



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ALEXANDRE PALUDETTO

**INOCULAÇÃO COM *Rhizobium tropici* E COINOCULAÇÃO COM *Azospirillum
brasilienses* NA EFICIÊNCIA NUTRICIONAL E PRODUTIVA DO FEIJÃO
(*Phaseolus vulgaris*)**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2022

ALEXANDRE PALUDETTO

**INOCULAÇÃO COM *Rhizobium tropici* E COINOCULAÇÃO COM *Azospirillum
brasilienses* NA EFICIÊNCIA NUTRICIONAL E PRODUTIVA DO FEIJÃO
(*Phaseolus vulgaris*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado
em Agronomia, da Universidade Estadual do
Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Orientador: Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2022

P184i PALUDETTO, Alexandre.
INOCULAÇÃO COM *Rhizobium tropici* E COINOCULAÇÃO
COM *Azospirillum brasiliense* NA EFICIÊNCIA NUTRICIONAL
E PRODUTIVA DO FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) / Alexandre
Paludetto; orientador Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln - Bandeirantes,
2022.
46 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Agronomia) -
Universidade Estadual do Norte do Paraná, Centro de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

1. INOCULAÇÃO . 2. *Rhizobium tropici*. 3. COINOCULAÇÃO.
4. *Azospirillum brasiliense*. 5. *Phaseolus vulgaris*. I. Kölln , Prof.
Dr. Oriel Tiago, orient. II. Título.

CDD 635

ALEXANDRE PALUDETTO

**INOCULAÇÃO COM *Rhizobium tropici* E COINOCULAÇÃO COM *Azospirillum
brasilienses* NA EFICIÊNCIA NUTRICIONAL E PRODUTIVA DO FEIJÃO
(*Phaseolus vulgaris*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Agronomia, da
Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln

Prof. Dr. Silvestre Bellettini

Prof. Dr. Renan Caldas Umburanas

Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln

Orientador

Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP

Campus Luiz Meneghel

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me colocado nesta trajetória, pela força e determinação para que eu conseguisse concluir mais uma etapa em minha vida.

A minha esposa, meus filhos, meus pais e meus irmãos, que sempre me apoiaram, motivaram, e acreditaram, tanto nas horas difíceis, quanto nas alegrias.

Aos professores, pelos ensinamentos ministrados e contribuição fundamental na minha formação profissional. Em especial, ao meu orientador Prof. Dr. Oriel Tiago Kölln, por ter me aceitado como orientado, pela sua paciência, e orientação na condução deste trabalho.

Ao Programa de Mestrado em Agronomia (PPAGRO) da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, que completa 10 anos em 2022, que vem ajudando a proporcionar formação profissional de alta qualidade para a atuação nas áreas de ensino, pesquisa e extensão.

Ao pessoal da Estação experimental do IAPAR e do CEEPA de Cambará/PR, por ter fornecido área e equipamentos para finalização deste trabalho.

PALUDETTO, A. **Inoculação com *Rhizobium tropici* e coinoculação com *Azospirillum brasilienses* na eficiência nutricional e produtiva do feijão (*Phaseolus vulgaris*)**. Programa de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2022.

RESUMO

A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) é importante no cenário agrícola e socioeconômico nacional, representa uma importante fonte de proteína para a alimentação humana e compõe o prato de milhões de brasileiros. Dessa forma, melhorar a produtividade dessa cultura deve ser sempre uma estratégia de desenvolvimento regional e segurança alimentar. O objetivo desse estudo foi de avaliar o potencial produtivo e a eficiência nutricional da cultura do feijão comum subtipos preto e carioca em ambiente subtropical, quantificando a resposta da inoculação associada a coinoculação e adubação nitrogenada de cobertura. Foram utilizados 5 tratamentos em dois subtipos de feijão, com 4 repetições: T1: Sem N e sem inoculação; T2: sem inoculante com 30 kg de N ha (sulfato de amônio) em cobertura; T3: Inoculante de *Rhizobium tropici* via semente; T4: Inoculante de *Rhizobium tropici* via semente + coinoculação com *Azospirillum brasilense* via semente; T5: Inoculante com *Azospirillum brasilense* via semente. A adubação de base em todos os tratamentos foi de 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ de K₂O. Foram avaliados ao longo do ciclo, a nodulação e a morfologia das plantas. No final do ciclo foram avaliados os componentes de produtividade, massa seca da parte aérea, acúmulo de N e eficiência de uso de N. Houve interação entre os subtipos de feijão e tratamentos apenas para o diâmetro do colo das plantas. Os parâmetros biométricos da cultura, o acúmulo de massa seca da planta e a massa de mil sementes não foram modificados pela inoculação, coinoculação ou pelo N em cobertura. Os tratamentos não inoculados evidenciaram a presença nativa do Rizóbio, que contribuiu para o desempenho da testemunha. O índice de colheita médio obtido no experimento foi de 0,42%. O tratamento T4 teve uma produtividade 33% superior a testemunha, porém as inoculações isoladas produziram igual ao controle e a aplicação de N em cobertura. A eficiência de utilização de N (EUN), e a eficiência de absorção do N (EAN) não foram influenciadas pelos tratamentos e subtipos de feijão, conseqüentemente associa-se os ganhos de produtividade do tratamento T4 ao efeito de promoção de crescimento. A extração total de nutrientes considerando parte aérea, raiz e grãos, a seguinte ordem de extração média entre os tratamentos N>K>Ca>Mg>P>S com valores respectivamente de 149,1; 106,8; 67,7; 16,0; 13,2 e 11,9 kg ha⁻¹. A inoculação + coinoculação aumentaram a produtividade, e novos estudos devem ser realizados para testar a interação ambiental com esses microrganismos.

Palavras-Chave: Adubação, Produtividade, Feijão Preto, Feijão carioca

PALUDETTO, A. **Inoculation with *Rhizobium tropici* and co-inoculation with *Azospirillum brasilienses* on the nutritional and productive efficiency of common bean (*Phaseolus vulgaris*)**. 2022. Master's Program in Agronomy – State University of Northern Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2022.

ABSTRACT

The bean crop (*Phaseolus vulgaris*) is important in the national agricultural and socioeconomic scenario, represents an important source of protein for human consumption and makes up the plate of millions of Brazilians. Thus, improving the productivity of this crop must always be a strategy for regional development and food security. The objective of this work was to evaluate the productive potential and the nutritional efficiency of the common bean and black bean crop in the pioneer north region of Paraná, quantifying the inoculation response associated with co-inoculation and topdressing nitrogen fertilization. The experiment was carried out in an area installed at the Luiz Natal Bonin Experimental Station - IAPAR in the city of Cambará/PR. Five treatments and two subtypes of bean were used with 4 replications: T1: No N and no inoculation; T2: without inoculant with N fertilizer in topdressing; T3: *Rhizobium tropici* inoculant via seed; T4: *Rhizobium tropici* inoculant via seed + co-inoculation with *Azospirillum brasilense* via seed; T5: Inoculant with *Azospirillum brasilense* via seed. Sowing fertilization in all treatments was 50 kg ha⁻¹ of P₂O₅ and 50 kg ha⁻¹ of K₂O. In T2, 30 kg ha of N in the form of ammonium sulfate was used. Evaluations were carried out along the cycle, to evaluate the nodulation, and the morphology of the plants. At the end of the cycle, the production components, shoot dry mass, N accumulation, productivity and N use efficiency were also evaluated. There was a significant interaction between bean subtypes and treatments only for the diameter of the collar of the plants. Inoculation, co-inoculation or N in coverage did not improve the biometric parameters of the culture, the accumulation of plant dry mass and the weight of a thousand seeds. The non-inoculated treatments showed the native presence of Rhizobia, which contributed to the control performance. The average harvest index obtained in the experiment was 0,42%. The T4 had a productivity 33% higher than the control, but the isolated inoculations produced the same as the control and the N application in topdressing. The nitrogen use efficiency (NUE), and the N absorption efficiency (NAE) weren't influenced by the treatments and bean subtypes, consequently, the gains of yield the T4 treatment, which was two microorganisms application, are associated with the effect of growth promotion. The total extraction of nutrients considering shoot, root and grains, we obtained the following average extraction order between treatments N>K>Ca>Mg>P>S with values respectively of 149.1; 106.8; 67.7; 16.0; 13.2 and 11.9 kg ha⁻¹. Inoculation + co-inoculation increased productivity, and further studies should be carried out to test the environmental interaction with these microorganisms.

Keywords: Fertilization, yield, black bean, Carioca bean

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produtos comerciais, a esquerda Rizospirillum contendo <i>Azospirillum brasilense</i> e a direita da imagem Rhizotrop contendo <i>Rhizobium tropici</i>	11
Figura 2 - Croqui da área experimental.....	11
Figura 3. Pluviosidade, temperaturas máximas e mínimas decendiais durante a realização do experimento da cultura do feijão nov 2021 e fev 2022 em Cambará, Paraná, Brasil.....	12
Figura 4 - Estágios de desenvolvimento da cultura.....	13
Figura 5 – Utilização de Pá reta na remoção de raízes (A); Nódulos retirados e contados das amostras das parcelas.....	13
Figura 6. Secagem inicial das raízes após remoção e contagem dos nódulos (A) parte aérea da planta passando pelo processo de pesagem (B).....	14
Figura 7. Medição da altura de plantas nas parcelas (A); determinação do diâmetro do caule das plantas (B).....	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização química do solo antes da instalação do experimento na Estação experimental Luiz Natal Bonin - IAPAR na cidade de Cambará/PR.....	9
Tabela 2. Variáveis biométricas da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná.....	17
Tabela 3. Desdobramento da interação significativa do diâmetro de plantas da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.....	18
Tabela 4. Acúmulo de massa seca da parte aérea (MSPA) de Raiz (MSR), massa seca total (MST) em R5 e massa seca de raiz/parte aérea (R/PA) da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação ou nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.	19
Tabela 5. Nodulação e massa de mil sementes (MMS) da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.....	21
Tabela 6. Produtividade, eficiência de utilização de N (EUN), eficiência de absorção de N (EAN), teor de proteína bruta nos grãos, e acúmulo de proteína bruta por hectare da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em Cambará, Paraná, Brasil.	22
Tabela 7. Acúmulo de macronutrientes na biomassa da parte aérea da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.	24
Tabela 8. Acúmulo de macronutrientes na raiz da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.	25
Tabela 9. Acúmulo de macronutrientes nos grãos da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.	26

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Cultura do feijão.....	3
2.2. Inoculação com bactérias do gênero <i>Rhizobium</i>	4
2.3. Inoculação com bactérias do gênero <i>Azospirillum</i>	6
2.4. Coinoculação com <i>Rhizobium</i> e <i>Azospirillum</i>	7
2.5. Fertilização nitrogenada no feijão.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Caracterização da área, tratamentos e delineamento experimental	9
3.2 Caracterização meteorológica	11
3.3 Avaliações	12
3.3.1 Avaliação temporal.....	12
3.3.2 Avaliações do final do ciclo.....	15
3.3. Análises estatísticas	16
4. RESULTADO E DISCUSSÃO	17
5. CONCLUSÕES.....	27
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

Os principais produtores mundiais de feijão são: Mianmar, Índia, Brasil, China, Tanzânia, Uganda, Estados Unidos, México, Quênia e Burundi (FAOSTAT, 2021). O consumo é baixo nos países mais desenvolvidos e o fato dos grandes produtores mundiais serem também os maiores consumidores gera poucos excedentes exportáveis, o que limita o comércio internacional do produto (CONAB, 2017).

A estimativa de uma produção nacional de 1.9 milhões toneladas de feijão cores nas safras de 2021/2022 representam um aumento de 3,6% em relação mesmo período da temporada anterior. Na safra 2020/2021 o estado de Minas Gerais produziu 503 mil t e é o maior produtor nacional, seguido por Paraná (305 mil t), Goiás (263,7 mil t) e Bahia (212,7 mil t) (CONAB, 2021).

Para minimizar os impactos ambientais, melhorar a qualidade dos alimentos, reduzir a dependência de fertilizantes minerais e diminuir os custos, dá-se enfoque a substituição de insumos minerais por microrganismos. Neste sentido, há grande interesse em pesquisas e pelo desenvolvimento de práticas de manejo que visem o uso de agentes biológicos, que estimulem o desenvolvimento vegetal, com enfoque na produtividade (HUNGRIA, 2011).

A coinoculação de bactérias promotoras de crescimento do feijoeiro é uma tecnologia que combina uma prática conhecida dos produtores: reúne a inoculação das sementes de feijão com bactérias fixadoras de nitrogênio (N), conhecidas como rizóbios, associado ao uso do *Azospirillum*, uma bactéria promotora de crescimento de plantas (BPCP). A importância desses microrganismos se dá pela possibilidade de redução dos custos de produção da lavoura, visto que a bactéria fixadora de nitrogênio permite a substituição parcial do fertilizante nitrogenado que resulta num incremento de produção de grãos da cultura (EMBRAPA, 2017).

A adequada disponibilidade do nitrogênio (N) é necessária para a cultura do feijão, especialmente em lavouras de alta produtividade. No entanto, apesar dos fertilizantes nitrogenados serem a forma assimilada com maior rapidez pelas plantas, apresentam alto custo; bem como alto gasto energético na sua fabricação. Por exemplo, para cada tonelada de amônia sintetizada necessita-se aproximadamente de seis barris de petróleo. O N comumente apresenta baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassa 50%; Além disso, as perdas de N em decorrência da adubação nitrogenada estão relacionada à poluição ambiental como a lixiviação e emissão de gases (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Além dos rizóbios (bactérias simbiotes), existem outras bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) que realizam vários processos biológicos que beneficiam as plantas, incluído a produção de hormônios de crescimento e a fixação biológica de nitrogênio. O *Azospirillum* é a BPCP mais estudada e um dos seus efeitos é o aumento da produção de pelos radiculares e crescimento radicular, contribui com maior absorção de água e nutrientes. Contudo, na cultura da soja, além da inoculação convencional, a coinoculação, com aplicação de *Bradyrhizobium* associado ao *A. brasilense*, é uma técnica que apresenta resultados significativos e está sendo difundida (BÁRBARO et al., 2008; BÁRBARO et al., 2009). Para identificar o potencial produtivo da cultura do feijão associado a inoculação de microrganismos formulou-se a hipótese; a inoculação associada a coinoculação na cultura do feijão tem potencial para aumentar o suprimento de nitrogênio dessa cultura nas condições edafoclimáticas na região do norte pioneiro do Paraná.

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial produtivo e a eficiência nutricional da cultura do feijão comum subtipos preto e carioca em resposta da inoculação associada, coinoculação, e adubação de cobertura, comparado ao manejo convencional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultura do feijão

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*) é uma das principais culturas produzidas no Brasil. Sua importância extrapola o aspecto econômico, por sua relevância enquanto fator de segurança alimentar e nutricional e sua importância cultural na culinária de diversos países e culturas. O feijoeiro-comum é, historicamente, um dos principais alimentos consumidos no Brasil. Somando os três períodos, feijão de primeira, segunda e terceira safra, na safra 2020/2021 foi cultivado uma área de 2.923,2 mil hectares (considerando o feijão-comum cores, o feijão-comum preto e o feijão-caupi) e foram produzidos 2,9 milhões de toneladas, sendo 11,4% inferior ao volume colhido na temporada passada, especialmente pelas oscilações meteorológicas registradas ao longo do ciclo na região sul e na Bahia, o que impactou na produtividade das lavouras (CONAB, 2021).

O segundo tipo mais cultivado e consumido é o feijão preto, comparado ao carioca, tem apresentado maior aceitação nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Rio de Janeiro e Espírito Santo (VIEIRA et al., 2005).

O feijão comum preto é o terceiro mais cultivado durante a segunda safra. Para a temporada 2020/2021 aumentou a área cultivada em relação a 2019/2020, particularmente no sul do país, para o cultivo no período. No Paraná, o expressivo aumento de área visualizado nesse ciclo, impulsionou as estimativas para a presente safra. Ao todo, foram 134,5 mil hectares semeados com o feijão comum preto nesta segunda safra, um aumento de 23% em relação ao total cultivado em 2019/2020. Houve atraso na semeadura o que acarretou em problemas para as lavouras, principalmente por ficarem mais susceptíveis ao estresse hídrico (devido aos menores níveis de precipitação que tradicionalmente ocorre no período de outono/inverno) que acometeu as plantas em fases críticas de seu desenvolvimento (como floração e enchimento de grãos), além de incidência de geadas ao fim do ciclo. Ainda assim, mesmo com a redução estimada para a produtividade média, a produção total foi superior àquela registrada em 2019/2020, alcançando cerca de 153,7 mil toneladas (CONAB,2021).

Fundamental para a segurança alimentar e nutricional, sobretudo para classes mais carentes da população, o feijoeiro comum representa um dos pilares da dieta brasileira (POSSE et al., 2010). Sempre que ocorre aumento de preço do feijão, ressuscita-se a discussão se o feijão perderá espaço na alimentação do brasileiro. A Pesquisa de Orçamento Familiar (POF/2018), do IBGE, aponta que o consumo domiciliar do produto estaria em 142,2 g/dia de feijão.

A coinoculação surge como uma das alternativas para tornar a exploração da cultura do feijão numa prática mais acessível ao produtor rural e o aumento da produção poderá reduzir os custos ao mercado consumidor. Foi reportado um aumento de até 33% na produtividade das lavouras de feijão-caupi, com uso do inoculante comercial (EMBRAPA, 2017).

2.2. Inoculação com bactérias do gênero *Rhizobium*

Diante da importância do N no agrossistema, a prática da adubação trás consequências econômicas e ambientais (HUNGRIA et al., 2001). Todavia, estudos têm sido realizados para reduzir os custos de produção e o impacto ambiental decorrente desta prática, principalmente envolvendo a fixação biológica do nitrogênio (FBN). Foi reportado que a inoculação das sementes de soja com *Bradyrhizobium* aumentou a produtividade de grãos semelhante ao cultivo fertilizado com 200 kg ha⁻¹ de N (ZILLI et al. 2010).

Muitas leguminosas são capazes de estabelecer relação simbiótica com bactérias específicas, denominadas Rizóbios, que estabelecem fixação biológica do nitrogênio (FBN). A FBN é um processo simbiótico pelo qual dois organismos, uma planta leguminosa e bactérias

do gênero *Bradyrhizobium*, constituem órgãos comuns denominados nódulos, onde ambos fornecem substâncias essenciais para a vida. As leguminosas fornecem os carboidratos, açúcares, para a manutenção biológica dos microrganismos, e as bactérias fornecem à planta o N formador das proteínas que é fundamental para os vegetais (ANPII, 2013). De acordo com Malavolta (1987), o feijoeiro consegue fixar de 20 a 30% do nitrogênio que necessita através da fixação biológica, podendo contribuir com 20 a 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). A associação simbiótica entre as raízes do feijão e as bactérias do gênero *Rhizobium* contribuem com boa parte do N que o feijão necessita para produtividade média de aproximadamente 3.000 kg ha⁻¹ (EMBRAPA, 2014). Em geral, a inoculação é feita nas sementes, mas o inoculante pode também ser aplicado no sulco, em dose 2,5 superior à das sementes, para evitar o contato direto das bactérias com fungicidas usados no tratamentos de sementes (HUNGRIA et al., 2013 b). Alguns nutrientes como ferro (Fe) e molibdênio (Mo), e o elemento cobalto (Co), desempenham papel vital no processo da FBN. O Fe participa do complexo nitrogenase, responsável pela fixação do N no nódulo (ROSSI et al., 2012). O Mo atua no metabolismo do N, pois faz parte das enzimas nitrato redutase e nitrogenase (MARSCHNER, 1995). O Co participa da síntese de cobalamina (vitamina B12), que atua nas reações metabólicas para a formação da leghemoglobina (MENGEL; KIRKBY, 2001). Esta proteína regula a concentração de oxigênio nos nódulos e impede a inativação da enzima nitrogenase. As plantas com deficiência de Co, apresentarão menor síntese de vitamina B12 bem como menor FBN, o que pode causar deficiência de N nas plantas. Doses de Co aplicadas no solo ou via foliar podem aumentar a atividade de nitrato redutase em feijoeiro (HALILOVA et al., 2009).

A formação dos nódulos nas raízes tem início logo após a germinação, com a presença do rizóbio no solo ou aderido a semente, composto por três fases como: pré-infecção; infecção e desenvolvimento nodular; e ativação e funcionamento do nódulo (CASSINI; FRANCO, 2006). Na pré-infecção, as raízes projetam substâncias, como carboidratos, aminoácidos, além de compostos fenólicos, atraem o rizóbio até a superfície radicular, fenômeno conhecido como quimiotaxia (STRALIOTTO; TEIXEIRA; MERCANTE, 2002). Essas substâncias atuam na bactéria ativando os genes específicos (genes nod) da nodulação presentes no plasmídeo do rizóbio do feijoeiro. Após ativado os genes nod, o rizóbio começa a produzir uma série de compostos chamados fatores nod, que se comunicam com os pêlos radiculares, modificam sua estrutura e morfologia, facilitam a adesão das células de rizóbios. Depois dessa adesão inicial, o rizóbio dissolve a parede celular do pêlo absorvente modificado e consegue penetrar até as

células corticais e formar uma estrutura especial chamada de cordão de infecção, sendo que no interior dessa estrutura, multiplicam-se as células do rizóbio. Ao atingir a região cortical, o rizóbio passa para o interior das células corticais, adaptando-se à sua nova função de fixação de nitrogênio, e é denominado de bacteróide. Após essa série de eventos, a estrutura nodular formada estará apta a funcionar como um verdadeiro órgão de fixação de nitrogênio. Assim a FBN no feijão ocorrerá cerca de 15 a 20 dias após a emergência das plantas (CASSINI; FRANCO, 2006).

A legislação brasileira de acordo com a Instrução Normativa SDA N° 13, de 24 de março de 2011, exige uma concentração mínima de 1×10^9 células viáveis por grama ou mililitro do produto inoculante. A dose a ser aplicada deve fornecer, no mínimo, 1,2 milhões de células viáveis por semente. Além disso, o volume de inoculante líquido a aplicar não deve ser inferior a 100 ml, sem diluição em água, por 50 kg de semente. Em áreas que não foram inoculadas há vários anos, particularmente em solos arenosos, é recomendável a aplicação de cerca de 6 milhões de células por semente (EMBRAPA, 2013).

2.3. Inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCP de vida livre que é encontrado em diversos lugares na terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER & PEDROSA, 1987; HUERGO et al., 2008). A espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por Beijerinck e, em 1978, foi proposta a sua reclassificação como *Azospirillum*, juntamente com a descrição de duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (TARRAND et al., 1978); hoje estão descritas 14 espécies no gênero.

Bactérias do gênero *Azospirillum* ganharam grande destaque mundialmente a partir da década de 1970 (DÖBEREINER & DAY, 1976; DOBEREINER et al., 1976), com a descoberta pela pesquisadora da Embrapa, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), da capacidade de fixação biológica do nitrogênio dessas bactérias quando em associação com gramíneas. A propriedade de fixar nitrogênio em vida livre foi responsável pela mudança no nome do gênero *Spirillum* (TARRAND et al., 1978), sendo adicionado o prefixo “azo”, alusivo ao nome utilizado por Lavoisier para denominar o elemento nitrogênio. O nitrogênio (N) é reconhecido como um nutriente essencial requerido por todos os organismos vivos e, frequentemente, limita a produção primária em ecossistemas aquáticos e terrestres. Este elemento é necessário em grandes quantidades, uma vez que é componente essencial de proteínas, ácidos nucleicos e de

outros constituintes celulares. As proteínas sozinhas compreendem 60% ou mais do N das plantas e de células microbianas (VIEIRA, 2017).

As bactérias *Azospirillum*, além da FBN, podem produzir compostos promotores de crescimento ou estimular a produção endógena da planta desses compostos (PERRIG et al., 2007), podem proliferar na superfície das raízes e penetrar no vegetal. Citado por Hungria (2011) BPCP correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas. As BPCP podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO et al., 2008), aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008), produção de hormônios como auxinas, citocininas (TIEN et al., 1979), giberelinas (BOTTINI et al., 1989), etileno (STRZELCZYK et al., 1994) e uma variedade de outras 12 moléculas (PERRIG et al., 2007). Neste contexto, plantas de soja com maior nodulação apresentam valores mais elevados de compostos promotores de crescimento vegetal, pois auxinas e citocininas elevam o desempenho dos nódulos (FEI & VESSEY, 2004). Também podem solubilizar fosfato (RODRIGUEZ et al., 2004), e atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008). Vários são os estudos que confirmam que *Azospirillum brasilense* proporcionam um maior crescimento de raízes em diferentes espécies cultivadas. Bárbaro et al. (2009) observaram sistemas radiculares mais desenvolvidos em plantas de soja que receberam inoculação nas sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*.

Resultados de pesquisas recentes comprovaram a efeitos benéficos da coinoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense* na nodulação, e crescimento de plantas leguminosas, especialmente na soja (HUNGRIA et al., 2013a; CHIBEBA et al., 2015, HUNGRIA et al., 2015).

2.4. Coinoculação com *Rhizobium* e *Azospirillum*

Considerando as principais limitações atuais e potenciais da FBN em feijão e os benefícios atribuídos a diversas culturas pela inoculação com *Azospirillum*, observou-se que a coinoculação com ambos organismos pode melhorar o desempenho das culturas, em consonância as demandas atuais de sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental (HUNGRIA et al., 2013b). O *Azospirillum* influencia o crescimento radicular, mas também

pode melhorar a iniciação e o desenvolvimento de nódulos em plantas de soja por coinoculação com *Bradyrhizobium*. (HUNGRIA et al., 2013b).

Devido ao alto custo energético para produção de adubo nitrogenado, são necessários cerca de 1.800 Kcal para fixação de 1 kg de nitrogênio atmosférico, se faz necessário o uso de alternativas que reduzam às perdas de N (VIEIRA, 2014).

2.5. Fertilização nitrogenada no feijão

O feijoeiro é planta exigente e, por ser de ciclo curto, necessita que os nutrientes estejam prontamente disponíveis nos estádios de demanda, para que não haja limitação da produtividade (SILVA e SILVEIRA, 2000). O N é o nutriente absorvido em maiores quantidades pelo feijoeiro e, pelo fato de aproximadamente 50% do N total absorvido ser exportado para os grãos, a sua deficiência é a mais frequente (OLIVEIRA et al., 1996). Esse nutriente tem grande importância, principalmente nas fases de florescimento e enchimentos de grãos, pois, como há vagens e grãos crescendo quase ao mesmo tempo, a demanda por N nessa fase é alta (PORTES, 1996).

O gasto com fertilizantes e corretivos correspondeu na safra de 2019 a 30% do custo total da produção da lavoura de feijão (IFAG, 2019).

Por ser o nutriente mais absorvido e exportado pelas plantas, o N deve ser repostado (SILVA et al., 2000). Entre as deficiências nutricionais que ocorrem na cultura do feijoeiro, a de N é a mais frequente. Calvache & Reichardt (1996) verificaram que a maior absorção de N ocorre na floração e na época de formação de vagens. Portanto, deve-se precisar a dose de N e nas épocas corretas de sua aplicação, de modo a propiciar boa nutrição da planta no momento em que ainda é possível aumentar o número de vagens por planta, ou seja, até o início do florescimento (CARVALHO et al., 2001).

Araújo et al. (1994) verificaram que a adubação nitrogenada em cobertura parcelada, até 30 DAE é vantajosa para a cultura do feijoeiro. Entretanto, o parcelamento nem sempre é a maneira mais rentável para o produtor, pois pode gerar um aumento significativo nos gastos com mão de obra e também provocar uma compactação do solo, devido ao maior tráfego de maquinários na área (GRUPO CULTIVAR, 2015).

Stone & Moreira (2001) verificaram que o número de vagens por planta, massa de 100 sementes e produtividade do feijoeiro responderam a doses de N, aplicados aos 35 DAE, sob o sistema de plantio direto. Constataram ainda que houve aumento na produtividade com o decorrer de vários anos de cultivo com o incremento das doses desse nutriente. Soratto et al.

(2001) avaliando a aplicação de 0, 25, 50, 75 e 100 kg ha⁻¹ constataram que N em cobertura aos 15, 25 e 35 DAE melhorou o desenvolvimento e aumentou a produtividade do feijoeiro irrigado, cultivado em sistema de plantio direto.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área, tratamentos e delineamento experimental

Um experimento de campo foi instalado em área da Estação experimental Luiz Natal Bonin - IAPAR na cidade de Cambará/PR (23°00'S, 50°02'O), com altitude de 431 metros). O clima da região apresenta condição subtropical úmida Cfa (Köppen). A semeadura ocorreu em 27 de outubro de 2021, e a colheita foi realizada no dia 10 de fevereiro de 2022. O controle de pragas foi realizado por meio da aplicação de clorpirifós 1,0 l ha⁻¹ no estágio V4, para controle de plantas daninhas realizou-se e apenas capinas manuais regulares.

O solo da área foi classificado como um latossolo vermelho eutrófico muito argiloso bastante típico da região de acordo com classificação da Embrapa (2015). Na tabela abaixo estão apresentadas as características químicas da área experimental.

Tabela 1 - Caracterização química do solo antes da instalação do experimento na Estação experimental Luiz Natal Bonin - IAPAR na cidade de Cambará/PR.

Profundidade m	M.O g/kg	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K -----	Ca	Mg	Al	H+Al cmol _c dm ⁻³ -----	SB	CTC	V%
0,0-0,10 m	33,6*	5,8	28,6	1,3	4,9	1,5	0,0	4,3	7,7	12	64,4
0,10-0,20 m	30,9	5,8	14,0	1,2	4,9	1,4	0,0	4,2	7,5	11,7	64,1

*Análise realizada de acordo com metodologia de Raij (2001).

O delineamento experimental utilizado na área foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 5, sendo dois subtipos de feijão (preto e carioca) e 5 tratamentos, com 4 repetições. Os tratamentos foram: T1: Sem N e sem inoculação (testemunha); T2: sem inoculante e N em cobertura; T3: Inoculante específico feijão (*Rhizobium tropici*) via semente; T4: Inoculante específico feijão (*Rhizobium tropici*) via semente + coinoculação (*Azospirillum brasilense*) via semente; T5: Inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente; Sendo dos tratamentos de T1 a T5 subtipo carioca, e T6 a T10 subtipo preto. A adubação de semeadura em todos os tratamentos foi de 280 kg ha do formulado (00-18-18) que correspondeu a 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ de K₂O de acordo com as recomendações de (NEPAR/SBCS, 2019). As inoculações padrões

foram realizadas na semente minutos antes da semeadura, utilizando-se inoculante líquido; no tratamento 2 foi utilizado 30 kg/ha de N em cobertura na forma de sulfato de amônio, para evitar a volatilização de N.

Foram utilizadas as cultivares de feijões: IPR Tangará (subtipo carioca), possui alto potencial produtivo, arquitetura ereta que favorece a colheita mecânica, tolerância moderada a seca e elevadas temperaturas, boa qualidade de grãos, flor branca. Hábito de crescimento indeterminado tipo II, ciclo médio de 87 dias. E IPR Tuiuiú (subtipo preto), de ampla adaptação, alto potencial produtivo, porte ereto, possibilitando colheita mecânica. Tolerância intermediária a altas temperaturas e à seca. Flor branca. Hábito de crescimento indeterminado. Ciclo médio de 88 dias. Ambas as cultivares bem adaptadas para a região do norte pioneiro e época do ano que foi implantado os experimentos. Foram utilizados inoculantes seguindo a instrução normativa vigente: IN N° 13”, de 24 de março de 2011, esta IN sugere que o inoculante para leguminosas deve apresentar concentração mínima de $1,0 \times 10^9$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama ou mililitro de produto e ausência de microrganismos não especificados no fator de diluição 1×10^{-5} (MAPA, 2011) e conter uma ou duas das estirpes recomendadas: nesse caso *Rhizobium tropici* SEMIA 4077 (figura 1), para a inoculação com concentração de 2×10^{12} UFC/L e *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 (figura 1) para coinoculação, com concentração de 2×10^8 UFC/L. A inoculação das sementes foi realizada na sombra, imediatamente antes da semeadura.

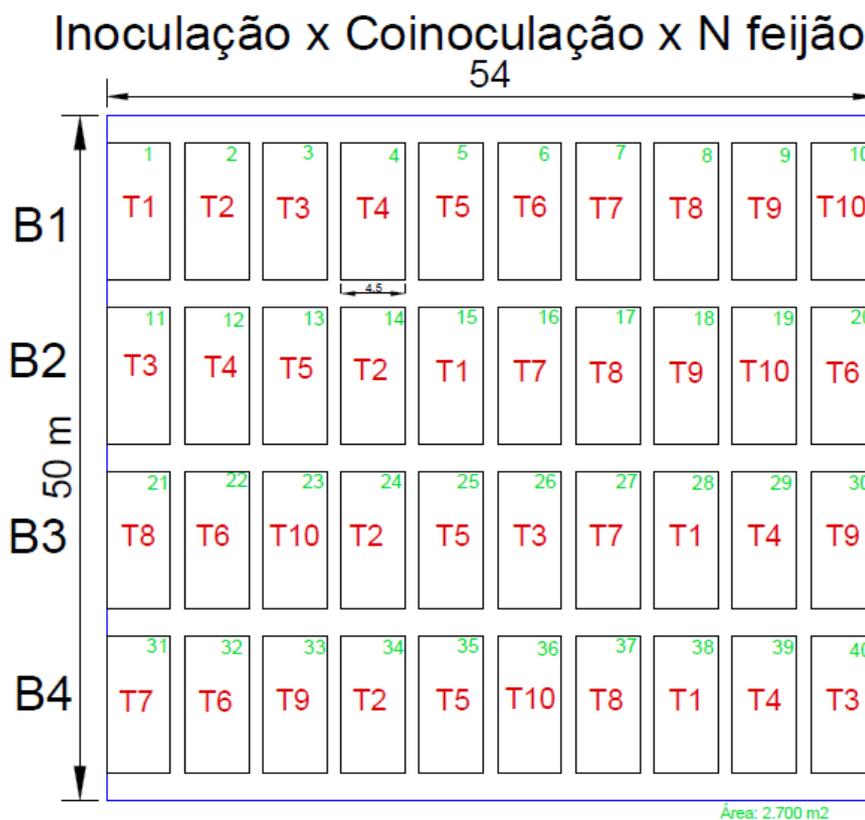
As parcelas foram compostas por 7 linhas de semeadura com 12 metros de comprimento. Foi utilizado o espaçamento de 0,45 m (figura 2).

Figura 1 - Produtos comerciais, a esquerda *Rizospirillum* contendo *Azospirillum brasilense* e a direita da imagem *Rhizotrop* contendo *Rhizobium tropici*.



Foto: Alexandre Paludetto (2021)

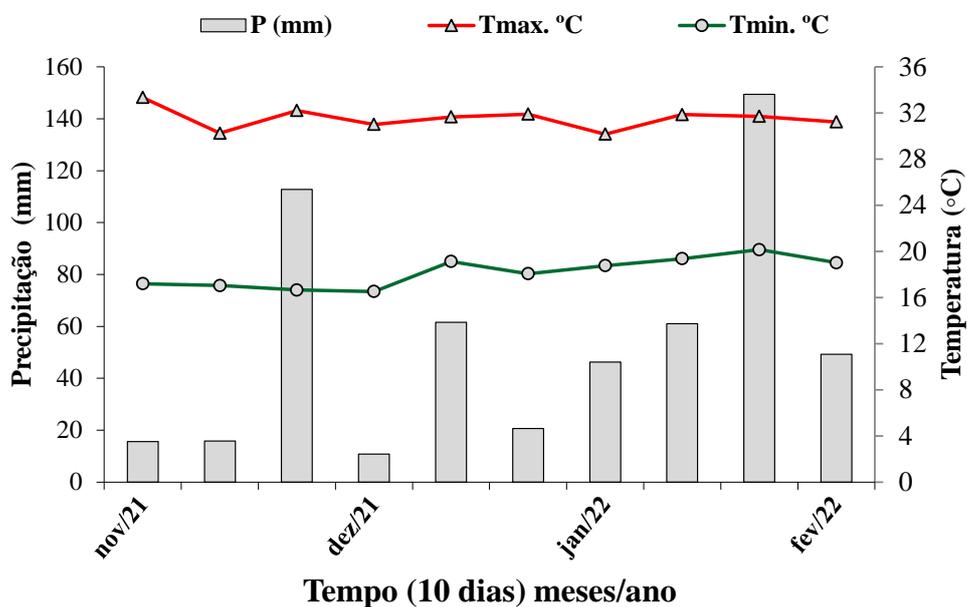
Figura 2 - Croqui com a alocação dos tratamentos e tamanho das parcelas dos experimentos que foram desenvolvidos.



3.2 Caracterização meteorológica

No período de condução do experimento de 01 de novembro de 2021 (germinação) a 10 de fevereiro de 2022 (colheita) foram registrados 543 mm, bem distribuídos ao longo do ciclo, dessa forma proporcionou um bom desenvolvimento da cultura do feijão. As temperaturas máximas e mínimas médias registradas foram de 31,5 e 18 °C, dentro da faixa ideal para um bom desenvolvimento da cultura do feijão (Figura 3).

Figura 3. Pluviosidade, temperaturas máximas e mínimas decendiais durante a realização do experimento da cultura do feijão nov 2021 e fev 2022 em Cambará, Paraná, Brasil.



3.3 Avaliações

3.3.1 Avaliação temporal

Foi realizado avaliação na floração plena (estágio R₅, conforme escala proposta por Embrapa, 2018). (Figura 4) para estimar a quantidade de nódulos presentes nas raízes das plantas, altura das plantas e diâmetro de caule.

Figura 4 - Estádios de desenvolvimento da cultura do feijão.

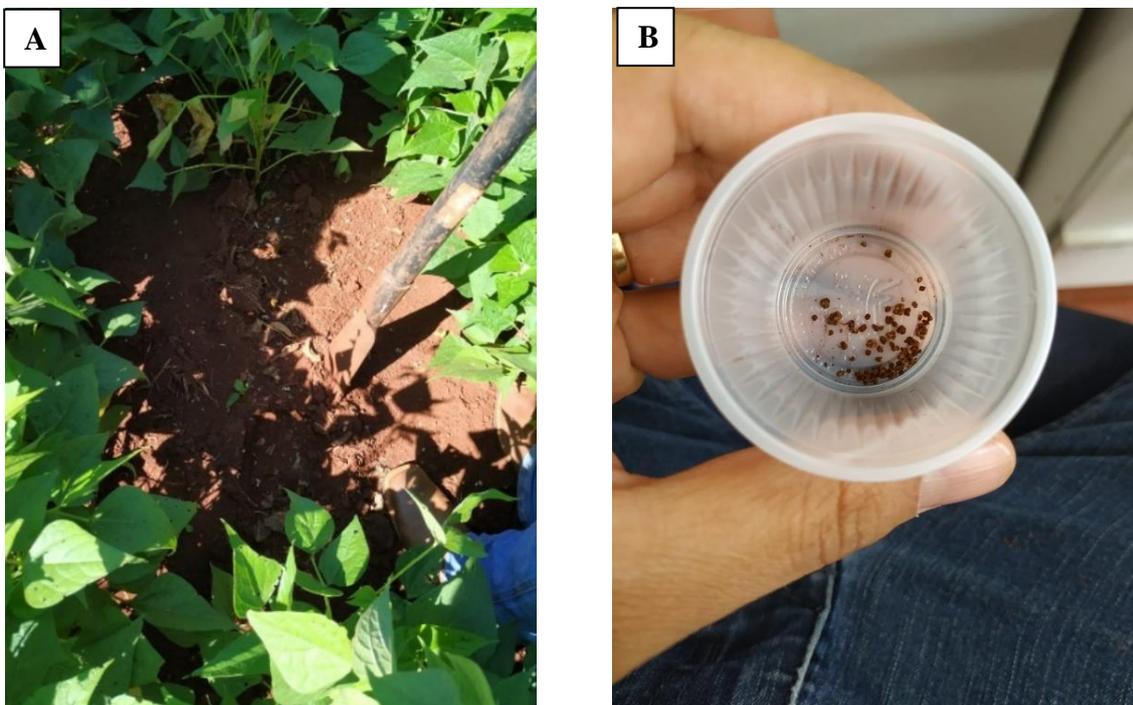


Fonte: Embrapa, 2018

Foram coletados os sistemas radiculares de 5 plantas em sequência por parcela, com o auxílio de uma pá reta (Figura 5A), coletando um monólito de solo de aproximadamente de 20

cm x 30 cm. O material foi lavado e, posteriormente, determinado o número de nódulos por planta, mediante contagem (Figura 5B).

Figura 5 – Utilização de Pá reta na remoção de raízes (A); Nódulos retirados e contados das amostras das parcelas.



Fotos: Alexandre Paludetto (2021)

As raízes coletadas para avaliação de contagem de nódulos, após lavadas (Figura 6A), foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 65 °C, para determinação da massa seca de raízes (MSR). Foi determinado a massa seca da parte aérea (MSPA) dos tratamentos, sendo coletado cinco plantas acondicionado em sacos de papel e levados para estufa (figura 6B). De posse dos resultados de massa seca da raiz e parte aérea, calculou-se a razão massa seca raiz/parte aérea.

Figura 6. Secagem inicial das raízes após remoção e contagem dos nódulos (A) parte aérea da planta passando pelo processo de pesagem (B).

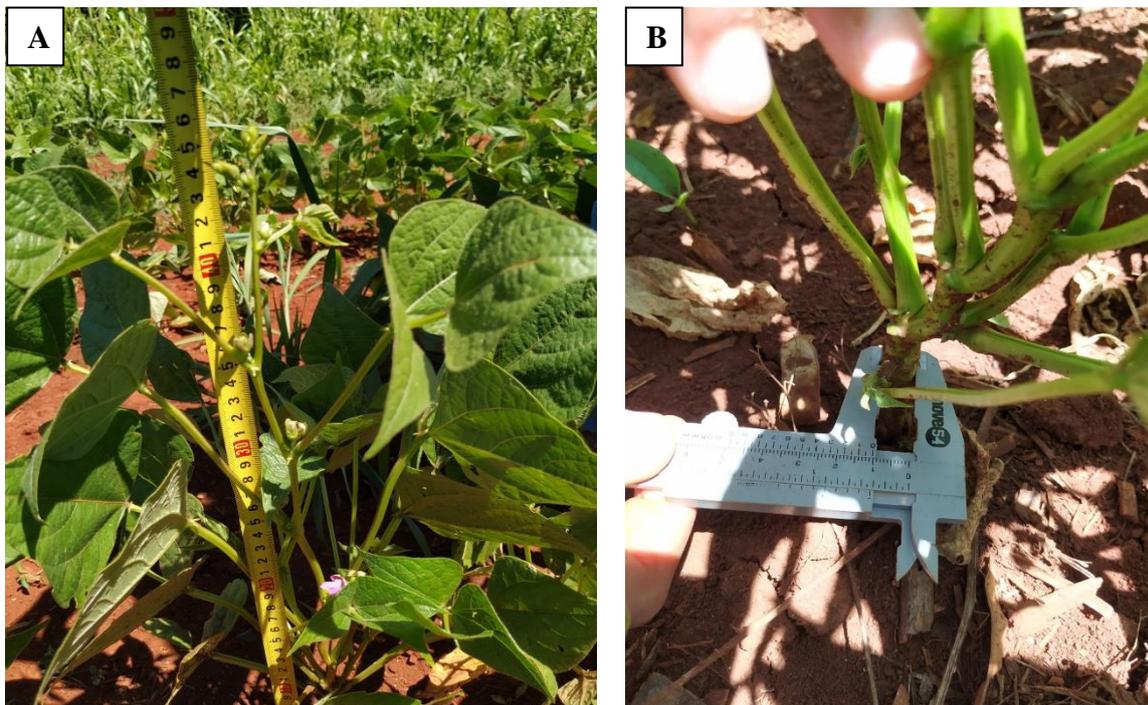


Fotos: Alexandre Paludetto (2021)

O material utilizado para determinação da matéria seca, depois de moído em moinho tipo Wiley, submetido à análise para determinação do teor de macronutrientes (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). Posteriormente, os teores foram multiplicados pela matéria seca para determinar o acúmulo de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S).

Altura das plantas foi quantificada em 10 plantas aleatórias na área central das parcelas, considerando a altura do solo até a inserção do primeiro trifólio completamente expandido (Figura 7A), e a espessura do caule foi estimada por paquímetro (figura 7B). Os parâmetros morfológicos foram avaliados aos 35 DAE em R5, sendo medida a altura das plantas desde a superfície do solo até a última folha.

Figura 7. Medição da altura de plantas nas parcelas (A); determinação do diâmetro do caule das plantas (B).



Fotos: Alexandre Paludetto (2021)

3.3.2 Avaliações do final do ciclo.

No final do ciclo de cultivo nas áreas foram realizadas algumas avaliações para estimar o efeito dos tratamentos em relação a efetividade da inoculação, na produtividade e de alguns componentes de produção.

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

Com os dados de N acumulado nos tratamentos foi estimado a eficiência da adubação nitrogenada (EUN) pela equação descrita abaixo (SIDDIQI & GLASS, 1981); e a eficiência de absorção de nitrogênio (EAN) conforme descrito por Swiader, Chyan e Freiji (1994) o qual considera o conteúdo total de N na planta dividido pela biomassa seca de raízes.

$$EUN = \frac{(Biomassa\ acumulada\ kg\ ha^{-1})^2}{Nitrogênio\ acumulado\ kg\ ha^{-1}}$$

$$EAN = \frac{Nitrogênio\ acumulada\ kg\ ha^{-1}}{biomassa\ de\ raízes\ g\ ha^{-1}}$$

Densidade de plantas: A determinação final foi realizada na véspera da colheita, considerando duas fileiras centrais com comprimento de 3 m em cada unidade experimental.

Massa de mil sementes: Avaliada através da pesagem de duas amostras, de 100 grãos cada uma, que depois foi multiplicado por 5, em cada unidade experimental. Os dados obtidos foram transformados para 13% de umidade (base úmida).

Produtividade de grãos: Para esta avaliação foram colhidas manualmente as plantas contidas na área útil de cada unidade experimental (2,7 m²). Após esta operação, as plantas secaram ao sol e foram posteriormente trilhadas mecanicamente. Após a limpeza os grãos foram pesados para cálculo da produtividade e a umidade foi padronizada em 13%.

Índice de colheita: Obtido pela divisão da produção de grãos pela produção de grãos + Massa seca da parte aérea (MSPA).

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

Produtividade de proteína: O teor de proteína dos grãos foi multiplicado pela produtividade de grãos (matéria seca), para o cálculo da produtividade de proteína.

3.3. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA pelo teste F; quando significativos as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Transformação logarítmica para os dados de raízes e nódulos

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Para o diâmetro de caule das plantas houve interação significativa tratamentos x subtipos de feijão. Na altura, e número de plantas e por hectare verificou-se diferenças entre os tratamentos onde os tratamentos T1 (testemunha) e T2 (N em cobertura) foram superiores aos tratamentos T3 (*Rhizobium*), T4 (*Rhizobium* + *Azospirillum*) e T5 (*Azospirillum*). Não se verificou interação significativa dos tratamentos x subtipos de feijão para altura das plantas, e população de plantas por metro e por ha. Não era esperado maior população, e maior altura das plantas no tratamento testemunha, mas isso não resultou em maior produtividade ao final do experimento (Tabela 2).

Houve diferença significativa entre os dois subtipos de feijão para diâmetro do caule das plantas e população de plantas por metro e por hectare. O subtipo carioca apresentou maior diâmetro do caule das plantas, enquanto que no subtipo preto foi observado maior quantidades de plantas por m e ha (Tabela 2). A altura média das plantas em estágio R5 foi de 31 cm, o diâmetro foi de 0,7 cm, sendo que ao final do experimento foram registradas 181.100 plantas por ha (Tabela 2).

Tabela 2. Variáveis biométricas da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná.

Tratamento	Altura cm	Diâmetro cm	plantas m (linear) Num.	Plantas por ha ⁻¹ Num.
T1 – Testemunha	33,8 a†	0,72	9,3 a	206812 a
T2 – 30 kg N cobertura	32,4 ab	0,69	9,1 a	202630 a
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	30,7 b	0,71	7,0 b	156487 b
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	28,7 b	0,70	7,7 b	171302 b
T5 - <i>Azospirillum</i>	30,8 ab	0,68	7,6 b	168370 b
Feijão Preto	31,2	0,648 b	9,6 a	213717 a
Feijão Carioca	30,9	0,76 a	6,7 b	148523 b
F - Trat	0,03*	ns	0,003**	0,002**
F - Feijão	ns	0,00**	0,00**	0,00**
F – Trat x Feijão	ns	0,32*	ns	ns
CV	9	7	15	15

†Letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%; **T5**: Inoculação de *Azospirillum brasilense*.

*Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo.

Na Tabela 3 estão apresentados os dados do desdobramento da interação significativa do diâmetro de colo da planta dos tratamentos nos subtipos de feijão. Para o subtipo preto não houve uma diferença significativa, por outro lado, no subtipo carioca verificou-se maior diâmetro do colo das plantas no tratamento testemunha (T1) em relação ao T2 (N em cobertura) e T5 (*Azospirillum*) (Tabela 3). Schossler et al., 2016, utilizou de forma isolada a inoculação de *Azospirillum brasiliense*, *Rhizobium tropici* e inoculação mais coinoculação com *Rhizobium tropici* + *Azospirillum brasiliense*, na cultivar IPR Tangará e não verificaram diferenças do diâmetro de haste entre os tratamentos. Igualmente como relatado para altura e população de plantas a diferenças no diâmetro do caule das plantas não correlacionaram com a produtividade da cultura, dessa forma sugere-se que mais plantas por hectare, maior altura ou maior diâmetro do caule não foram bons parâmetros para relacionar com a produtividade de feijão nesse experimento.

Tabela 3. Desdobramento da interação significativa do diâmetro de plantas da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	Diâmetro (cm) - Subtipo Preto	Diâmetro (cm) - Subtipo Carioca
T1 – Testemunha	0,64 a†	0,8 a
T2 – 30 kg N cobertura	0,67 a	0,69 c
T3 – Inoc <i>R. tropici</i>	0,63 a	0,79 a
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	0,63 a	0,78 ab
T5 - <i>Azospirillum</i>	0,65 a	0,72 bc
DMS	0,076	0,076

DMS: diferença mínima significativa; †Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste tukey a 5%.

Não houve interação significativa entre os tratamentos avaliados e os subtipos de feijão, para a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST) e razão massa seca raiz/parte aérea (R/PA) no estágio R₅ (Tabela 4).

Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos para MSPA, MST e R/PA para MSPA a testemunha mais uma vez foi superior aos tratamentos T4 e T5, porém estatisticamente igual a T2 e T3. Esse resultado foi replicado para a MST, corroborou com os resultados das variáveis biométricas onde o tratamento T1 (testemunha) foi o que teve maior número de plantas e maior altura de plantas, o que de certa forma resultou em maior massa seca. Observou-se que o T1 vegetou mais, porém transloucou menos para a formação das vagens e granação.

Em relação a razão massa seca R/PA, o tratamento que obteve melhor desempenho foi T5 65,2%, sendo superior ao T1 (testemunha) 51,3%, porém igual a T2, T3 e T4, era esperado que os tratamentos inoculados principalmente com o *Azospirillum* desenvolvessem maior quantidade de raiz, uma vez que esse efeito é normalmente atribuído a esse microrganismo promoção de crescimento das raízes, por meio da produção de hormônio AIA Acido indol acético (CROZIER et al., 1988).

Houve diferenças entre os subtipos de feijão para MSPA, MSR, MST e R/PA, sendo que o subtipo feijão preto apresentou as maiores médias para as variáveis supracitadas (Tabela 4). Os acúmulos médios de matéria seca nesse experimento foram de 2,5 t ha⁻¹ de MSPA, 1,41 ton ha⁻¹ de MSR, e 3,9 ton ha⁻¹ MST.

Tabela 4. Acúmulo de massa seca da parte aérea (MSPA) de Raiz (MSR), massa seca total (MST) em R5 e massa seca de raiz/parte aérea (R/PA) da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação ou nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	MSPA	MSR t. ha ⁻¹	MST	R/PA %
T1 – Testemunha	2,87 a†	1,51	4,39 a	51,3 b
T2 – 30 kg N cobertura	2,72 ab	1,57	4,30 ab	57,1 ab
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	2,47 ab	1,31	3,78 bc	56,4 ab
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	2,1 c	1,25	3,46 c	53,6 ab
T5 - <i>Azospirillum</i>	2,23 bc	1,41	3,64 bc	65,2 a
Feijão Preto	2,72 a	1,66 a	4,4 a	62,3 a
Feijão Carioca	2,28 b	1,16 b	3,4 b	51,6 b
F - Trat	0,042*	ns	0,00**	0,04*
F - Feijão	0,009**	0,00**	0,05*	0,00**
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns
CV	20	22	18	21

MSPA: acúmulo de massa seca da parte aérea; **MSR:** Acúmulo de massa seca da raiz; **MST:** Acúmulo de massa seca total; **MSR/MSPA:** Razão entre massa seca da raiz e parte aérea; †Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste tukey a 5%; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

O número e massa de nódulos no (pleno florescimento R₅), não houve diferenças entre os tratamentos. Houve uma diferença no teste de médias para o número de nódulos, sendo que

se verificou diferença sendo T3 com uma maior nodulação quando comparado a testemunha, mas igual ao T2, T4 e T5. O tratamento em questão foi capaz de atingir 23,16 por planta, e totalizando 3,62 milhões de nódulos por ha⁻¹ enquanto o T1 (sem inoculação) recebeu 7,4 nódulos por planta, totalizando 1,53 milhões de nódulos por ha⁻¹, sendo que segundo dados da Epagri, (2012), para se identificar a eficiência da planta, é necessário observar o número e tamanho dos nódulos, os quais são a presença de 4 a 6 nódulos, com 2 a 4 mm de diâmetro cada, situados na região da coroa da planta ou mais de 20 nódulos por planta. (Tabela 4).

Verificou-se que mesmo quando não receberam inoculação, as cultivares de feijão subtipos Carioca e Preto também desenvolveram nódulos. Pelegrin et al. (2009) também observaram que a nodulação nas plantas de feijão que não receberam inoculante foi similar à dos que receberam, o que evidenciou uma população nativa de rizóbios no solo. Com base no histórico da área em que foi desenvolvido o experimento, a qual tem histórico de cultivo com outras leguminosas como plantas de cobertura a saber o feijão guandu (*Cajanus cajan*), houve influência de microrganismos nativos do solo que contribuíram para o fornecimento de N para os tratamentos T1 e T2.

O Índice de colheita é um bom parâmetro para medir a eficiência da planta na produção de grãos; Maior IC significa maior eficiência na translocação dos produtos da fotossíntese para as partes economicamente importantes da planta e, conseqüentemente, incremento na produtividade de grãos (FAGERIA e SANTOS, 2008). O estudo evidenciou IC menor que 50% na cultura do feijão, não houve interação significativa entre os subtipos de feijão x tratamentos, e não houve diferença significativa entre os dois subtipos de feijão. Os tratamentos diferiram significativamente, sendo T4 inoculação + coinoculação superior a T1 testemunha, mas ambos iguais a T2, T3 e T5.

A massa de mil sementes não apresentou interação significativa de subtipos de feijão x tratamentos para massa de mil sementes, no entanto houve diferença significativa entre os tratamentos e também entre os subtipos de feijão (Tabela 5). Maior massa de mil sementes foi observado nos tratamentos T1, T2 e T4 sendo superiores a T3 e T5 com a aplicação de microrganismos de forma isolada. Em relação aos subtipos de feijão, o carioca apresentou maior massa de mil sementes sendo 26% superior ao subtipo preto. Foi quantificada massa de mil sementes de 231 g para o subtipo preto e 291 g para o subtipo carioca. Arf et al. (2008) ressaltam que a massa de sementes é uma variável que pode ser influenciada não só pelo tratamento, mas também pela característica de cultivar escolhida.

Tabela 5. Nodulação e massa de mil sementes (MMS) da cultura do feijão subtipos preto e carioca submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	Nódulos N° plantas ⁻¹	Massa Nod. g	IC %	MMS g
T1 – Testemunha	7,4 b†	0.0226	34,1 b	271,7 a
T2 – 30 kg N cobertura	17,28 ab	0.0364	40,8 ab	272,1 a
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	23,16 a	0.0591	39,8 ab	246,7 b
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	10,5 ab	0.0267	49,6 a	269,3 a
T5 - <i>Azospirillum</i>	15,2 ab	0.0470	46,8 ab	249,0 b
Feijão Preto	16,7	0.0320	40,0 a	231,6 b
Feijão Carioca	12,7	0.0447	44,5 a	291,9 a
F - Trat	ns	ns	0,00**	0,024*
F - Feijão	ns	ns	ns	0,00**
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns
CV	93,2	92,5	18,8	7,5

Nódulos: Numero de nódulos em 5 plantas; **Massa Nod:** Peso de nódulos em 5 plantas; **IC:** índice de colheita razão massa de grãos/MSPA; **MMS:** Massa de mil sementes; †Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

A produtividade diferiu entre os subtipos de feijão. Não houve diferenças entre os subtipos de feijão, sendo que em ambos a média de produtividade média foi cerca de 1800 kg/ha⁻¹, dentro da média do estado que é de 2014 kg ha⁻¹ (CONAB,2022). Cabe ressaltar que a região estudada não tem por tradição utilizar feijão na safra principal, nem mesmo na safrinha, porém considerando o preço da saca desse produto R\$ 285,00 e o rendimento obtido, o feijão pode tornar-se bem atrativo para os produtores da região.

A eficiência de utilização e N (EUN), eficiência de absorção de N (EAN), teor de proteína bruta nos grãos, e acúmulo de proteína bruta por hectare, não apresentou interação, no entanto houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6). Maior acúmulo de proteína bruta por hectare foi observado nos tratamentos T4 com aplicação da coinoculação sendo superiores a T3 e T1 testemunha, porém estatisticamente igual ao T2 e T5. Em relação aos subtipos de feijão, o carioca apresentou maior eficiência de absorção de N (EAN), apresentando 11,3 kg de N absorvido por kg de massa seca de raiz, enquanto que para o subtipo carioca apresentou 8,5 kg de N absorvido por kg de massa seca de raiz. Segundo Gomes Júnior

et al., (2010) há relação positiva entre a adubação nitrogenada e o acúmulo de proteínas na semente de feijão, onde plantas adubadas com altas doses de N produziram sementes com maior teor de proteínas em relação às plantas adubadas com baixas doses deste nutriente. Os resultados evidenciam que a coinoculação pode aumentar a absorção e exportação N para os grãos na cultura do feijão.

Os valores médios de Eficiência de uso de N (EUN) nos dois subtipos de feijão, entre 31 e 33 kg de massa seca por kg de N acumulado corroboram com os apresentados por SANTOS e FAGERIA, (2008), no entanto não verificou-se diferenças significativa entres os subtipos, e os tratamentos, novamente reforçando a importância de avaliar criteriosamente a necessidade de aplicação de N em cobertura frente a inoculação de organismos nas condições do norte do Paraná.

Tabela 6. Produtividade, eficiência de utilização de N (EUN), eficiência de absorção de N (EAN), teor de proteína bruta nos grãos, e acúmulo de proteína bruta por hectare da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	Produtividade Kg ha ⁻¹	EUN kg kg ⁻¹	EAN kg kg ⁻¹	Proteína %	Proteína ha ⁻¹ Kg ha ⁻¹
T1 – Testemunha	1436,8 b †	33,3	9,1	20,2	288,8 b
T2 – 30kg N cobertura	1913,8 ab	32,6	10,2	20,4	390,5 ab
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	1531,9 b	33,8	9,8	20,1	304,2 b
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	2162,5 a	31,4	11,5	20,9	452,2 a
T5 - <i>Azospirillum</i>	1680,5 ab	32,5	8,7	20,1	344,9 ab
Feijão Preto	1731,1 a	33,0	8,5 b	20,0	346,9 a
Feijão Carioca	1759,2 a	32,4	11,3 a	20,7	365,3 a
F - Trat	0,03**	ns	0,00**	ns	0,02*
F - Feijão	ns	ns	ns	ns	ns
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns	ns
CV	27	10	18	8	29

EUN: Eficiência de utilização de N kg de massa seca por kg de N acumulado; **EAN:** Eficiência de absorção de N kg de N absorvido por kg de massa seca de raiz; **Proteína:** Teor de proteína bruta nos grãos de feijão; **Proteína ha⁻¹:** Acúmulo de proteína por hectare; †Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

Em relação aos tratamentos a melhor produtividade foi obtida no T4 sendo composto pela inoculação + coinoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* respectivamente, sendo superior ao T1 testemunha e T3 somente *Rhizobium tropici* para o subtipo preto e superior a testemunha e T3 para o subtipo carioca. O aumento de produtividade do T4 em relação ao T1 foi de 33%.

A inoculação isolada com *Rhizobium* ou *Azospirillum* não proporcionaram ganho de produtividade significativo comparado ao T1 controle. Tendo em vista os resultados obtidos em relação a produtividade e a EUN, a inoculação com a combinação de *Rhizobium tropici* + *Azospirillum brasilense* no tratamento T4, promivido crescimento das plantas nesse tratamento, uma vez que não houve maior EUN em T4.

Já para Hungria et al. (2012), a inoculação das sementes de feijoeiro-comum com *R. tropici* aumentou a produtividade da cultura, em média de 98 kg ha⁻¹ (8,3%), enquanto a coinoculação com *A. brasilense*, no sulco, resultou em incremento médio de 285 kg/ha (19,6%). E para Souza (2015), a coinoculação da semente com duas doses de *R. tropici* e aplicação de três doses de *A. brasilense* via pulverização, aumentou a produtividade em 5% em relação ao tratamento fertilizado e de 15% em relação ao tratamento com inoculação simples de *R. tropici*.

O Acúmulo de macronutrientes na biomassa da parte aérea da cultura do feijão, diferiu entre os subtipos de feijão para N, P e Ca, e diferiu entre os tratamentos para K (Tabela 7). Maior acúmulo de N, P, e Ca, ocorreram pelo subtipo preto, no entanto esse fato pode estar associado a maior produção de massa seca desse subtipo. No acúmulo de K, os tratamentos T1 e T2 apresentaram médias superiores ao T5, porém estatisticamente iguais ai T3 e T4. A ordem de extração de macronutrientes na parte aérea dos subtipos de feijão foram N>K>Ca>Mg>P>S, sendo os valores médios acumulados respectivamente 76,6; 66; 56,6; 10, 8; 5,8 e 4,2 kg ha⁻¹. Araújo e Teixeira (2008) não constataram correlações significativas entre acúmulo de N na parte aérea no florescimento pleno em R6 com a produção de grãos e palha, Tais resultados confirmam que o feijoeiro é capaz de ter altas taxas de absorção de N mesmo na fase reprodutiva. Enquanto que Fageria et al. (2013) verificaram que o N acumulado nos resíduos e nos grãos variam em função dos genótipos. Possivelmente, a diferença de subtipos e diferença de ciclo da cultura entre localidades ou os tratamentos propostos neste trabalho, pode ter afetado os macronutrientes nos subtipos de feijão, assim sendo necessários mais estudos sobre o assunto.

Tabela 7. Acúmulo de macronutrientes na biomassa da parte aérea da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
T1 – Testemunha	89,8	7,0	77,9 a†	67,3	12,5	5,5
T2 – 30 kg N cobertura	81,0	6,3	79,8 a	58,9	13,5	4,5
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	72,3	5,4	60,1 ab	52,7	9,6	3,7
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	67,7	5,0	52,9 ab	50,4	9,0	3,5
T5 - <i>Azospirillum</i>	72,1	5,5	59,2 b	53,7	9,8	3,9
Feijão Preto	84,3 a	6,4 a	71,8	64,7 a	11,6	4,5
Feijão Carioca	68,8 b	5,3 b	60,2	48,5 b	10,2	3,9
F - Trat	ns	ns	0,04*	ns	ns	ns
F - Feijão	0,04*	0,049*	ns	0,00**	ns	ns
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV	29	29	30	24	38	40

†Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

Maior acúmulo de N, K e Mg, ocorreram pelo subtipo preto. Para o acúmulo de K, repetindo o comportamento do acúmulo de K na PA, houve diferença entre os tratamentos, sendo observada a maior extração desse elemento no tratamento T5, em comparação ao T3 e T4, porém não diferindo de T1 e T2. A ordem de extração de nutrientes média nas raízes foi diferente ao da parte aérea K>N>Ca>S>Mg>P, sendo maior a extração de K em relação a N e maior a extração de S em relação ao Mg e P, sendo os valores médios acumulados respectivamente 16,6; 15,5; 7,6; 3,1; 1,9 e 0,9 kg ha⁻¹. O Acúmulo de macronutrientes na raiz da cultura do feijão, não apresentou interação significativa entre os tratamentos, no entanto houve diferença significativa entre os subtipos de feijão, para N, K Ca e Mg (Tabela 8).

Tabela 8. Acúmulo de macronutrientes na raiz da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- Kg ha ⁻¹ -----					
T1 – Testemunha	17,2	1,1	19,0 ab †	8,7	2,4	3,4
T2 – 30 kg N cobertura	17,5	1,0	16,8 ab	7,9	2,0	3,6
T3 – Inoc <i>R. topic</i>	13,5	0,7	12,2 b	5,9	1,6	2,8
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	12,8	0,7	12,0 b	6,0	1,5	2,7
T5 - <i>Azospirillum</i>	16,7	1,1	23,1 a	9,2	2,2	3,3
Feijão Preto	17,9 a	1,0	20,5 a	8,4 a	2,4 a	3,5
Feijão Carioca	13,1 b	0,9	12,8 b	6,7 a	1,4 b	2,8
F - Trat	ns	ns	0,00**	ns	ns	ns
F - Feijão	0,00**	ns	0,00**	ns	ns	ns
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV	30	46	49	38	44	23

†Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

Houve diferença significativa entre os tratamentos para N, P, K, Mg e S. O tratamento T4 Inoculação de *Rhizobium tropici* + *Azospirillum brasilense*, sendo superior ao demais tratamentos (Tabela 9). A relação entre a produtividade de grãos e a acumulação de N, P e K nos grãos é linear e aumenta com o aumento na produtividade. A ordem de acúmulo médio de nutrientes nos grãos nos tratamentos e subtipos de feijão foi N>K>P>S>Ca>Mg, sendo os valores respectivamente 57; 24,3; 6,4; 4,5; 3,5 e 3,2 kg ha. O Acúmulo de macronutrientes nos grãos da cultura do feijão, não apresentou interação significativa entre subtipos de feijão e os tratamentos.

Se considerar a extração total de nutrientes considerando parte aérea, raiz e grãos obtivemos a seguinte ordem de extração média entre os tratamentos N>K>Ca>Mg>P>S com valores respectivamente de 149,1; 106,8; 67,7; 16,0; 13,2 e 11,9 kg ha⁻¹. Importante para o balanço de nutrientes no solo, calculou-se o coeficiente de exportação dos macronutrientes, ou seja a quantidade de nutrientes acumulado nos grãos dividido pelo total absorvido pela cultura, verificamos que o P é o nutriente com o maior coeficiente 0,48, seguido do N 0,38 e S 0,377, na sequencia vem K com 0,22, Mg com 0,20 por fim o Ca, que devido a sua baixa mobilidade de translocação apresentou um coeficiente de exportação de apenas 0,05.

Do ponto de vista de reciclagem de nutrientes, o N é um macronutriente muito exportado pelos grãos, por ser componente estrutural do RNA e DNA além de ser precursor básico de proteínas, dessa forma importante ajustar seu manejo de adubação, igualmente para o P macronutriente com o maior coeficiente de exportação.

Tabela 9. Acúmulo de macronutrientes nos grãos da cultura do feijão subtipos carioca e preto submetidos a inoculação, coinoculação e nitrogênio em cobertura em Cambará, Paraná, Brasil.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
T1 – Testemunha	46,2 b†	5,2 c	19,2 b	2,7	2,5 c	3,7 c
T2 – 30 kg N cobertura	62,5 ab	7,1 ab	24,7 b	3,4	3,6 ab	5,2 ab
T3 – Inoc <i>R. topici</i>	48,7 b	5,5 bc	21,7 b	3,2	2,9 bc	3,6 c
T4 – <i>R. trop</i> + <i>Azo</i>	72,3 a	8,0 a	32,5 a	4,7	4,1 a	5,7 a
T5 - <i>Azospirillum</i>	55,2 ab	6,1 bc	23,2 b	3,6	3,1 bc	4,1 bc
Feijão Preto	55,5	6,0	25,0	3,8	3,3	4,3
Feijão Carioca	58,5	6,6	23,5	3,3	3,1	4,6
F - Trat	0,07*	0,00**	0,01*	ns	0,01*	0,01*
F - Feijão	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F – Trat x Feijão	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV	29	27	31	42	27	31

†Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; *Significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo. CV: coeficiente de variação.

5. CONCLUSÕES

A inoculação associada a coinoculação não melhorou os parâmetros biométricos da cultura como diâmetro do caule e altura, porém gerou um aumento de produtividade de 33% comparado ao tratamento testemunha.

Os *Rhizobium* nativos do solo proporcionaram nodulação em tratamentos não inoculados, dessa forma produziu um desempenho melhor que o esperado no tratamento controle para as variáveis biométricas, massa seca da planta e massa de mil sementes.

O índice de colheita médio obtido no experimento foi de 42%, dentro do esperado para a cultura do feijão.

A eficiência de utilização de N (EUN), e a eficiência de absorção do N (EAN) não foram influenciadas pelos tratamentos e subtipos de feijão, conseqüentemente associa-se os ganhos de produtividade do tratamento T4 que foi a aplicação conjunta de microorganismos ao efeito de promoção de crescimento;

A ordem de acúmulo médio de nutrientes na parte aérea, raiz e grãos nos tratamentos e subtipos de feijão foi N>K>Ca>Mg>P>S, por outro lado o coeficiente de exportação foi maior para P>N>S>K>Mg>Ca.

Conclui-se que o tratamento T4 que foi a aplicação conjunta de microorganismos, seria o tratamento recomendado para utilização a campo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura do feijão tem uma grande importância para os brasileiros, sendo a fonte de proteína vegetal mais consumida, principalmente na classe mais pobre da população. Melhorar a produtividade dessa cultura ou baixar o custo de produção pode impactar diretamente no custo final desse alimento para o consumidor.

O trabalho buscou avaliar se a aplicação de microrganismos pode suprir a demanda nutricional de N da cultura para a região do norte pioneiro do Paraná, dessa forma reduzindo o custo de produção desse alimento, particularmente importante nesse momento onde ocorre aumento do preço dos fertilizantes em função da guerra entre Rússia e Ucrânia.

De acordo com levantamento de preço dos inoculantes, o custo do inoculante *Rhizobium tropici* é cerca de R\$ 6,20 /ha e do *Azospirillum brasilense* de R\$ 15,00/ha, considerando a aplicação conjunta gera um investimento de R\$ 21,20 reais por hectare, muito abaixo do custo com fertilizante nitrogenado que foi de 400 reais/ha.

Considerando que historicamente a cultura do feijão está bastante vinculada a agricultura familiar, que normalmente tem menor capacidade de investimento para a implantação da lavoura, nosso estudo para as condições do norte do Paraná sugere que a aplicação conjunta de microrganismos foi capaz de igualar e até superar a produtividade do tratamento com utilização de N em cobertura, com um custo mais baixo.

Novos estudos devem ser realizados para a região, com diferentes cultivares, outros tipos de solos, para assim comprovar efetivamente que a inoculação e coinoculação de microrganismos como uma estratégia sustentável para a produção de feijão no norte pioneiro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANPII - Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes. **Fixação Biológica do Nitrogênio na cultura de soja.** Disponível em: <<http://www.anpii.org.br/fixacao-biologica-do-nitrogenio-na-cultura-de-soja/>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

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

ARAÚJO A. P.; TEIXEIRA, M. G. Relationships between grain yield and accumulation of biomass, nitrogen and phosphorus in common bean cultivars. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, 1977-1986, 2008.

ARAÚJO, G.A.A.; VIEIRA, C.; MIRANDA, G.V. **Efeito da época de aplicação do adubo nitrogenado em cobertura sobre o rendimento do feijão, no período de outono-inverno.** Revista Ceres, v.41, p.442-450, 1994.

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

BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com Azospirillum e Bradyrhizobium visando incremento de produtividade.** Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm> Acesso em: 15 de mar. 2022.

BARBOSA FILHO M. P; COBUCCI T.; FAGERIA N. K. Época de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado monitorada com auxílio de sensor portátil. **Ciências Agro técnicas**, v. 33, 425-431, 2009.

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

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 13, DE 24 DE MARÇO DE 2011.** Diário Oficial da União – Seção 1. 6 ISSN 1677-7042 -Nº 58, sexta-feira, 25 de março de 2011.

CALVACHE, A.M.; REICHARDT, K. Efeito de épocas de deficiência hídrica na eficiência do uso do nitrogênio da cultura do feijão cv. Imbabello. **Scientia Agricola**, v.53, p.342-353, 1996.

CARVALHO, M.A.C.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; SANTOS, N.C.B.; BASSAN, D.A. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.617-624, 2001.

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

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. **Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos**. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). Feijão. 2ª ed. Viçosa, MG: UFV, p. 255- 301,2006.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 1641-1649, 2015.

COMISSÃO técnica sul-brasileira de feijão. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. Florianópolis, 2ºed. Epagri, p.157, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **5º Levantamento da safra brasileira de grãos**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-de-conjunturas-de-feijao/item/download/30786_b0472d82513fdb16e706aa41b021ecb5> Acesso em: 15 de mar. 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **8º. Levantamento da safra brasileira de grãos 2017/2018**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 12 décimo segundo levantamento, setembro. 2021.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. **Azospirillum brasilense-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities**. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I.

(Ed.) **Azospirillum sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indóis in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2833-2837, 1988.

DIARIO DAS LEIS. **Instrução Normativa Nº 13, de 24/03/2011**. Disponível em: <<https://www.diariodasleis.com.br/legislacao/federal/216614-normas-sobre-especificacoes-garantias-registro-embalagem-e-rotulagem-dos-inoculantes-destinados-u-agricultura-aprovar-as-normas-sobre-especificacoes-garantias-registro-emb.html>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

DÖBEREINER, J.; DAY, J.M. **Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites**. In: NEWTON W.E.; NYMAN, C.T. (Ed.) INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, vol. 2. **Proceedings...** Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. p.518-538.

DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v.22, p.1464–1473, 1976.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants**. Science Tech, Springer Verlag, Madison, USA, p. 1-155. (Brock/Springer series in contemporary bioscience), 1987.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Benefícios da coinoculação na cultura do feijoeiro**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/19745575/beneficios-da-coinoculacao-na-cultura-do-feijoeiro>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2009-2011**. Disponível em: <https://www.cnpaf.embrapa.br/transferencia/informacoestecnicas/19ctcbf/19ctcbf_livrocompleto.pdf> Acesso em: 15 de mar. 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Inoculante feito na propriedade rural aumenta produtividade de feijão-caupi em até 33%**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/26033659/inoculante-feito-na->

propriedade-rural-aumenta-produtividade-de-feijao-caupi-em-ate-33> Acesso em: 15 de mar. 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Pulverização de micronutrientes nas folhas da soja aumenta a produtividade.** Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/7077483/pulverizacao-de-micronutrientes-nas-folhas-da-soja-aumenta-a-produtividade>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de Produção de Soja – Região Central do Brasil 2014.** Londrina: Embrapa, 2013. 265 p. (Sistemas de produção, 16).

FAGERIA NK, MELO LC, OLIVEIRA J (2013). Nitrogen use efficiency in dry bean genotypes. **Journal of Plant Nutrition** 36:2179-2190.

FAGERIA, N. K.; SANTOS, A. B. dos. Yield physiology of dry bean. **Journal of Plant Nutrition**, v.31, p.983-1004, 2008

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

FAOSTAT. **Crops.** Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

FEI, H.; VESSEY J. K. Further investigation of the roles of auxin and cytokinin in the NH_4^+ - induced stimulation of nodulation using white clover transformed with the auxin-sensitive reporter GH3:gusA. 121, 674-681, 2004.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (Glycine max) con Bradyrhizobium japonicum y Azospirillum brasilense.** Artículos Técnicos – Agricultura. 2006.

GOMES JUNIOR, F.G; SÁ, E.M. Proteína e qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em função da adubação nitrogenada em plantio direto. **Revista Brasileira de Sementes.** v. 32(1): 034- 044, 2010.

GRUPO CULTIVAR. **Perdas de nitrogênio com o uso de fertilizante nitrogenado de liberação controlada na cultura do café.** Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/artigos/perdas-de-nitrogenio-com-o-uso-de-fertilizante-nitrogenado-de-liberacao-controlada-na-cultura-do-cafe>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

HALILOVA, H.; SÖZÜDOGRU, S.; TABAN, S. Effects of Cobalt on Some Physiological Parameters of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 3307–3309, 2009.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense***. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: **inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2011, p. 14-37 (EMBRAPA SOJA. Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Documentos, 283)

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. **Efeitos da coinoculação**. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, v. 170, n. 1, p. 40-41, 2013.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 811-817, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. **Testes de eficiência agrônômica da tecnologia de coinoculação de rizóbios e *Azospirillum* em soja e feijoeiro**. In: ANAIS DA XVI REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES MICROBIANOS DE INTERESSE AGRÍCOLA (RELARE). 2012, Londrina. Resumos [...] Londrina: [s. n.], 2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **IBGE prevê safra recorde de grãos em 2020**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/26537-ibge-preve-safra-recorde-de-graos-em-2020>> Acesso em: 15 de mar. 2022.

IFAG. Instituto para o Fortalecimento da Agropecuária de Goiás. **Estimativa de Custo de Produção - Feijão Sequeiro JAN19 S.A. ed Goiás 2019**.

KANEKO, F.; ARF, O.; GITTI, D.; ARF, M.; FERREIRA, J.; BUZETTI, S. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Biota Neotropica**, v. 69, 1 jan 2010.

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

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

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press, 1995. 889p.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 5 ed., p. 849p, 2001.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M., PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and I in laboratory systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 457-463, 2001.

NÚCLEO ESTADUAL DO PARANÁ (NEPAR). **Manual de adubação e calagem para o Estado do Paraná**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS)/NEPAR, 2019. 482. p.

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

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 Ciência do Solo**, v. 33, 219-226, 2009.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.75, p.1143-1150, 2007.

POF 2017-2018: **Brasileiro ainda mantém dieta à base de arroz e feijão, mas consumo de frutas e legumes é abaixo do esperado.** Agencia IBGE notícias. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/28646-pof-2017-2018-brasileiro-ainda-mantem-dieta-a-base-de-arroz-e-feijao-mas-consumo-de-frutas-e-legumes-e-abaixo-do-esperado>>. Acesso em 12 de Julho 2022.

PORTES, T.A. Ecofisiologia. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. (Coords.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. p.101- 137.

POSSE, S. C. P.; RIVA-SOUZA, E. M.; SILVA, G. M. da; FASOLO, L. M.; SILVA, M. B. da; ROCHA, M. A. M. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região centralbrasileira: 2009-2011**. Vitória, ES: Incaper, 2010, 245 p. (Incaper. Documentos, 191).

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

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

ROSSI, R. L.; SILVA, T. R. B.; TRUGILO, D. P.; REIS, A. C. S.; FARIAS, C. M. Q. Adubação foliar com molibdênio na cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 1, n. 1, p. 12–23, 2012.

SANTOS, A. B. DOS; FAGERIA, N. K. Características fisiológicas do feijoeiro em várzeas tropicais afetadas por doses e manejo de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.23- 31, 2008.

SCHOSSLER, J. H.; MERT, L.; RIZZARDI, D. A.; MICHALOVICZ, L. Componentes de rendimento e produtividade do feijoeiro comum submetido à inoculação e coinoculação com

estirpes de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 10 -15, 2016.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.4, n.3, p.289-302, 1981.

SILVA, C. C.; SILVEIRA, P. M. **Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada de cobertura**. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 86-96, 2000.

SILVA, T.R.B.; SORATTO, R.P.; CHIDI, S.N.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. **Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro de inverno**. Cultura Agronômica, v.9, p.1-17, 2000.

SORATTO, R.P.; SILVA, T.R.B.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C. **Níveis e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura no feijoeiro irrigado em plantio direto**. Cultura Agronômica, v.10, p.89-99, 2001.

SOUZA, J. E. B. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* no feijoeiro- comum visando aumento de produtividade e redução de custo de produção**. 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado em Solo e Água) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

STONE, L.F.; MOREIRA, J.A.A. Resposta do feijoeiro ao nitrogênio em cobertura, sob diferentes lâminas de irrigação e preparos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.473-481, 2001.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G.; MERCANTE, F.M. Fixação biológica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F. (Ed.). **Produção do feijoeiro-comum em várzeas tropicais**. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, p.121-153, 2002.

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

SWIADER, J.M.; CHYAN, Y. & FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, 17:1687-1699, 1994.

TARRAND, J.J.; KRIEG, N R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the Spirillum lipoferum group, with descriptions of a new genus, Azospirillum gen. nov. and two species, Azospirillum lipoferum (Beijerinck) comb. nov. and Azospirillum brasilense sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, p.967-980, 1978.

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

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S. Melhoramento do feijão. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005.

VIEIRA, Rosana Faria. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas** / Rosana Faria Vieira.- Brasília, DF : Embrapa, 2017

VIEIRA, Rosana Faria. **Inoculação do feijoeiro (phaseolus vulgaris l.) Com bactérias promotoras de crescimento de plantas**, 2014. Disponível em <https://www.cnpma.embrapa.br/anais/forum/resumos/RE024.pdf>>. Acesso em: 05, maio de 2022.

VILLAS BOAS, R. L.; BOARETTO, A. E.; BULL, L. T.; GUERRINI, I. A. Parcelamento e largura da faixa de aplicação da uréia na recuperação do nitrogênio pela planta de milho. **Scientia Agrícola**, vol.56, n.4, 1999.

ZILLI, J. E.; SMIDERLE, O. J.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. Eficiência agronômica de diferentes formulações de inoculantes contendo Bradyrhizobium na cultura da soja em Roraima. **Revista Agro@mbiente On-Line**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 56-61, dec. 2010.