

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**  
**PRÓ REITORIA DE GRADUAÇÃO**  
**ESCOLA POLITÉCNICA E DE ARTES**  
**GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**GABRIEL AUGUSTO DE VILLA LELLIS**

**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* (RHIZOBIALES:  
RHIZOBIACEAE) E *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* (RHODOSPIRILLALES:  
AZOSPIRILLACEAE), ASSOCIADA À APLICAÇÃO DE COBALTO  
E MOLIBDÊNIO, NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO FEJJOEIRO  
(*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

**Goiânia**

**2025**

**GABRIEL AUGUSTO DE VILLA LELLIS**

**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* (RHIZOBIALES:  
RHIZOBIACEAE) E *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* (RHODOSPIRILLALES:  
AZOSPIRILLACEAE), ASSOCIADA À APLICAÇÃO DE COBALTO  
E MOLIBDÊNIO, NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO FEIJOEIRO  
(*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

Manografia apresentada como requisito parcial  
para composição de média final na disciplina de  
Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de  
graduação em Agronomia, da Pontifícia  
Universidade Católica de Goiás, PUC-Goiás.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup>. Roberta Paula de Jesus

Goiânia

2025

**GABRIEL AUGUSTO DE VILLA LELLIS**

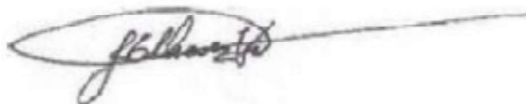
**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* (RHIZOBIALES:  
RHIZOBIACEAE) E *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* (RHODOSPIRILLALES:  
AZOSPIRILLACEAE), ASSOCIADA À APLICAÇÃO DE COBALTO  
E MOLIBDÊNIO, NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO FEIJOEIRO  
(*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **ROBERTA PAULA DE JESUS**  
Data: 18/12/2025 12:59:41-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Presidente (Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Paula de Jesus)  
PUC-Goiás



---

Membro I (Prof. Dr. Jales Teixeira Chaves Filho)  
PUC-Goiás

Documento assinado digitalmente  
 **LEANDRA REGINA SEMENSATO**  
Data: 18/12/2025 17:37:17-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro II (Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leandra Regina Semensato)  
PUC-Goiás

Aprovada em 06 / 12 / 2025.

**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM *RHIZOBIUM TROPICI* (RHIZOBIALES: RHIZOBIACEAE) E *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* (RHODOSPIRILLALES: AZOSPIRILLACEAE), ASSOCIADA À APLICAÇÃO DE COBALTO E MOLIBDÊNIO, NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO FEIJOEIRO (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

**EFFECT OF INOCULATION WITH *RHIZOBIUM TROPICI* (RHIZOBIALES: RHIZOBIACEAE) AND *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* (RHODOSPIRILLALES: AZOSPIRILLACEAE), ASSOCIATED WITH COBALT AND MOLYBDENUM APPLICATION, ON THE INITIAL DEVELOPMENT OF COMMON BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, isoladamente ou em co-inoculação, com e sem aplicação dos micronutrientes Co e Mo, sobre o desenvolvimento inicial do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS FS311 cultivado em vasos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições, utilizando solo arenoso e de baixa fertilidade, especialmente deficiente em fósforo e com baixa CTC, condições limitantes à Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). As avaliações foram realizadas no estágio V5, considerando número de nódulos, altura, diâmetro do caule e massa seca da planta inteira. Houve ausência total de nódulos em todos os tratamentos inoculados, indicando que as características químicas e físicas do solo impediram a simbiose com *R. tropici* e o efeito associativo de *A. brasilense*. Assim, a inoculação não promoveu incrementos nos parâmetros avaliados. O tratamento T1, que recebeu adubação mineral com NPK, apresentou maior crescimento, evidenciando que, na ausência de FBN, o nitrogênio mineral foi determinante para o desenvolvimento das plantas. Os coeficientes de variação elevados refletiram a heterogeneidade das plantas e as limitações nutricionais do solo. Conclui-se que, em condições de baixa fertilidade e ausência de fósforo disponível, a FBN não se estabelece, inviabilizando os efeitos da inoculação. Ressalta-se a necessidade de correção do solo para que a tecnologia apresente resposta agrônômica.

**Palavras-chave:** Feijoeiro; Inoculação; Fixação biológica de nitrogênio; Micronutrientes.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of inoculation with *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense*, alone or in co-inoculation, with and without the application of the micronutrients Co and Mo, on the initial development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar BRS FS311 grown in pots. The experiment was conducted in a completely randomized design with seven treatments and four replications, using sandy soil with low fertility, especially deficient in phosphorus and with low CEC, conditions limiting Biological Nitrogen Fixation (BNF). Evaluations were carried out at the V5 stage, considering the number of nodules, height, stem diameter, and whole-plant dry mass. There was a total absence of nodules in all inoculated treatments, indicating that the chemical and physical characteristics of the soil prevented the symbiosis with *R. tropici* and the associative effect of *A. brasilense*. Thus, inoculation did not promote increases in the evaluated parameters. Treatment T1, which received mineral fertilization with NPK, showed the greatest growth, demonstrating that, in the absence of BNF, mineral nitrogen was decisive for plant development. The high coefficients of variation reflected the heterogeneity of the plants and the nutritional limitations of the soil. It is concluded that, under conditions of low fertility and absence of available phosphorus, BNF is not established, making the effects of inoculation unfeasible. The necessity of soil correction for the technology to present an agronomic response is emphasized.

**Keywords:** Common bean; Inoculation; Biological nitrogen fixation; Micronutrients.

## SUMÁRIO

|            |                                                                                              |           |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                       | <b>8</b>  |
| <b>2</b>   | <b>OBJETIVO.....</b>                                                                         | <b>9</b>  |
| <b>3</b>   | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                                            | <b>9</b>  |
| <b>3.1</b> | <b>A cultura do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>                               | <b>9</b>  |
| <b>3.2</b> | <b>Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN).....</b>                                            | <b>11</b> |
| <b>3.3</b> | <b><i>Rhizobium tropici</i>.....</b>                                                         | <b>12</b> |
| <b>3.4</b> | <b><i>Azospirillum brasilense</i>.....</b>                                                   | <b>13</b> |
| <b>3.5</b> | <b>Co-inoculação: Conceitos e efeitos .....</b>                                              | <b>14</b> |
| <b>3.6</b> | <b>O papel do cobalto e molibdênio na eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio.....</b> | <b>15</b> |
| <b>4</b>   | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                              | <b>17</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Caracterização da área experimental.....</b>                                              | <b>17</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Delineamento experimental.....</b>                                                        | <b>18</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Tratamentos.....</b>                                                                      | <b>18</b> |
| <b>4.4</b> | <b>Unidade experimental.....</b>                                                             | <b>19</b> |
| <b>4.5</b> | <b>Coleta de dados.....</b>                                                                  | <b>19</b> |
| <b>5</b>   | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                           | <b>20</b> |
| <b>6</b>   | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                                                        | <b>23</b> |
|            | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                      | <b>23</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tem ganhado destaque nos últimos anos não apenas por seu papel fundamental na segurança alimentar da população brasileira, mas também pelo avanço no desenvolvimento de genótipos adaptados às diversas condições edafoclimáticas do país, especialmente nas regiões do Cerrado. Graças aos programas de melhoramento genético, foram obtidas cultivares mais produtivas, tolerantes a estresses bióticos e abióticos, e com ciclos mais curtos (Carbonell *et al.*, 2020). Tradicionalmente cultivado como alimento básico, o feijão passou a ser valorizado também como uma cultura estratégica na rotação de culturas, contribuindo para a fixação biológica de nitrogênio, melhoria da estrutura do solo e diversificação da produção agrícola (CONAB, 2024).

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais exigidos pelas plantas, fundamental para a síntese de aminoácidos, proteínas, clorofila e ácidos nucleicos. Entretanto, a aplicação intensiva de fertilizantes nitrogenados na agricultura, além de representar um elevado custo de produção, pode acarretar impactos ambientais significativos, como a contaminação de recursos hídricos e a emissão de gases de efeito estufa (Cantarella, 2007; Duete *et al.*, 2008). Diante desse cenário, a adoção de tecnologias alternativas, como o uso de microrganismos fixadores de N<sub>2</sub>, tem se mostrado promissora para aumentar a eficiência no uso do nutriente e reduzir os impactos ambientais.

Entre os microrganismos mais estudados nesse contexto estão as bactérias do gênero *Rhizobium*, que estabelecem simbiose com leguminosas, promovendo a formação de nódulos radiculares nos quais ocorre a FBN. No caso do feijoeiro, *Rhizobium tropici* é uma das espécies mais utilizadas devido à sua capacidade de nodular eficientemente em ambientes tropicais. Além disso, bactérias do gênero *Azospirillum*, como *Azospirillum brasilense*, atuam de forma associativa na rizosfera ou no interior das raízes, contribuindo indiretamente para a nutrição nitrogenada das plantas, além de produzirem fitohormônios que estimulam o crescimento radicular (Hungria *et al.*, 2010; Okon; Labandera-Gonzalez, 1994).

A co-inoculação de *R. tropici* com *A. brasilense* tem se mostrado uma estratégia eficiente para potencializar a FBN, aproveitando os mecanismos distintos de ação de cada microrganismo. Essa combinação pode proporcionar aumento na nodulação, no crescimento das plantas e na produtividade, especialmente em condições de baixa disponibilidade de nutrientes (Hungria *et al.*, 2013). Contudo, o sucesso dessa interação depende também da

presença de micronutrientes essenciais ao metabolismo das bactérias e ao funcionamento das enzimas envolvidas na FBN.

Micronutrientes como cobalto (Co) e molibdênio (Mo) exercem papéis fundamentais nesse processo. O Mo é componente da enzima nitrogenase, responsável pela conversão do N<sub>2</sub> atmosférico em amônia. O Co está relacionado à síntese de cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>), essencial ao metabolismo bacteriano (Zilli *et al.*, 2005; Alves *et al.*, 2007).

Dessa forma, o uso de inoculantes microbiológicos (individuais ou combinados), aliado ao fornecimento adequado de micronutrientes, pode representar uma estratégia promissora para melhorar a eficiência do uso de nitrogênio e favorecer o crescimento inicial do feijoeiro, especialmente em solos com baixa fertilidade.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar os efeitos da inoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, isoladamente e em co-inoculação, com e sem a aplicação de cobalto (Co) e molibdênio (Mo), sobre o desenvolvimento inicial do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em vasos.

## **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 A cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais cultivadas no Brasil, exercendo papel essencial na segurança alimentar da população, especialmente por seu alto valor nutricional e presença constante na dieta brasileira. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a área plantada com feijão na safra 2023/2024 é estimada em 2,9 milhões de hectares, com uma produção total projetada de aproximadamente 3,1 milhões de toneladas, considerando as três safras anuais. Essa produção reflete o esforço contínuo dos produtores e instituições de pesquisa em desenvolver tecnologias voltadas para o aumento da produtividade, com destaque para o uso de cultivares adaptadas, manejo eficiente e expansão em regiões do Cerrado (CONAB, 2025).

O feijoeiro comum apresenta dois tipos principais de crescimento: determinado e indeterminado. No crescimento determinado, o meristema apical se transforma em

inflorescência, interrompendo o crescimento vegetativo. Já no crescimento indeterminado, a planta continua emitindo folhas e ramos mesmo após o início da floração (Ramos *et al.*, 2011). Essas diferenças influenciam diretamente o manejo agrônomo e a escolha da cultivar mais adequada para determinadas regiões ou sistemas de produção (Silva *et al.*, 2019).

O ciclo do feijoeiro varia de 65 a 95 dias, dependendo do cultivar, época de semeadura e condições climáticas (Carbonell *et al.*, 2020). Essa característica possibilita sua inserção em diferentes arranjos de rotação e sucessão de culturas, o que o torna estratégico para sistemas de intensivos de produção (CONAB, 2024). A absorção de nutrientes pelo feijoeiro é mais intensa na fase vegetativa avançada e na fase reprodutiva, principalmente entre V3 e R5, onde ocorre a formação e enchimento das vagens (Vieira *et al.*, 2006). O nitrogênio, por exemplo, é fundamental nessas fases para garantir o crescimento adequado da parte aérea e o bom enchimento de grãos (Galvão *et al.*, 2014).

Por ser uma cultura que requer grande quantidade de nutrientes, principalmente nitrogênio (N), a fonte alternativa de nutrientes dessa cultura traz benefícios agrônômicos, ambientais e econômicos, principalmente relacionados ao fornecimento de nutrientes às plantas (Alves, 2020). O N é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento da cultura do feijão e é um dos mais difíceis de manejar, devido à dificuldade das avaliações na sua oferta no solo e os riscos de perdas por evaporação e lixiviação. Com isso, sua aplicação deve ser feita em doses parceladas nos momentos cruciais da cultura (Cantarella, 2014).

O potencial produtivo do feijão está intrinsicamente associado ao fornecimento de nitrogênio (N), pois este tem atuação direta sobre a síntese de clorofila, na composição de aminoácidos e ácidos nucleicos (Fernandes; Libardi, 2007; Galvão *et al.*, 2014). O feijão consome cerca de 22 kg de N por tonelada de grãos produzidos (Ciampitti *et al.*, 2010; Roberto *et al.*, 2010).

Para as plantas cultivadas, o nitrogênio normalmente é fornecido na forma de N mineral, devido à liberação ocorrer de forma mais rápida. No entanto, o uso prolongado desse insumo em altas doses pode levar a alterações drásticas do pH do solo (Cantarella, 2007). Essas alterações podem inativar atividades metabólicas do solo, levando à redução e à morte de espécies rizosféricas promotoras de crescimento vegetal (Fernandes; Libardi, 2007). Além disso, este fertilizante é produzido a partir de fonte não renovável e pode sofrer perdas de 50% ou mais para o sistema por lixiviação e volatilização (Duete *et al.*, 2008).

Segundo Farinelli e Lemos (2012), o manejo de adubações nitrogenadas é um dos mais complexos, devido a fatores relacionados ao custo dos fertilizantes nitrogenados, decorrente de problemas na eficiência de algumas fontes e da grande quantidade de energia

demandada para a sua obtenção e ao potencial poluente desse elemento, tanto para as águas de superfície quanto subterrâneas. Esse nutriente se caracteriza por possuir um dos maiores índices de perdas, as quais podem ocorrer por lixiviação, escoamento superficial, erosão, volatilização de amônia e desnitrificação. O maior ou menor índice de perda pode ser contornado pela forma de aplicação, manejo e na fonte do nutriente a ser utilizada.

Assim, a adubação nitrogenada é uma prática indispensável (Dartora *et al.*, 2013). No entanto, geralmente, apenas 50% do N aplicado no solo são aproveitados pelas plantas, sendo o restante perdido por lixiviação, volatilização, dentre outras causas (Saikia; Jain, 2007). A ocorrência de interações entre o nitrogênio e bactérias diazotróficas na assimilação desse nutriente pode ser uma opção para a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos (Reis Júnior *et al.*, 2008), consequentemente uma alternativa para redução do elevado custo econômico e ambiental do processo industrial de fixação de nitrogênio (Dartora *et al.*, 2013).

### **3.2 Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)**

A fixação biológica de nitrogênio pode ocorrer por meio de mecanismos simbióticos ou associativos. Na simbiose, bactérias como *Rhizobium tropici* formam nódulos nas raízes das leguminosas e ali realizam a conversão de N<sub>2</sub> em formas assimiláveis. Já na associação, como no caso de *Azospirillum brasilense*, a bactéria vive livre ou na rizosfera, fixando N em menor quantidade, mas com benefícios adicionais como a produção de fitohormônios (Hungria, 2011; Okon; Labandera-Gonzalez, 1994).

Os nódulos radiculares são estruturas formadas na interação entre leguminosas e bactérias fixadoras. No interior desses nódulos, bactérias convertem o N<sub>2</sub> atmosférico em amônia, sendo esta assimilada pela planta. A eficiência da nodulação está diretamente relacionada à cepa utilizada, saúde da planta e condições do solo (Hungria; Kaschuk, 2014).

A simbiose com o feijoeiro inicia-se pela troca de sinais químicos entre planta e bactéria. Exsudatos radiculares induzem o *Rhizobium* a produzir fatores Nod, que desencadeiam a formação dos nódulos nas raízes, onde ocorre a fixação do N<sub>2</sub> atmosférico pela enzima nitrogenase (Zilli *et al.*, 2005).

A eficiência da FBN é influenciada por diversos fatores: genótipo da planta, compatibilidade com a cepa inoculada, temperatura, pH do solo, umidade e disponibilidade de

fósforo (Reis *et al.*, 2000; Alves *et al.*, 2007). Condições desfavoráveis podem limitar a nodulação e a atividade da nitrogenase, reduzindo os benefícios agrônômicos da inoculação.

Embora a inoculação com *Rhizobium tropici* seja eficaz, sua eficiência pode ser comprometida em solos pobres, compactados ou com presença de cepas nativas competitivas e menos eficientes. Nestes casos, pode ser necessário associar a inoculação a adubação nitrogenada de arranque para garantir um bom estabelecimento inicial da cultura (Moreira; Siqueira, 2006).

### **3.3 *Rhizobium tropici***

No Brasil, as cepas CIAT 899 e PRF 81 de *Rhizobium tropici* são as mais utilizadas em inoculantes comerciais para o feijão, devido à sua eficiência em fixar nitrogênio em ambientes tropicais e resistência a solos ácidos. Essas cepas são amplamente estudadas e apresentam bom desempenho agrônômico com cultivares adaptados (Moreira; Siqueira, 2006).

A utilização de cepas eficientes de rizóbios pode contribuir significativamente para mitigar as limitações edafoclimáticas no cultivo do feijoeiro. Dentre as espécies mais promissoras, *Rhizobium tropici* se destaca por sua elevada eficiência na fixação biológica de nitrogênio (FBN), aliada à sua maior estabilidade genética e à notável tolerância a condições adversas, como altas temperaturas e acidez do solo (Martínez-Romero *et al.*, 1991).

A *R. tropici* apresenta alta afinidade com o feijoeiro, estabelecendo uma simbiose eficiente mesmo em ambientes adversos. A interação simbiótica leva à formação de nódulos radiculares onde ocorre a conversão do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) em formas assimiláveis pela planta, como amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), promovendo ganhos significativos na produtividade e redução do uso de fertilizantes nitrogenados (Hungria *et al.*, 2005). A cepa PRF 81, por exemplo, foi selecionada por seu excelente desempenho em ensaios de campo, apresentando alta taxa de nodulação e incremento de rendimento em grãos.

Estudos demonstram que o uso de inoculantes à base de *R. tropici* pode ser tão eficiente quanto a adubação nitrogenada mineral, com a vantagem de ser mais sustentável e econômica. Em experimentos conduzidos em diferentes regiões do Brasil, observou-se aumento médio de 15 a 30% na produtividade do feijão com o uso de inoculação, especialmente quando associada ao manejo adequado da adubação fosfatada e à escolha de

cultivares responsivas à FBN (Zilli *et al.*, 2010). Tais resultados destacam o potencial da inoculação como uma prática indispensável para a agricultura tropical moderna.

Adicionalmente, há crescente interesse na coinoculação de *R. tropici* com outras bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), como *A. brasilense*, visando potencializar os efeitos benéficos da inoculação. Essa estratégia tem mostrado sinergismo positivo, promovendo não apenas a fixação biológica de nitrogênio, mas também o crescimento radicular, a absorção de nutrientes e a resistência a estresses abióticos (Silva *et al.*, 2016). O desenvolvimento de formulações comerciais que combinem diferentes microrganismos representa um avanço tecnológico promissor para sistemas de cultivo mais eficientes e sustentáveis.

### **3.4 *Azospirillum brasilense***

O gênero *Azospirillum* foi descoberto no fim da década de 70, a partir do avanço dos estudos do gênero *Spirillum*. No ano de 1996, a partir de vários estudos com milho e trigo, impulsionou o surgimento do primeiro inoculante líquido para estas espécies, com aumento de produtividade (grãos) de 26% para o milho e 31% para o trigo (Hungria, 2011).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são de vida livre, rizobactérias capazes de promover o crescimento das plantas e aumentar as colheitas em muitas culturas de importância agrônômica (Dobbelaere *et al.*, 2003). O *A. brasilense* é uma bactéria fixadora de N, encontrada na rizosfera de várias espécies de gramíneas e atua na síntese de hormônios vegetais como o ácido indolilacético e ácido indolilático (Fallik *et al.*, 1988).

As bactérias *Azospirillum* spp. possuem a capacidade de romper a tripla ligação do nitrogênio através da enzima dinitrogenase, reduzindo o N<sub>2</sub> à amônia, além de produzir fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas, incrementando absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (Hungria, 2011).

Este microorganismo está presente em todo tipo de solo (Silva *et al.*, 2004), sendo que seu crescimento ideal varia numa faixa de temperatura entre 28 e 41°C (Eckert *et al.*, 2001). A fixação de N pela bactéria ocorre em ambiente natural e temperatura ambiente, com a presença da enzima nitrogenase, que catalisa a reação e faz com que o processo de fixação ocorra a níveis bem menores de energia. A bactéria consome energia da planta (açúcares), mas esta é compensada pelo aporte de N fornecido ao sistema (Alves, 2007).

A morfologia do sistema radicular é alterada com a inoculação, devido à produção de substâncias promotoras de crescimento, que aumenta o número de radículas e o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Como resultado, tem-se um maior volume de solo explorado (Okon; Vanderleyden, 1997). Entre outras vantagens, Soares (2003) salienta o fato de não existirem perdas do N fixado, como ocorre com fertilizantes minerais, gerando melhor aproveitamento deste nitrogênio pelas plantas. Fancelli (2010) relatou uma economia de 30 a 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio na forma de adubo sintético com a utilização desta técnica no Brasil.

Além dos benefícios diretos sobre a nutrição nitrogenada das plantas, a inoculação com *Azospirillum* spp. também induz alterações fisiológicas importantes, como o aumento na atividade de enzimas antioxidantes e na produção de substâncias osmoprotetoras. Essas modificações bioquímicas estão relacionadas à maior resiliência das plantas, frente a estresses abióticos, como déficit hídrico e variações térmicas, o que reforça seu potencial em ambientes tropicais e em sistemas agrícolas de baixo uso de insumos (Cassán *et al.*, 2009).

Outro aspecto relevante do uso de *Azospirillum* está na sua associação com gramíneas de importância econômica, como milho, trigo, sorgo e braquiária. Nesses cultivos, o uso de inoculantes à base de *A. brasilense* tem demonstrado ganhos consistentes em produtividade e eficiência no uso de nutrientes, especialmente em solos de baixa fertilidade. Estudos recentes também apontam para efeitos positivos sobre a arquitetura da planta e o aumento do teor de clorofila nas folhas, melhorando a eficiência fotossintética (Hungria *et al.*, 2010; Fukami *et al.*, 2016). De acordo com Siqueira e Franco (1988), dependendo da espécie de gramínea à qual a bactéria esteja associada, o *Azospirillum* apresenta maior ou menor atividade de fixação de N<sub>2</sub>.

### **3.5 Co-inoculação: Conceitos e efeitos**

A co-inoculação refere-se à aplicação conjunta de duas ou mais bactérias promotoras de crescimento vegetal, buscando combinar mecanismos de ação distintos e complementares. No contexto do feijoeiro, a associação de *R. tropici* (bactéria simbiótica fixadora de nitrogênio) com *A. brasilense* (bactéria promotora de crescimento) tem ganhado destaque. Essa combinação tem o potencial de unir a formação eficiente de nódulos com a produção de fitohormônios, maior absorção de nutrientes e tolerância a estresses ambientais (Hungria *et al.*, 2013; Fukami *et al.*, 2018).

Estudos com co-inoculação demonstraram ganhos agronômicos como aumento do enraizamento, da nodulação e da produtividade em diversas culturas, incluindo o feijoeiro.

Esses benefícios são atribuídos à sinergia entre os microrganismos, onde *Azospirillum* pode favorecer o desenvolvimento radicular e, conseqüentemente, o estabelecimento mais rápido da simbiose com *Rhizobium* (Silva *et al.*, 2021).

Além disso, a co-inoculação pode ser uma estratégia eficiente para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados, especialmente em solos com baixa disponibilidade de nutrientes, promovendo uma agricultura mais sustentável (Moreira; Siqueira, 2006).

Em trabalhos conduzidos na Embrapa Soja, Hungria *et al.* (2010) avaliando diferentes estirpes de *A. brasilense* e *A. lipoferum*, tanto nas culturas do milho e do trigo, chegaram à indicação de que a inoculação com *A. brasilense* proporciona um aumento de 24 a 30% no rendimento de grãos da cultura do milho, em relação ao controle sem inoculação, o que resultou na identificação das primeiras estirpes autorizadas para a produção de inoculantes comerciais no Brasil.

Além dos benefícios agrônômicos, a co-inoculação pode influenciar positivamente parâmetros fisiológicos e bioquímicos das plantas, como maior atividade da enzima nitrogenase, aumento na concentração de clorofila e maior eficiência no uso da água. Tais efeitos são atribuídos à ação conjunta dos microrganismos, que não apenas favorecem o fornecimento de nitrogênio via FBN (fixação biológica de nitrogênio), mas também modulam rotas hormonais e metabólicas que promovem o crescimento vegetal (Fukami *et al.*, 2017). Com isso, observa-se uma planta mais resiliente e adaptada às condições adversas do ambiente.

Ademais, a adoção da co-inoculação em programas de manejo biológico está alinhada com as diretrizes da agricultura sustentável e da intensificação ecológica. A possibilidade de substituir parcialmente fertilizantes minerais por microrganismos eficientes não apenas reduz custos de produção, como também diminui os impactos ambientais associados ao uso excessivo de insumos químicos. Nesse sentido, a co-inoculação representa uma tecnologia acessível, de fácil aplicação e compatível com diferentes sistemas agrícolas, o que a torna uma ferramenta estratégica para o aumento da produtividade com menor impacto ambiental (Hungria, 2011; Cassán *et al.*, 2020).

### **3.6 O papel do cobalto e molibdênio na eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio.**

A eficácia da fixação biológica de nitrogênio (FBN) depende não apenas da interação planta-bactéria, mas também da presença de micronutrientes essenciais, entre os

quais o molibdênio (Mo) e o cobalto (Co) exercem funções críticas. O molibdênio é componente fundamental da enzima nitrogenase, responsável pela conversão do N<sub>2</sub> atmosférico em amônia, a forma assimilável pela planta (Moreira; Siqueira, 2006). Sua ausência pode limitar drasticamente a atividade da FBN, mesmo em sistemas com boa nodulação.

O cobalto, por sua vez, está envolvido na síntese de cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>), essencial para o metabolismo bacteriano e a sobrevivência das bactérias fixadoras no solo e na rizosfera (Zilli *et al.*, 2005). Além disso, influencia positivamente a formação de nódulos e a eficiência da simbiose. Dessa forma, a aplicação combinada de Co e Mo pode potencializar a FBN, especialmente em solos deficientes, e favorecer o crescimento e a produtividade do feijoeiro (Hungria *et al.*, 2010; Moreira; Siqueira, 2006).

Além de suas funções específicas, esses micronutrientes exercem papel indireto na eficiência fisiológica da planta e no equilíbrio da microbiota do solo. A deficiência de Mo, por exemplo, pode limitar não só a atividade da nitrogenase, mas também a da redutase do nitrato, interferindo na assimilação do nitrogênio mineral disponível no solo (Moreira; Siqueira, 2006). Isso mostra que, mesmo em cultivos com adubação nitrogenada parcial, a presença adequada de micronutrientes continua sendo essencial para a máxima eficiência no aproveitamento do N.

Outro ponto importante é o modo de aplicação desses micronutrientes. A aplicação via sementes, muitas vezes junto ao inoculante, tem se mostrado eficaz por garantir maior contato entre os micronutrientes e os microrganismos simbióticos. No entanto, em solos com alto teor de ferro ou pH muito baixo, pode haver competição iônica e fixação desses elementos, reduzindo sua disponibilidade. Nesses casos, a aplicação via foliar ou em sulco, em doses bem ajustadas, pode ser uma alternativa viável para garantir a eficiência da FBN (Silveira *et al.*, 2015).

Diante da importância dos micronutrientes para o desempenho da simbiose, diversas pesquisas têm avaliado estratégias de manejo mais eficientes. A suplementação com fontes de Co e Mo tem sido recomendada em áreas de baixa fertilidade ou em solos que passaram por processos intensos de lixiviação. Resultados de ensaios em campo apontam que, quando esses elementos são aplicados de forma equilibrada, ocorre aumento na nodulação, na atividade da nitrogenase e, conseqüentemente, na produtividade do feijoeiro (Zilli *et al.*, 2010).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido no Instituto Tropical Subúmido (ITS) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Campus II, localizado a 16°44'15.00" de latitude Sul e 49°12'54.73" de longitude Oeste.

O solo utilizado como substrato foi coletado na Fazenda José Alves, situada no município de Itaberaí, Goiás, em uma área de abertura recente, ainda sem histórico consolidado de cultivo agrícola. Após a coleta, o solo foi caracterizado por meio de análise físico-química. Do ponto de vista textural, apresentou alta proporção de areia, sendo classificado como de textura arenosa-média ou franco-arenosa, composto por 49,60% de areia, 37,75% de argila e 12,65% de silte. Essa condição textural favorece elevada drenagem e baixa retenção de nutrientes, limitando a disponibilidade de nitrogênio no sistema, característica desejável para evidenciar os efeitos da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN).

Em relação à fertilidade, o solo apresentou baixa fertilidade natural e acidez moderada. O pH em  $\text{CaCl}_2$  foi de 5,10, valor abaixo da faixa ideal (5,5–6,0), indicando acidez que pode limitar o desenvolvimento radicular e a atividade microbiana. A capacidade de troca catiônica (CTC) foi de 5,23  $\text{cmolc/dm}^3$ , considerada baixa, assim como a saturação por bases (V%), que atingiu 44,60%, confirmando a necessidade de correção de acidez em condições de cultivo convencional. O teor de alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) foi de 0,00  $\text{cmolc/dm}^3$ , valor dentro da faixa adequada (0,0–0,2  $\text{cmolc/dm}^3$ ), e a saturação por alumínio foi igualmente nula, não apresentando risco de toxidez às plantas.

A matéria orgânica apresentou-se em 2,32%, situada na faixa média considerada adequada (1,5–3%), funcionando como fonte moderada de nitrogênio, porém sem comprometer a sensibilidade do experimento em detectar diferenças na FBN.

Os teores de nutrientes reforçam a condição de baixa fertilidade:

- Fósforo (P): 0,58  $\text{mg/dm}^3$ , muito abaixo da faixa ideal (10–30  $\text{mg/dm}^3$ ), caracterizando deficiência severa;
- Potássio (K): 207  $\text{mg/dm}^3$ , acima da faixa recomendada (60–180  $\text{mg/dm}^3$ );
- Cálcio (Ca): 1,00  $\text{cmolc/dm}^3$ , abaixo da faixa ideal (2,0–5,0  $\text{cmolc/dm}^3$ );
- Magnésio (Mg): 0,80  $\text{cmolc/dm}^3$ , dentro da faixa adequada (0,5–1,5  $\text{cmolc/dm}^3$ ).

Com base nesses parâmetros, o solo foi selecionado por apresentar condições propícias para a avaliação dos efeitos da inoculação e da aplicação de micronutrientes sobre a

FBN no feijoeiro, especialmente devido ao baixo teor de fósforo, baixa CTC e acidez moderada, fatores que aumentam a sensibilidade das plantas às diferenças entre tratamentos.

#### 4.2 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por sete tratamentos e quatro repetições, totalizando 28 unidades experimentais.

Os tratamentos foram definidos com base na combinação entre diferentes tipos de inoculação (*Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense*, ambos ou nenhum) e a aplicação ou não dos micronutrientes cobalto e molibdênio (CoMo). A alocação dos tratamentos às unidades experimentais foi realizada de forma completamente aleatória, garantindo a independência entre as repetições.

#### 4.3 Tratamentos

Foram avaliados sete tratamentos, resultantes das combinações entre os tipos de inoculação e a aplicação dos micronutrientes Co e Mo. Os tratamentos experimentais são:

**T1: Manejo Convencional com NPK:** sem inoculação e sem aplicação de CoMo.

**T2: Azospirillum + CoMo:** inoculação apenas com *Azospirillum brasilense* e aplicação dos micronutrientes.

**T3: Rhizobium + CoMo:** inoculação apenas com *Rhizobium tropici* e aplicação dos micronutrientes.

**T4: Co-inoculação + CoMo:** inoculação com *A. brasilense* + *R. tropici*, com aplicação dos micronutrientes.

**T5: Co-inoculação sem CoMo:** inoculação com *A. brasilense* + *R. tropici*, sem aplicação dos micronutrientes.

**T6: Rhizobium sem CoMo:** inoculação apenas com *R. tropici*, sem aplicação dos micronutrientes.

**T7: Azospirillum sem CoMo:** inoculação apenas com *A. brasilense*, sem aplicação dos micronutrientes.

O tratamento T1 (sem inoculação e sem aplicação de CoMo) foi conduzido com adubação mineral convencional, utilizando fertilizantes NPK aplicados conforme as práticas agronômicas adotadas pela fazenda e em consonância com as recomendações derivadas da análise química do solo.

#### 4.4 Unidade experimental

A unidade experimental consistiu em sacos plásticos de 3 L preenchidos com solo, mantendo-se duas plantas por vaso. A variedade de feijão utilizada foi BRS FS311, escolhida pela boa adaptação às condições locais. As sementes receberam tratamento com os inoculantes comerciais Simbiose NOD (*Rhizobium tropici*) e LALRISE AZOS (*Azospirillum brasilense*), aplicados nas doses recomendadas pelos fabricantes.

A adubação de base foi realizada no plantio com MAP, em quantidades calculadas conforme as recomendações da 5ª Aproximação para o Estado de Goiás (COMISSÃO DE FERTILIDADE DE SOLOS DE GOIÁS, 1988), ajustadas à escala dos vasos. O manejo nutricional complementar seguiu os estádios fenológicos da cultura. No estágio V2, aplicou-se KCl em todos os tratamentos; adicionalmente, o tratamento T1 recebeu ureia, por representar o controle absoluto (sem inoculação e sem aplicação de CoMo).

No estágio V3, realizou-se a aplicação foliar do produto à base de cobalto e molibdênio (CoMo), utilizando-se o fertilizante comercial Ray Nitro, nos tratamentos T2, T3 e T4, seguindo a dose recomendada pelo fabricante. Ainda nesse estágio, o T1 recebeu sulfato de amônio, com reaplicação posterior, mantendo coerência com o manejo convencional para áreas sem FBN.

As doses utilizadas por vaso, calculadas com base na 5ª Aproximação, foram: 0,300 g de MAP; 0,075 g de KCl; 0,075 g de ureia e 0,075 g de sulfato de amônio.

#### 4.5 Coleta de dados

As avaliações foram conduzidas até o estágio fenológico V5 do feijoeiro, caracterizado pela presença de cinco trifólios plenamente expandidos, momento em que o experimento foi encerrado. A definição desse estágio baseou-se em critérios fisiológicos e metodológicos, considerando que:

- A nodulação simbiótica já está plenamente formada e visível, possibilitando avaliar adequadamente os efeitos dos inoculantes;
- Os impactos dos tratamentos sobre o desenvolvimento inicial e sobre a fixação biológica de nitrogênio (FBN) são mais expressivos nesse período vegetativo;
- Evita-se o avanço para o início do florescimento, adequado diante das limitações físicas dos

vasos, que poderiam interferir no desenvolvimento reprodutivo.

As variáveis analisadas foram:

- Número de nódulos por planta;
- Massa seca da planta inteira;
- Altura das plantas;
- Diâmetro do caule;
- Presença de sintomas visuais de deficiência nutricional.

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA). Quando detectada significância estatística pelo Teste F ( $p < 0,05$ ), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. Todas as análises foram realizadas considerando o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), utilizando o software estatístico R.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis avaliadas. Os coeficientes de variação (CV%) apresentaram comportamento distinto entre as variáveis: enquanto a Altura (16,97%) e o Comprimento de Raiz (15,97%) indicaram boa precisão experimental, a Massa Seca Total registrou um CV mais elevado (36,81%), fato comum em experimentos conduzidos em vasos e em solos de baixa fertilidade. Ensaio envolvendo Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) também tendem a apresentar maior variabilidade entre plantas, sobretudo quando o solo possui baixa capacidade tampão, disponibilidade limitada de nutrientes e grande sensibilidade hídrica, fatores discutidos por Cassol *et al.* (2019), Melo *et al.* (2020) e Souza *et al.* (2018).

A análise de variância (ANOVA) detectou efeito significativo dos tratamentos para as variáveis altura de plantas ( $p = 0,0465$ ) e massa seca ( $p = 0,0093$ ), enquanto diâmetro do caule ( $p = 0,1787$ ) e comprimento de raiz ( $p = 0,4776$ ) não apresentaram diferenças estatísticas significativas (Tabela 1). Esses resultados indicam que as respostas ao manejo nutricional ocorreram principalmente nas variáveis relacionadas ao crescimento vegetativo, enquanto as características estruturais mostraram menor sensibilidade aos tratamentos avaliados.

**Tabela 1.** Valores de F-calculado, probabilidade (p-valor), Quadrado Médio do Erro (QM Erro) e Coeficiente de Variação (CV) para os atributos de desenvolvimento inicial do feijoeiro, em função da inoculação com *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense* e aplicação de Cobalto (Co) e Molibdênio (Mo).

| Variável           | GL<br>Tratamentos | GL<br>Resíduo | QM<br>Erro | F<br>Calculado | p-valor | CV<br>(%) |
|--------------------|-------------------|---------------|------------|----------------|---------|-----------|
| Altura             | 6                 | 21            | 17.1915    | 2.6254         | 0.0465* | 16.97     |
| Diâmetro do Coleto | 6                 | 21            | 0.0026     | 1.6667         | 0.1787  | 17.92     |
| Comprimento Raiz   | 6                 | 21            | 37.7814    | 0.9563         | 0.4776  | 15.97     |
| Massa Seca         | 6                 | 21            | 0.3899     | 3.8692         | 0.0093* | 36.81     |

GL: Graus de Liberdade. QM Erro: Quadrado Médio do Erro. CV%: Coeficiente de Variação.

\*Significativo a 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ). \*\*Significativo a 1% de probabilidade ( $p \leq 0,01$ ).

A ausência total de nódulos em todos os tratamentos inoculados contribuiu para ampliar o erro residual do experimento, reduzindo a expressão uniforme do crescimento vegetal. Em razão disso, a variável “número de nódulos” não pôde ser submetida à análise estatística e, portanto, não foi incluída na Tabela 2. A inexistência de nodulação evidencia que a simbiose entre o feijoeiro e os microrganismos inoculados (*Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*) não se estabeleceu nas condições experimentais, impossibilitando qualquer contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) para o desenvolvimento das plantas.

A Tabela 2 apresenta os valores médios de altura, diâmetro do coleto, comprimento de raiz e massa seca das plantas. O tratamento T1, conduzido com adubação mineral convencional, apresentou os maiores valores médios de altura e massa seca, sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Em contraste, os tratamentos inoculados (T2 a T7) não diferiram entre si e apresentaram desempenho inferior ao T1, indicando ausência de resposta positiva à inoculação.

Esse comportamento evidencia que, na ausência de nodulação efetiva, a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) não ocorreu, fazendo com que o crescimento das plantas dependesse exclusivamente do nitrogênio mineral disponibilizado no solo. Dessa forma, apenas o tratamento que recebeu adubação nitrogenada apresentou vantagem no desenvolvimento vegetativo inicial do feijoeiro.

Embora o solo apresentasse baixo teor inicial de fósforo, a adubação fosfatada realizada no plantio buscou suprir essa limitação. Dessa forma, o fósforo, isoladamente, não explica a ausência de nodulação observada. Nesse contexto, o pH do solo emerge como um fator potencialmente mais limitante ao estabelecimento da simbiose. O pH em  $\text{CaCl}_2$  de 5,10

caracteriza um ambiente moderadamente ácido, condição reconhecidamente desfavorável à sobrevivência, multiplicação e atividade simbiótica de estirpes de *Rhizobium* em feijoeiro, cultura considerada sensível a variações de pH (Hungria; Kaschuk, 2014).

Tabela 2. Médias de altura de planta, diâmetro do coleto, comprimento de raiz e massa seca da planta inteira do feijoeiro (cv. BRS FS311) submetido a diferentes tratamentos de inoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, com e sem CoMo, incluindo um tratamento controle com adubação mineral (NPK). PUC Goiás, Goiânia, 2025.

| Tratamentos                     | Altura (cm) | Diâmetro (cm) | Comprimento Raiz (cm) | Massa Seca Planta (g) |
|---------------------------------|-------------|---------------|-----------------------|-----------------------|
| T1 Manejo Conv. com NPK         | 30.9750 a   | 0.3375 a      | 39.0500 a             | 2.8387 a              |
| T6 <i>Rhizobium</i> sem CoMo    | 25.1625 ab  | 0.2875 a      | 42.4750 a             | 2.0775 ab             |
| T3 <i>Rhizobium</i> + CoMo      | 24.5500 ab  | 0.3000 a      | 37.7000 a             | 1.8150 ab             |
| T5 Co-inoculação sem CoMo       | 24.5250 ab  | 0.3000 a      | 40.5500 a             | 1.5450 ab             |
| T2 <i>Azospirillum</i> + CoMo   | 23.0125 ab  | 0.2625 a      | 39.8125 a             | 1.3512 b              |
| T7 <i>Azospirillum</i> sem CoMo | 22.7625 ab  | 0.2625 a      | 36.5750 a             | 1.1038 b              |
| T4 Co-inoculação + CoMo         | 20.0125 b   | 0.2375 a      | 33.2250 a             | 1.1437 b              |

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Diversos autores relatam que valores de pH abaixo da faixa ideal (5,5–6,5) afetam diretamente a infecção dos pelos radiculares, a formação do tubo de infecção e o desenvolvimento dos nódulos, mesmo quando estirpes eficientes são utilizadas (Moreira; Siqueira, 2006; Zilli *et al.*, 2011). Além disso, a acidez do solo pode reduzir a disponibilidade de molibdênio, micronutriente essencial para a atividade da nitrogenase, comprometendo ainda mais o processo de FBN (Malavolta, 2006; Taiz *et al.*, 2017).

Estudos conduzidos por Batista *et al.* (2021) e Lima *et al.* (2017) também relataram ausência ou baixa nodulação em feijoeiro cultivado em solos arenosos, ácidos e com baixa capacidade tampão, mesmo após a inoculação, evidenciando que a eficiência dos inoculantes está fortemente condicionada às propriedades químicas do solo. Esses resultados corroboram os dados obtidos neste trabalho, nos quais a inoculação, isolada ou associada à aplicação de CoMo, não foi capaz de compensar as limitações impostas pelo ambiente edáfico.

A presença de clorose leve observada visualmente em todos os tratamentos reforça o cenário de estresse nutricional, compatível com solos de baixa fertilidade e com

possíveis restrições à absorção de nitrogênio e fósforo. Segundo Ferreira *et al.* (2018) e Soratto *et al.* (2022), em condições de acidez moderada e baixa CTC, sintomas visuais de deficiência nutricional podem manifestar-se precocemente, mesmo quando práticas de adubação são adotadas.

De forma geral, os resultados indicam que a ausência de resposta à inoculação não deve ser atribuída exclusivamente à eficiência dos inoculantes, mas sim à interação de fatores edáficos, com destaque para o pH do solo, que pode ter limitado o estabelecimento da simbiose e, conseqüentemente, a ocorrência da Fixação Biológica de Nitrogênio no feijoeiro.

## 6 CONCLUSÕES

- Não foi observada formação de nódulos nos tratamentos inoculados, indicando que as condições edáficas do experimento não favoreceram o estabelecimento da simbiose com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*.
- O tratamento com adubação mineral NPK apresentou maior crescimento vegetativo, evidenciando que, na ausência de nodulação e da bixação biológica de nitrogênio, o nitrogênio mineral foi determinante para o desempenho das plantas.
- As características do solo utilizado, especialmente o pH levemente ácido, associadas à baixa CTC e à textura arenosa, podem ter limitado a eficiência da FBN e a resposta à inoculação.
- Os resultados indicam que a inoculação não substitui a adubação nitrogenada quando as condições do solo não são adequadas ao estabelecimento da simbiose.
- Estudos futuros devem considerar a correção prévia da acidez e da fertilidade do solo, bem como o controle de fatores edáficos e ambientais, para melhor avaliação do potencial agronômico dos inoculantes.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, B. J. R. et al. Fixação biológica do nitrogênio e sua importância para as culturas agrícolas. **Embrapa Agrobiologia**, Seropédica, 2007.
- ALVES, D. K. M. **Desenvolvimento, produtividade e estado nutricional de milho fertirrigado com água residuária de piscicultura e suinocultura diluídas**.124p. Dissertação - Mestrado em Ciências Agrárias - Agronomia. Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde - GO, Brasil. 2020.

ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias Diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Bulkholderia* em genótipos de milho**. 65 p. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ. Fev. 2007.

BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho do plantio à Colheita**. 2ª Edição. Editora UFV. 2017.

CANTARELLA, A. P. D. H. Nitrogênio em milho: oferta harmônica. **Revista cultivar grandes culturas**, 177, 06-08, 2014.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, cap. 7, p. 375-470, 2007.

CARBONELL, S. A. M. et al. Melhoramento genético do feijoeiro-comum no Brasil: retrospectiva e perspectivas futuras. **Revista Ceres**, v. 67, n. 2, p. 93–110, 2020.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. (2009). Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, 45(1), 28–35.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; CARLAN, C. L. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S. (2020). Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. **Biological Nitrogen Fixation**. Springer.

CIAMPITTI, I. A.; BOXLER, M.; GARCIA, F. O. Nutrición de Maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. **Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica**. Ediciones IPNI. v. 48, n. 1, p. 14-18, 2010.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DE SOLOS DE GOIÁS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes para Goiás: 5ª aproximação**. Goiânia, GO: UFG; EMGOPA, 1988. 101 p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos – Safra 2023/2024**. Brasília, DF: CONAB, 2024.  
Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 7 abr. 2025.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, p. 271–276, 2013.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1023–1029, 2013.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. v.22, n.2 p.107- 149, 2003.

DOBEREINER, J.; BALDANI, I. J. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, v.34, p.869-881, 1982.

DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C.; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 161-171. 2008.

ECKERT, B.; WEBER, O. B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereinae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 17-26, 2001.

FAGERIA, N. K. **Nitrogen management in crop production**. Boca Raton: CRC Press, 2014.

FALLIK, E.; OKON, Y.; FISCHER, M. The effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on metabolic enzyme activity in maize root seedlings. **Symbiosis**, v.6, n.1 p.17-28, 1988.

FANCELLI, A. L. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho. Piracicaba: IPNI –**International Plant Nutrition Institute Brazil**, 16p. (IPNI. Informações Agronômicas, 131). 2010.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 1, p. 63-70, 2012.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **Annals of Applied Biology**, 168(2), 202–213. 2016.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Plant growth-promoting bacteria: current and future perspectives for biological nitrogen fixation and nutrient use efficiency in agriculture. **Brazilian Journal of Microbiology**, 48(1), 1-14. 2017

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMBIExpress**, v. 8, p. 1–12, 2018.

GALLO, J. R.; MALAVOLTA, E. **Nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1974. (Caso não queira manter esta, posso retirar.)

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, v. 61, 2014.  
HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. Environmental factors affecting  $N_2$  fixation in legumes. **Plant and Soil**, v. 86, p. 205–219, 1985.

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011.

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

HUNGRIA, M.; KASCHUK, G. Regulation of  $N_2$  fixation and  $NO_3^-$  assimilation in nodulated and N-fertilized Phaseolus vulgaris L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 1–9, 2014.

LEMAIRE, G.; GASTAL, F. N. Uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. In: LEMAIER, G. (Ed.). **Diagnosis of the nitrogen status in crops**. Heidelberg: Springer-Verlag, p. 3-43. 1997.

MATOSO, S. C. G.; SILVA, A. N.; PEREIRA, E. C. F.; COLLETA, Q. P.; MAIA, E. Frações de carbono e nitrogênio de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico sob diferentes usos na Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**, v. 42, n. 2, p. 231-240, 2012.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, E.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P. H.; PARDO, M. A. Rhizobium tropici, a novel species nodulating Phaseolus vulgaris L. beans and Leucaena sp. trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.41, p.417-426, 1991 m

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. Agronomic applications of Azospirillum: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1591–1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated Azospirillum species can stimulate 48 plants. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 6, n. 7, p.336-370, 1997.

OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, F. R. A.; CAMPOS, M. S.; OLIVEIRA, M. K. T.; MEDEIROS, J. F.; SILVA, O. M. P. Interação entre salinidade e fontes de nitrogênio no desenvolvimento inicial da cultura do girassol. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v. 5, n. 4, p. 479-484, 2010.

PAVANI, V.; KORBER, L. P. P.; HISTER, J. R. W. H.; BARREIRO, M. A. B.; MISSIO, R. F.; GRANG, L. Azospirillum brasiliense associado com nitrogênio no desempenho da cultura do milho. **Ver. Agro Amb.**, v. 15, n. 3, e9899, 2022.

RAMOS, H. C. C.; DEL PELOSO, M. J.; MELO, L. C. **Características agrônômicas do feijoeiro**. Embrapa Arroz e Feijão, 2011.

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de Azospirillum amazonense em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.3, p.1139-1146, 2008.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19, p.227-247, 2000.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (Azospirillum brasilense) via semente. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010. **Anais...** Goiânia, 2010.

SAIKIA, S. P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable target or a dogma. **Current Science**, v. 92, n. 3, p. 317-322, 2007.

SILVA JUNIOR, J. A. M. **Inoculação com azosperillum brasilense na cultura do milho associada a diferentes doses de adubação nitrogenada**. 2020.

SILVA, G. S. et al. Fenologia e produtividade de cultivares de feijão com diferentes tipos de crescimento. **Revista Agroambiente**, v. 13, n. 2, p. 102–108, 2019.

SILVA, A. F. et al. Eficiência agronômica da inoculação e co-inoculação em leguminosas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 44, p. 1–12, 2021.

SILVA, M. E.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. (2016). Coinoculation of common bean with *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* improves nodulation, nutrient accumulation and yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40, e0150367.

SILVEIRA, P. M.; MESQUISA, M. A. M.; CUNHA, P. C. R. **Adubação foliar no feijoeiro: revisão de literatura**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2015. 45 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 307).

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS, Lavras: ESAL, FAEPE, 236 p. 1988.

SOARES, M. A. **Influência de nitrogênio, zinco e boro e de suas respectivas interações no desempenho da cultura de milho (*Zea mays* L.)**. 112p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba/SP, 2003.

VIEIRA, R. F.; SILVA, M. J.; FERRAZ, M. E. G. **Crescimento e absorção de nutrientes pelo feijoeiro**. Embrapa Arroz e Feijão, 2006.

ZILLI, J. E. et al. Influência da temperatura e do pH sobre a simbiose feijoeiro-*Rhizobium tropici*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 321–329, 2005.