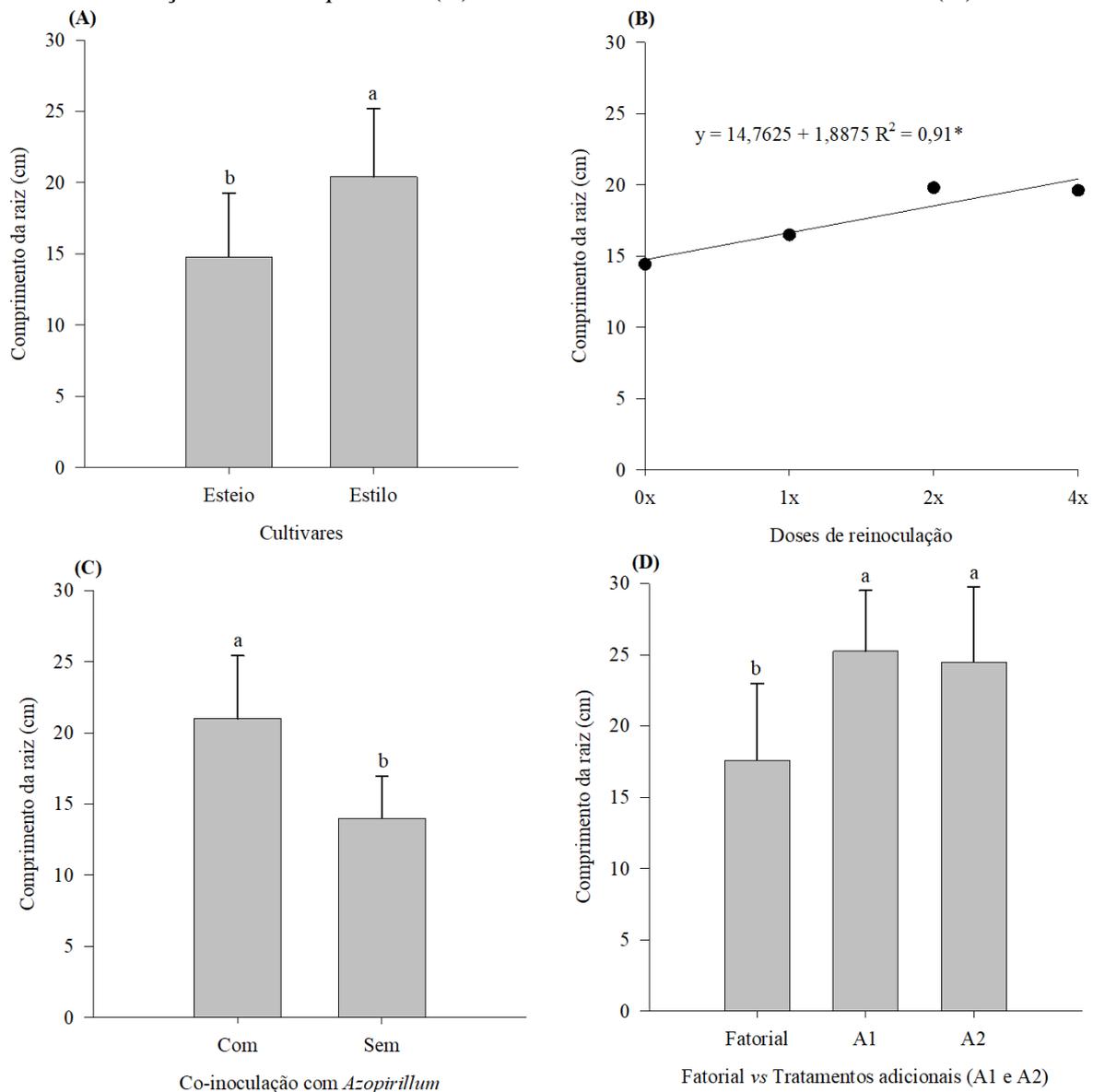
Como já previsto na literatura, a presença da co-inoculação com *Azospirillum* potencializou o CR em relação a ausência da co-inoculação, com uma diferença estatística de 7,56 cm entre os dois tratamentos (Figura 4C); e os tratamentos adicionais resultaram em maiores valores médios para o CR (24,88 cm) quando comparados com o fatorial triplo (17,59 cm) (Figura 4D).

Figura 3. Altura de planta em função da cultivar e doses de reinoculação (A), co-inoculação com *Azospirillum* e doses de reinoculação (B), fatorial triplo (cultivares x doses de reinoculação x co-inoculação) (C) e fatorial vs tratamentos adicionais (D).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

Figura 4. Comprimento de raiz em função das cultivares (A), das doses de reinoculação (B), da co-inoculação com *Azospirillum* (C) e do fatorial vs tratamentos adicionais (D).

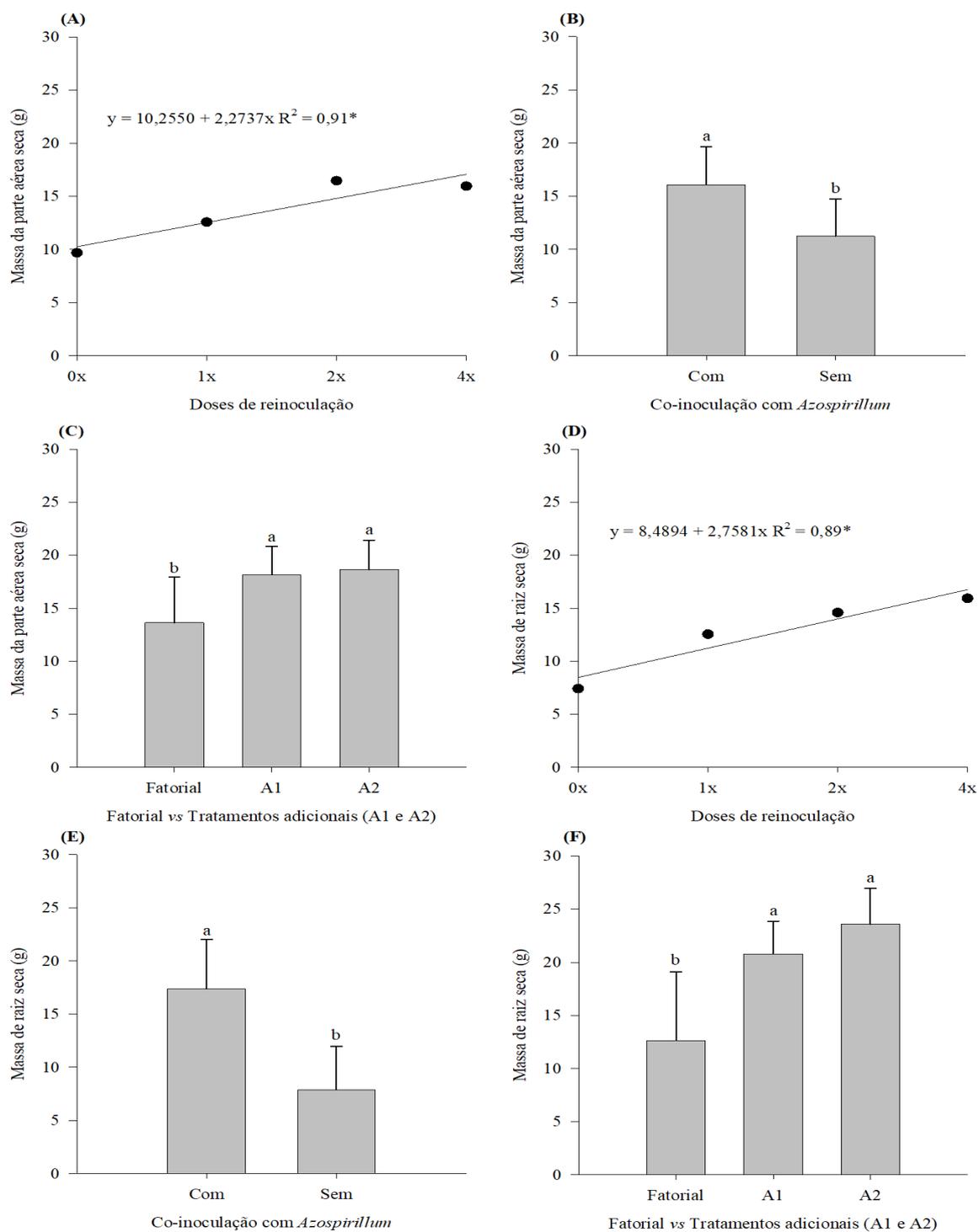


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

Os parâmetros de crescimento Massa da parte aérea seca (MPAS) e Massa da raiz seca (MRS) foram influenciados significativamente pelas doses de reinoculação, a presença da co-inoculação com *Azospirillum* e pelo fatorial vs tratamento adicional (Figura 5). A dose de 4 vezes a dose de referência (600 L ha^{-1}) elevou o MPAS e o MRS em 65% e 115%, respectivamente, quando comparado com a dose 0 da reinoculação (Figura 5A e 5D). Quanto a presença da co-inoculação, houve uma diferença estatística de 4,85 para MPAS e 9,49 g para MRS em relação a ausência da co-inoculação (Figura 5B e 5E). Já os tratamentos adicionais (cultivar BRS Estilo e BRS Esteio com adubação com N mineral) sobressaíram em termos de

média o tratamento do fatorial triplo, cuja diferença estatística foi na ordem de 4,73 e 9,54 g para o MPAS e o MRS, respectivamente (Figura 5C e 5F).

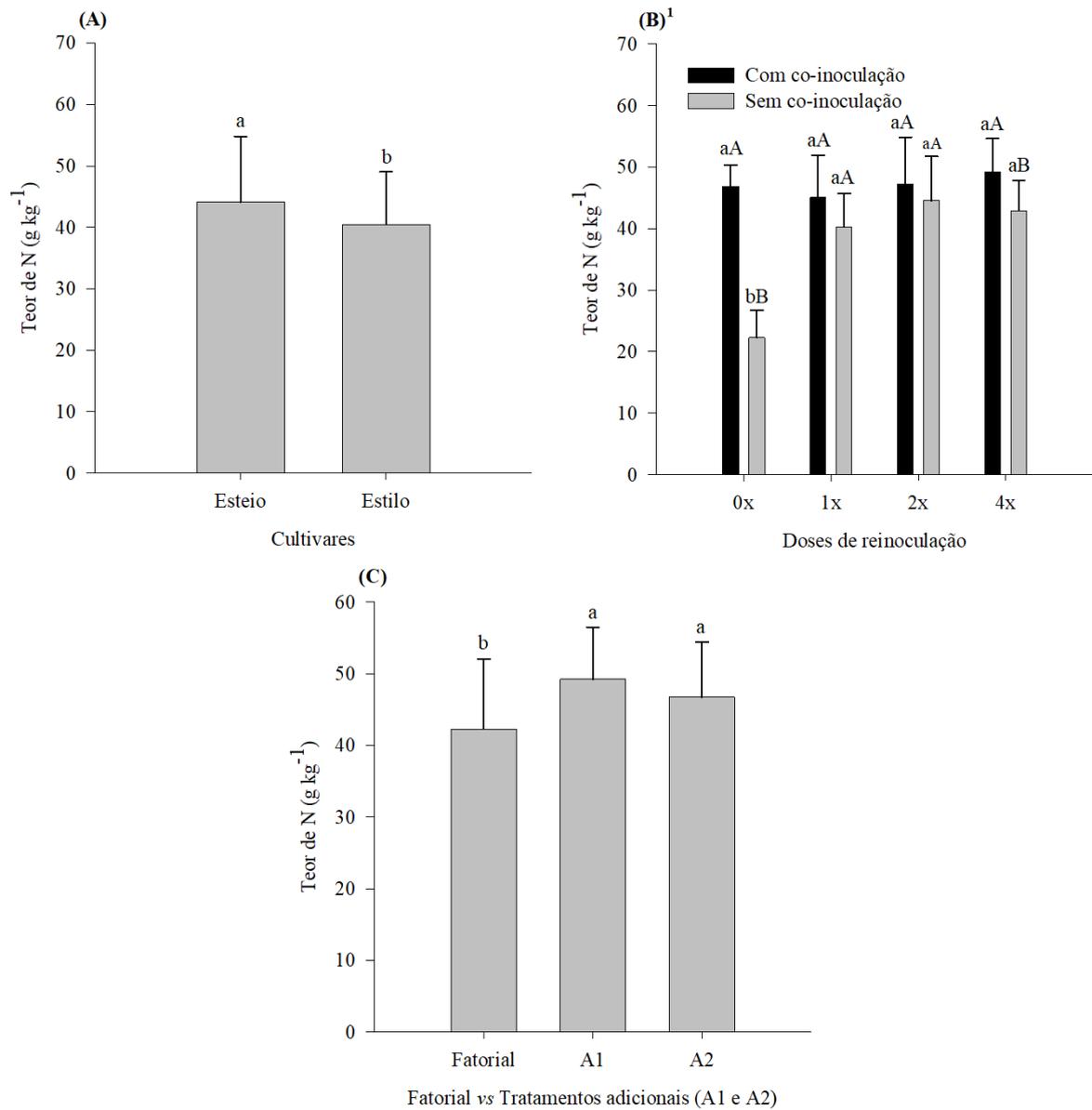
Figura 5. Massa da parte aérea seca e da raiz em função das doses de reinoculação (A e D), da co-inoculação com *Azospirillum* (B e E) e do fatorial vs tratamentos adicionais (C e F).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

O teor de N das plantas (TN) foi superior na cultivar BRS Esteio em relação a cultivar BRS Estilo, com uma diferença estatística de $3,63 \text{ g kg}^{-1}$ entre as cultivares (Figura 6A). Para a presença da co-inoculação com *Azospirillum*, houve interação significativa com as doses de reinoculação, onde a presença da co-inoculação associada com todas as doses da reinoculação, incluindo a dose 0, foram superiores estatisticamente em relação a dose 0 e 4 vezes a dose de referência (600 L ha^{-1}) sem a co-inoculação. Também foi constatado, ausência de diferença estatística entre as melhores combinações dos tratamentos co-inoculados e doses de reinoculação com as doses de 1 e 2 vezes a dose de referência (150 e 300 L ha^{-1} , respectivamente) na ausência da co-inoculação. Em suma, estes resultados reportam um fato de que a dose de maior nível (4 vezes a dose de referência) associada à presença da co-inoculação, resultou no maior acúmulo de N na parte aérea das plantas em relação ao tratamento sem co-inoculação e dose 0 de reinoculação, com uma diferença estatística de $26,98 \text{ g kg}^{-1}$ (Figura 6B). Para o contraste entre fatorial vs tratamentos adicionais, houve um resultado superior para as cultivares fertilizadas com N mineral (tratamentos adicionais) em relação ao fatorial triplo, cuja diferença foi na ordem de 13,45% na variável observada (Figura 6C).

Figura 6. Teor de nitrogênio em função das cultivares (A), das doses de reinoculação com ou sem co-inoculação com *Azospirillum* (B) e do fatorial vs tratamentos adicionais (C).

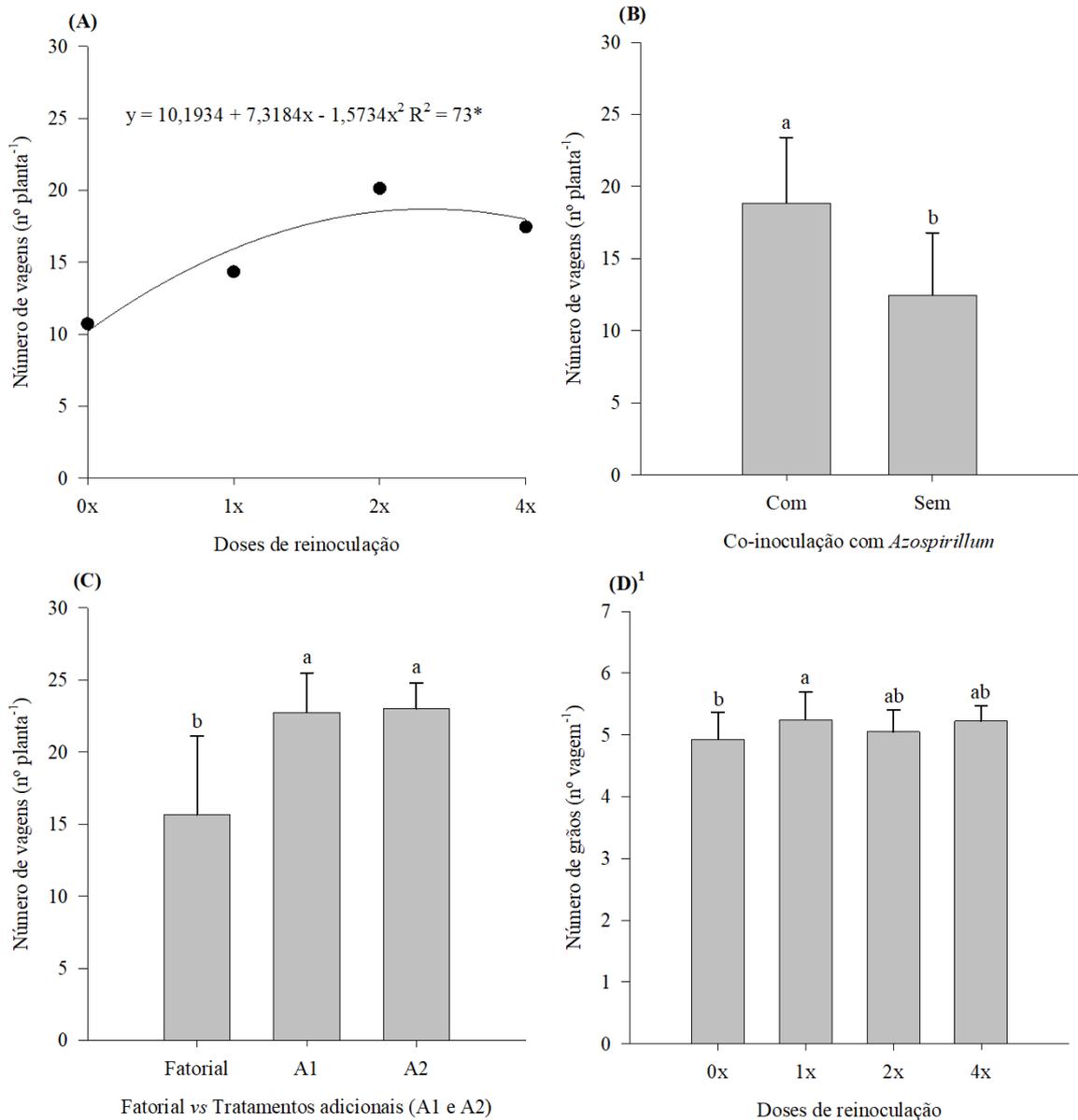


¹Ajuste não significativo para regressão linear ou quadrática. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam doses de reinoculação dentro de cada co-inoculação e letras maiúsculas comparam co-inoculação dentro de cada dose de reinoculação. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

As características de interesse agrônômico do feijoeiro, como o número de vagens por planta (NVP) e o número de grãos por vagem (NGV), estão apresentadas na Figura 6. Houve um incremento médio máximo para o NVP referente à dose de 2,3 vezes a dose de referência (345 L ha^{-1}), resultando em um número de 19 vagens planta⁻¹ (Figura 7A). Ao observar a presença ou ausência da co-inoculação com *Azospirillum*, sucedeu-se um aumento de 58% no NVP para o tratamento que recebeu co-inoculação, em relação ao tratamento que não foi co-inoculado (Figura 7B). Quanto a interação do fatorial vs tratamentos adicionais, o NVP foi 46% superior quando utilizado os tratamentos com fertilização nitrogenada (tratamento adicional) em relação aos tratamentos do fatorial triplo (Figura 7C).

Para o NGV, foi possível observar que ao utilizar a dose de 150 L ha^{-1} (1x a dose de referência), ocorreu o maior valor médio para essa variável em comparação com a dose 0 da reinoculação, cuja diferença foi na ordem de 4 grãos vagem⁻¹. Vale ressaltar que a dose supramencionada (1x) que apresentou os maiores valores para NGV, não se diferiu estatisticamente das doses de 2 e 4 vezes a dose de referência (300 e 600 L ha^{-1} , respectivamente) (Figura 7D).

Figura 7. Número de vagens por planta em função das doses de reinoculação (A), da co-inoculação com *Azospirillum* (B) e do fatorial vs tratamentos adicionais (C). Número de grãos por vagem em função das doses de reinoculação (D).

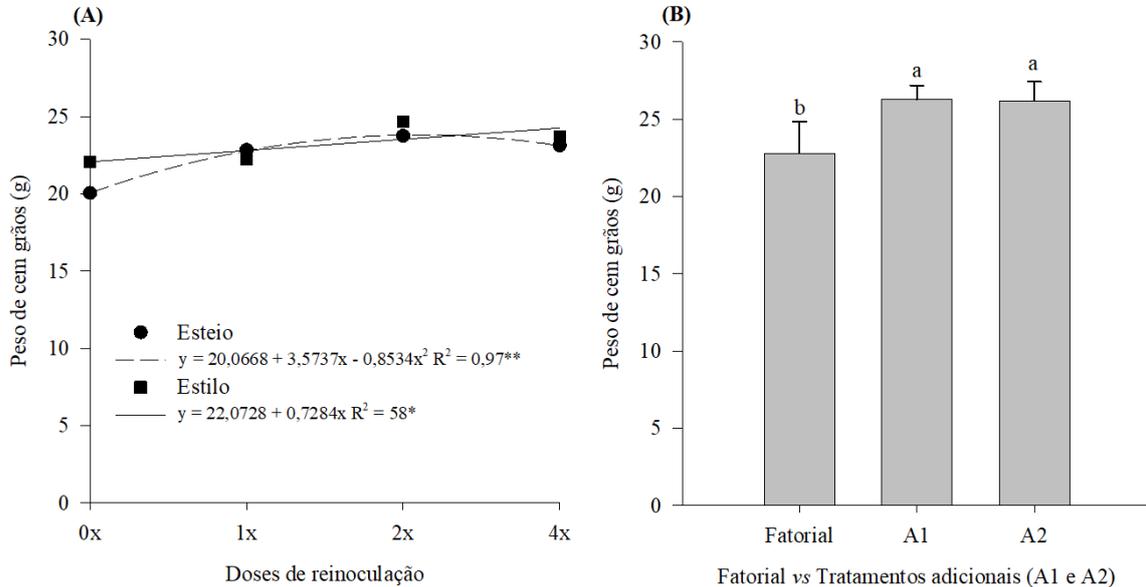


¹Ajuste não significativo para regressão linear ou quadrática. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

Quanto o peso de cem grãos (PCG), a interação dos fatores cultivar e doses de reinoculação demonstraram uma tendência linear no aumento do PCG para a cultivar BRS Estilo em função das doses de reinoculação, cuja predição é de um aumento de 0,7284 g no PCG para cada unidade incrementada da dose de reinoculação ($L\ ha^{-1}$). Já a cultivar BRS Esteio ajustou-se a uma regressão polinomial quadrática, com uma dose estimada de 2,1 vezes a dose de referência ($315\ L\ ha^{-1}$) resultando no ponto máximo do PCG (23,81 g) na referida dose de reinoculação (Figura 8A). Para o contraste fatorial vs tratamentos adicionais, houve um

resultado superior para as cultivares fertilizadas com N mineral em relação ao fatorial triplo, cuja diferença foi na ordem de 3,43 g para o PCG (Figura 8B).

Figura 8. Peso de cem grãos em função da cultivar e doses de reinoculação (A) e fatorial vs tratamentos adicionais (D).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

O rendimento de grãos (RG) do feijoeiro foi influenciado significativamente pelos fatores estudados, onde a cultivar BRS Estilo co-inoculada com *Azospirillum* apresentou o maior potencial produtivo (1.883 kg ha^{-1}) em relação ao tratamento com ausência da co-inoculação (1.226 kg ha^{-1}). A mesma observação pode ser feita para a cultivar BRS Esteio, na qual a co-inoculação elevou o RG em 111% quando comparado com a ausência da co-inoculação (Figura 9A).

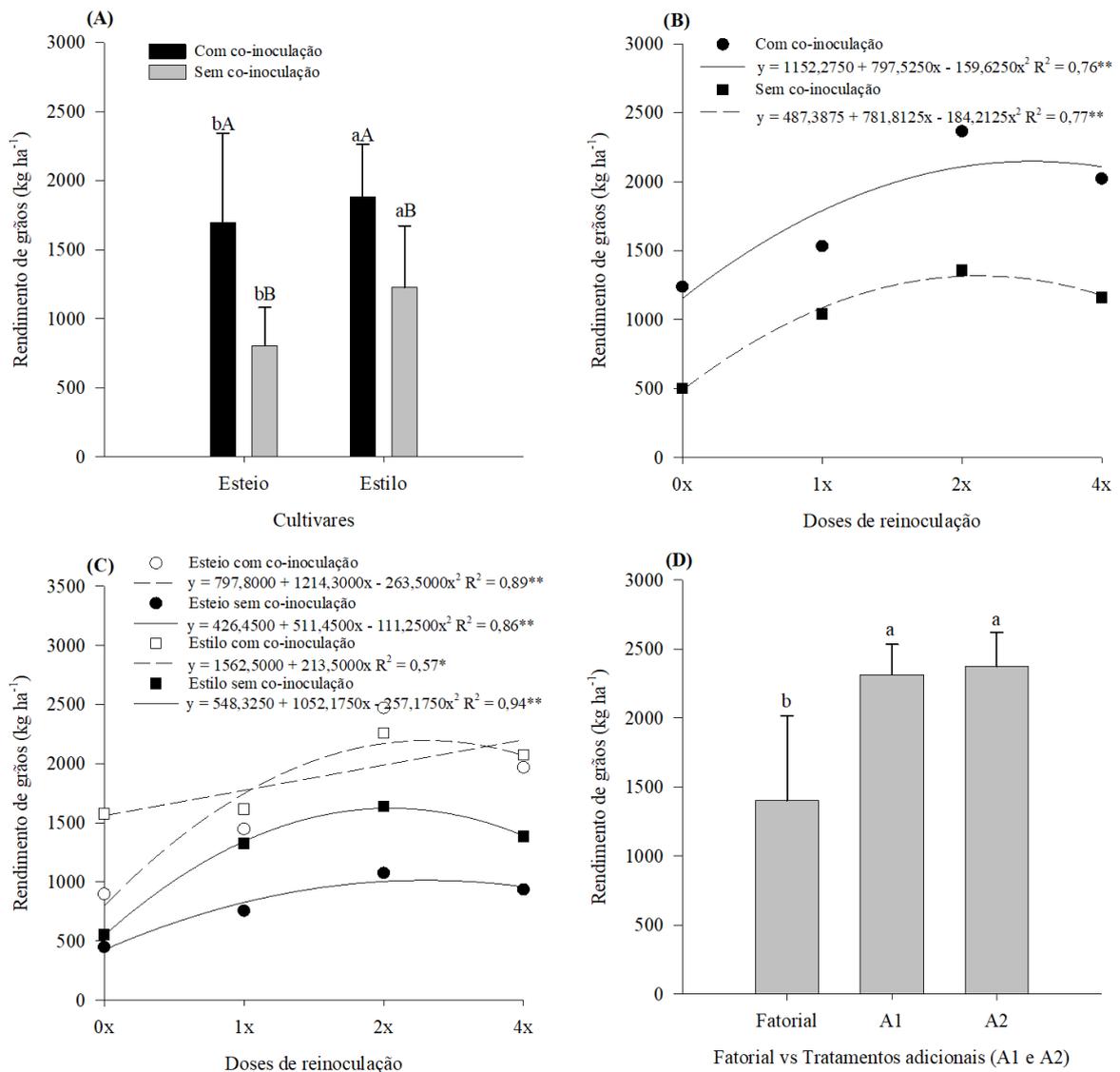
Ainda sobre os efeitos da co-inoculação, foi observado um RG máximo para o tratamento co-inoculado em função das doses de reinoculação, cuja dose 2,5 vezes a dose de referência (375 L ha^{-1}) do inoculante líquido, resultou em um RG de 2.148 kg ha^{-1} . Quando não utilizado a co-inoculação, o RG máximo do feijoeiro foi de 1.317 kg ha^{-1} na dose de reinoculação 2,1 vezes a dose de referência (315 L ha^{-1}) (Figura 9B).

O desdobramento do fatorial triplo (cultivares x doses de reinoculação x co-inoculação) revelou um melhor ajuste polinomial quadrático da curva, com exceção da cultivar BRS Estilo co-inoculada, que se ajustou linearmente em função das doses de reinoculação com uma conjectura de aumento no RG em $213,50 \text{ kg ha}^{-1}$ para cada unidade incrementada da dose de reinoculação em L ha^{-1} . A cultivar BRS Esteio co-inoculada associada a dose de máximo efeito da reinoculação (2,3 vezes a dose de referência) reportou um RG de 2.197 kg ha^{-1} , enquanto que para a mesma cultivar sem co-inoculação, a dose de máximo efeito da reinoculação também

foi de 2,3 vezes a dose de referência (345 L ha⁻¹) e o RG máximo na referida dose foi 1.014 kg ha⁻¹. Ademais, para a cultivar BRS Estilo sem co-inoculação, a dose de 2 vezes a dose de referência (300 L ha⁻¹) do inoculante líquido, resultou em um RG de 1.625 kg ha⁻¹, enquanto que para o uso da co-inoculação o RG máximo foi de 1.990 kg ha⁻¹ (Figura 9C). Na presente situação o acréscimo. O RG nos tratamentos adicionais (adubação com N mineral) foi 67% superior (2.344 kg ha⁻¹) quando comparado com o fatorial triplo (1.403 kg ha⁻¹).

Destaca-se ainda, que nos tratamentos testemunhas, ou seja, sem reinoculação, os RGs obtidos foram de apenas 548 e 426 kg ha⁻¹ para as cultivares BRS Estilo e BRS Esteio, respectivamente (Figura 9C). Valor próximo (487 kg ha⁻¹) foi obtido para RG sem co-inoculação, independente do materiais genético (Figura 9B).

Figura 9. Rendimento de grãos em função das cultivares com ou sem co-inoculação com *Azospirillum* (A), da co-inoculação e doses de reinoculação (B), do fatorial triplo (cultivares x doses de reinoculação x co-inoculação) (C) e do fatorial vs tratamentos adicionais (D).



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam cultivares dentro de cada co-inoculação e letras maiúsculas comparam co-inoculação dentro de cada cultivar. A1 (Adicional 1 = Estilo com N mineral) e A2 (Adicional 2 = Esteio com N mineral).

5. DISCUSSÃO

A análise de variância não detectou efeitos significativos para a variável estande final (EF) em função dos e os tratamentos. Já para o peso seco de nódulos (PSN) e o número de grãos por vagem (NGV), foi constatado efeito significativo somente para os fatores co-inoculação e reinoculação, respectivamente. Notou-se ainda, que em geral houve boa precisão experimental na obtenção dos dados, conforme os valores dos coeficientes de variação (CV) obtidos, quando comparado a precisão experimental de estudos agrícolas atribuída por Pimentel-Gomes (1990), que propôs uma classificação para o CV da seguinte forma: baixo, quando inferior a 10%; médio, entre 10 e 20%; alto, quando entre 20 e 30%; e muito alto, quando são superiores a 30%, a exceção do PSN cujo valor do CV foi 54%, mas que em geral ocorreu nas avaliações relacionadas ao sistema radicular da planta. Todavia, esta baixa precisão experimental em estudos envolvendo este órgão é normal, visto que dificilmente se consegue recuperar todo o sistema radicular das plantas avaliadas. Apesar disso, foi possível detectar diferença significativa dos tratamentos sobre as características de nodulação e propriamente do sistema radicular do feijoeiro. Para NN, maiores resultados foram obtidos para a cultivar BRS Esteio no tratamento de reinoculação com rizóbio na dose de 1,75x a dose de referência na presença de co-inoculação com *A. brasilense*. Peres et al. (2016), constataram em sua experimentação, utilizando *R. tropici* e *A. brasilense* em co-inoculação, aumento da nodulação do feijão comparado a inoculação com *R. tropici* isoladamente. Os estudos de Steiner et al. (2019), demonstraram que a co-inoculação com *A. brasilense* proporcionou incremento no número de nódulos por planta em relação às plantas inoculadas apenas com rizóbios. Efeitos semelhantes da co-inoculação com *A. brasilense* podem ser observados em outras culturas, a exemplo de Prando et al. (2019), que implantaram dois experimentos com soja em anos consecutivos e observaram aumento no número de nódulos devido à co-inoculação com *A. brasilense*. Silva et al. (2017), observaram que a inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* em co-inoculação com *A. brasilense* aumentou a nodulação do amendoim em 56% quando comparada à inoculação isolada de *B. japonicum*. Sendo assim, tal prática de co-inoculação proporciona o aumento do sistema radicular, tanto em volume quanto em comprimento, o que favorece uma maior nodulação, em concomitância, a presença de *A. brasilense* na planta e seu potencial de liberação de fitohormônios favorece esse crescimento das raízes (HUNGRIA et al., 2015; RONDINA et al., 2020).

A reinoculação com rizóbio na dose 4x a dose de referência revelou resultados superiores para altura da planta (AP) em comparação a dose 0. Também, a dose mencionada de

reinoculação, inferiu maiores resultados para peso seco da parte aérea (PSPA) e o peso seco da raiz (PSR), sendo que nesta última houve uma diferença estatística maior na presença de co-inoculação. Ainda que tenha revelado forte influência da reinoculação para PSR, os resultados para reinoculação, juntamente com a co-inoculação, expressaram valores superiores.

Alguns estudos corroboram com este resultado, a exemplo da pesquisa realizada por Schossler et al. (2016), utilizando inoculação e co-inoculação em sementes de feijoeiro comum com estirpes de *R. tropici* e *A. brasilense*, notaram maior altura de plantas, número de vagens por planta e massa de mil grãos. Na cultura da soja, Braccini et al. (2016), obtiveram incremento na massa seca da parte aérea com co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *A. brasilense* aplicados via sulco de semeadura da soja.

O aumento na massa seca parece estar relacionado à presença de *A. brasilense* na planta, pois esse simbiote promove aumento do crescimento radicular, uma vez que esse microrganismo pode aumentar a produção de auxinas, citocininas e giberelinas, fitohormônios esses, responsáveis pelo crescimento vegetal (DARTORA et al., 2013). As auxinas atuam no desenvolvimento e crescimento das raízes (MOREIRA et al. 2010). Desta forma, o fornecimento deste fitohormônio durante o ciclo da planta pode favorecer aumento no sistema radicular, resultando em melhor nutrição e conseqüente crescimento do vegetal. Os resultados para AP foram 26% superior ao utilizar os tratamentos adicionais (cultivares BRS Estilo e BRS Esteio com adubação com N mineral).

O maior acúmulo de N na parte aérea das plantas, aferido pelo teor de N (TN), foi observado quando reinoculadas com rizóbio na dose 4x, a dose recomendada. Assim como o número de grãos por vagem (NGV), que apresentou interação significativa apenas com as doses de reinoculação, onde as doses de rizóbio, 1, 2 e 4 x a dose de referência, foram as que apresentaram maiores valores. Já, Barbosa et al. (2020), não encontraram nenhuma interação significativa em seus tratamentos com a variável NGV ao testarem, no feijoeiro comum, os tratamentos com testemunha sem qualquer tratamento de sementes, com adubação nitrogenada no plantio e cobertura; inoculação com *R. tropici*, adubação nitrogenada de cobertura; e co-inoculação com *R. tropici*, *A. brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura, ainda que acrescentados em seus tratamentos o N mineral. Os mesmos autores, neste estudo, não encontraram efeito dos tratamentos para a variável NVP. No estudo, aqui representado neste trabalho, esta variável interagiu com os tratamentos reinoculação com rizóbio, co-inoculação com *Azospirillum* e tratamento adicional, no caso deste último tratamento, com maiores resultados. Resultados semelhantes aos encontrados no estudo de Peres et al. (2016), que apresentaram interações significativas para a variável NVP em função dos tratamentos, onde os

tratamentos utilizando *Rhizobium*, apresentaram menor resultado quando comparado à testemunha, adubação nitrogenada e *Azospirillum*.

Foi observado um RG máximo para o tratamento co-inoculado em função das doses de reinoculação com rizóbio na dose 2,5 vezes a dose de referência. Porém, o tratamento com N mineral foi superior quando comparado aos demais. Todavia, vale destacar que esta comparação foi realizada comparando a média de todos os tratamentos componentes do fatorial envolvendo a aplicação dos microorganismos rizobianos ou não, com a média do adubo mineral nitrogenada, e quanto se nota somente a média do RG obtida nos tratamentos envolvendo as maiores doses da reinoculação de *R. tropici* + *A. brasilense*, consta-se a obtenção de rendimento superior a 2.000 kg ha⁻¹ na cultivar BRS Esteio, e próximos aos valores médios obtidos no tratamento com N mineral. Steiner et al. (2019) conduziram dois experimentos em épocas distintas e concluíram que a inoculação das sementes com *R. tropici* isoladamente ou combinada com *A. brasilense* melhorou a nodulação das raízes e o rendimento de grãos do feijoeiro comum quando a cultura foi cultivada durante a “safra da seca”. Verificaram que em relação ao período de verão-outono, a inoculação, apenas com *R. tropici*, aumentou a produtividade do feijão em uma média de 19,9%, enquanto a co-inoculação de *R. tropici* combinado com *A. brasilense* resultou em um aumento médio da produtividade de 26,6% em relação às plantas não inoculadas. Por não terem obtido resultados significativos de produtividade na primavera-verão sugeriram que as condições ambientais podem determinar os efeitos positivos da inoculação com *R. tropici* e *A. brasilense*, isoladamente ou em combinação, sobre a produtividade do feijão. Por outro lado, Peres et al. (2016), avaliaram cinco formas de fornecimento de nitrogênio no outono-inverno: testemunha sem inoculação com 40 kg ha⁻¹ de N mineral em cobertura, 80 kg ha⁻¹ de N mineral sem inoculação, inoculação de *A. brasilense* com 40 kg ha⁻¹ de N mineral em cobertura, inoculação de *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N mineral em cobertura e co-inoculação de *A. brasilense* e *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N mineral em cobertura. Os tratamentos avaliados não aumentaram a produtividade em relação à testemunha não inoculada com 40 kg ha⁻¹ de N mineral em cobertura.

Observando o comportamento das cultivares BRS Esteio e BRS Estilo, diante dos tratamentos, verificou-se que o NN foi superior em ambas as cultivares que receberam co-inoculação com *Azospirillum*. Houve um acréscimo superior na AP para a cultivar BRS Esteio na dose de 4 vezes a dose de referência (600 L ha⁻¹) em relação a dose 0 de reinoculação. Considerando o fatorial triplo, as duas cultivares, independentemente da presença ou ausência da co-inoculação, apresentaram uma tendência de acréscimo na AP em função das doses de reinoculação. A cultivar BRS Estilo apresentou os maiores valores para CR quando comparada com a cultivar BRS Esteio. O TN foi superior na cultivar BRS Esteio em relação a cultivar BRS

Estilo. A cultivar BRS Estilo co-inoculada com *Azospirillum* apresentou o maior potencial produtivo (1.883 kg ha⁻¹) em relação ao tratamento com ausência da co-inoculação (1.226 kg ha⁻¹).

O presente estudo é pioneiro no que tange a combinação de inoculações na semente + reinoculação associada com co-inoculação. Tais resultados são confrontados e vão de acordo com o trabalho realizado por Sousa et al. (2021), no qual testou em seu experimento a resposta de duas cultivares de feijoeiro comum à reinoculação em cobertura e concluíram que a inoculação via semente combinada com a inoculação suplementar em cobertura (reinoculação) proporcionou um incremento de 2.827 kg ha⁻¹ na produtividade de grãos da cultivar BRS Valente, em relação a adubação nitrogenada de 20 e 40 kg ha⁻¹ de N mineral na base e em cobertura, respectivamente. No entanto, os autores não tratam da co-inoculação com *A. brasilense*, ainda assim, é possível notar uma tendência positiva no uso desta técnica de reinocular o rizóbio em cobertura, o que ficou ainda mais evidente no presente estudo quando co-inoculado com *A. brasilense*, prática pouco usual e que tem demonstrado resultados promissores.

A baixa capacidade de resposta do feijoeiro a FBN quando foi feito somente a inoculação via semente, pode ser confirmado pelo resultados dos tratamentos testemunha, na ausência da reinoculação e/ou co-inoculação, quando se obteve os menores RGs, 548 e 426 kg ha⁻¹ para as cultivares BRS Estilo e BRS Esteio. Estes resultados confirmam também que a população nativa de rizóbio do solo não foi capaz de suprir a demanda de N para a cultura do feijão, conforme estas baixas produtividades obtidas.

O rendimento médio da produtividade no Brasil na safra 2020/2021 segundo a Conab (2021), foi de 977 kg/ha, 11% menor que a safra anterior. Considerando a média nacional para produtividade, os resultados obtidos na presente pesquisa mostram que os efeitos da co-inoculação, foram positivos resultando em um RG de 2.148 kg ha⁻¹. 977 kg/ha, quando aplicado conjuntamente doses de reinoculação de 2,5 vezes a dose de referência (375 L ha⁻¹).

6. CONCLUSÕES

- A reinoculação envolvendo a associação de *R. tropici* com *A. brasilense*, influencia a nodulação e características morfológicas do feijoeiro.
- A reinoculação na cultivar Esteio com *R. tropici* na dose correspondente a 2,5 vezes a dose de referência, equivalente a 375 L ha⁻¹, associado a co-inoculação com *A. brasilense* na dose de 100 L ha⁻¹ realizada no estágio V4, propicia a obtenção de maiores rendimentos da cultura do feijão, equivalente ao valores obtidos com adubação mineral nitrogenada.
- A técnica da reinoculação de células rizobianas associadas com azospirillum, em complementação a inoculação de realizada na sementes, pode substituir totalmente o fornecimento de N mineral na cultura de feijão comum.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BARBOSA, C.K.R.; REIS, J.N.; BRIGANTE, G.P.; FRANCO JUNIOR, K.S. Adubação nitrogenada, inoculação e coinoculação na cultura do feijoeiro-comum. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-6, 2020.

BASU, S.; KUMAR, G. Nitrogen fixation in a legume-rhizobium symbiosis: the roots of a success story. **Plant Microbe Symbiosis**. v. 35, p. 35-53, 2020.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K.; L. H. S., LIMA; PICCININ, G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, p. 27-35, 2016.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil, na forma dos Anexos I, II e III, desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3.

BRITO, L.F.; PACHECO, R.S.; SOUZA FILHO, B.F.; FERREIRA, E.P. de B.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A.P. Resposta do feijoeiro comum à inoculação com rizóbio e suplementação com nitrogênio mineral em dois biomas brasileiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, p.981-992, 2015.

CARDOSO, M.R.D.; MARCUZZO, F.F.N.; BARROS, J.R. Classificação climática de Köppen-Geiger para o estado de Goiás e o Distrito Federal. **Acta Geográfica**, v. 8, p. 40-55, 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 7, safra 2019/20, décimo segundo levantamento, setembro 2021.

CURÁ, J. A.; FRANZ, D. R.; FILOSOFIA, J.E.; BALESTRASSE, K.B.; BURGUEÑO, L.E. Inoculation with *Azospirillum* sp. And *Herbaspirillum* sp. Bacteria increases the tolerance of maize to drought stress. **Microorganisms**, v. 5, p. 41, 2017.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.1023-1029, 2013.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Catálogo de cultivares de feijão comum**. 2021. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226415/1/catalogo-feijao-2021-2.pdf>> Acesso em: 10 março, 2022.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília: Embrapa Solos, 2013. 353p.

FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; AGUIAR, P.N.; SOUZA, M.F.; FREIRE, T.C.; FONSECA, A.S.; ALVES, R.C. Atividade peroxidásica em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Aporé na presença de ácido salicílico e *Thanatephorus cucumeris*. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.11, p.72-79, 2020.

FUKAMI, J.; OLLERO, F.J.; LA OSA, C.; VALDERRAMA-FERNÁNDEZ, R.; NOGUEIRA, M.A.; MEGIA, M.; HUNGRIA, M. Antioxidant activity and induction of mechanisms of resistance to stresses related to the inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Archives of Microbiology**, v. 200, p. 1191–1203, 2018.

GALINDO F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.L.M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p.1-18, 2016.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ROSA POLIANA, A.L.; TRITAPEPE, C.A. Technical and economic viability of coinoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, p. 51-56, 2018.

GOOGLE EARTH. **Google Earth Pro**. 2019. Disponível em: <https://google-earth.gosur.com/?gclid=Cj0KCQjwjNSBhCkARIsACsrBz6qa6pDuKJAUbZq2GvSDH3HCp3EBENXsgvo66W4Ya7YkclzIU2SbyMaApc-EALw_wcB> Acesso em: 10 de abril 2022.

GOYAL, R.K.; SCHMIDT, M.A.; HYNES, M.F. Biologia molecular na melhoria da fixação biológica de nitrogênio por Rhizobia. **Microorganisms**, v. 9, p.125, 2021.

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

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**, v.331, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal Agriculture Research**, v. 10, p. 2329 – 2338, 2015.

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

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Banco de dados meteorológicos**. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2022.

MAIA, S.C.M; SORATTO, R.P; LIEBE, S.M; ALMEIDA, A.Q. Critérios para aplicação de nitrogênio em cobertura em feijoeiro com clorofila. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p.512-520, 2017.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 3.ed London: Elsevier, 2012. 643p.

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

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

MOREIRA, L.P. Nodulation, contribution of biological N₂ fixation, and productivity of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with rhizobia isolates. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, p. 644-651, 2017.

MORETTI, L.G.; LAZARINI, E.; BOSSOLANI, J.W.; PARENTE, T.L.; CAIONI, S.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Can additional inoculations increase soy bean nodulation and grain yield? **Agronomy Journal**, v. 110, p. 715-721, 2018.

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

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

PERES, A.R.; RODRIGUES, R.A.F.; ARF, O.; PORTUGAL, J.R.; CORSINI, D.C.D.C. Co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* in common beans grown under two irrigation depths. **Revista Ceres**, v.63, p. 198-207, 2016.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.

PUPPO, A.; GROTEN, K.; BASTIAN, F.; CARZANIGA, R.; SOUSSI, M.; LUCAS, M.M.; FELIPE, M.R.; HARRISON, J.; VANACKER, H.; FOYER, C.H. Legume nodule senescence: Roles for redox and hormone signaling in the orchestration of the natural aging process. **New Phytologist**, v. 165, p. 683-701, 2005.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2016.

RONDINA, A.B.L.; SANZOVO, A.W.S.; GUIMARÃES, G.S.; WENDLING, J.R.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, p. 537-49, 2020.

ROSOLEM C.A.; MARUBAYASHI O.M. **Nutrição e adubação do feijoeiro**. Piracicaba: Potafós, 1994. 18p. (Boletim Técnico, 68).

SANTOS, A.B.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F.; MELO, M.L.B. Resposta do feijoeiro ao manejo de nitrogênio em várzeas tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1265-1271, 2003.

SCHOSSLER, J.H., MEERT, L., RIZZARDI, D.A., MICHALOVICZ, L. Componentes de rendimento e produtividade do feijoeiro comum submetido à inoculação e co-inoculação com estirpes de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria**, v. 17, p. 10-15. 2016.

SCIVITTARO, W.B.; GONÇALVES, D.R.N.; VALE, M.L.C.; RICORDI, V.G. Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e resposta do arroz irrigado à aplicação de ureia tratada com o inibidor de urease NBPT. **Ciência Rural**, v.40, p.1283- 1289, 2010.

SILVA, E. A.; BARBOSA, E. R.; DA COSTA, C. M.; DA SILVA, G. G.; TEODORO, H. L. C.; CUNHA, L. T. Ação de fungicidas na fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**, v. 2, p. 21-32, 2020.

SILVA, E.R.S.; SALLES, J.S.; ZUFFO, A.M.; STEINER, F. Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em sementes de amendoim de diferentes tamanhos. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, Suplemento 1, p. 93-102, 2017.

SILVA, F.C.D.S. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 245p.

SILVEIRA A.P.D.; FREITAS S.S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Editora Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 312p.

SOARES, B.L.; FERREIRA, P.A.A.; RUFINI, M.; MARTINS, F.A.D.; OLIVEIRA, D.P.; REIS, R.P.; ANDRADE, M.J.B. de; MOREIRA, F.M. de S. Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with *hizobia* and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.40, e. 0150235, 2016.

SORATTO, R.P.; FERNANDES, A.M.; PILON, C.; CRUSCIOL, C.A.C.; BORGHI, E. Épocas de aplicação de nitrogênio em feijoeiro cultivado após milho solteiro ou consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 1347-1355, 2013.

SORATTO, R.P.; CATUCHI, T.A.; SOUZA, E.F.C.; GARCIA, J.L.N. Densidade de plantas e fertilização com nitrogênio na nutrição e produtividade do feijoeiro. **Revista Caatinga**, v.30, p.670-678, 2017.

SOUSA, W.S.; TEIXEIRA, I.R.; CAMPOS, T.S.; SILVA, G.C.; SILVA, M.B. MOREIRA, S.G. Supplementary reinoculation in topdressing of in common bean crop: effects on nodulation, morphology, and grain yield. **Journal of Plant Nutrition**, v. 45, p. 1-7, 2021.

STEINER, F.; FERREIRA, H.C.P.; ZUFFO, A.M. Canco-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* increase common bean nodulation and grain yield? **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, p. 81-98, 2019.

TEIXEIRA, I.R.; LOPES, P.R.; SOUSA, W.S.; SILVA, G.C. Response of common bean *torhizobium* reinoculation in topdressing. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 26, p. 274-282, 2022.

VAN DE VELDE, W.; GUERRA, J.C.P.; DE KEYSER, A.; DE RYCKE, R.; ROMBAUTS, S.; MAUNOURY, N.; MERGAERT, P.; KONDOROSI, E.; HOLSTERS, M.; GOORMACHTIG, S. Aging in legume symbiosis. A molecular view on nodule senescence in *Medicago truncatula*. **Plant Physiology**, v. 141, p. 711-720, 2006.

VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J; BORÉM, A. (Eds). **Feijão**: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais. Viçosa, MG: UFV, Cap. 6, 1998, p.123-151.

ZAFAR, M.; ABBASI, M.K.; KHAN, M.A.; KHALIQ, A.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth, nodulation and nutrient accumulation of lentil under controlled conditions. **Pedosphere**, v. 22, p. 848-859, 2012.