

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE AGRONOMIA

Lucas Silva Magalhães

**INOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE EM
FEIJOEIRO COMUM (CULTIVAR BRS ESTILO)**

Uberlândia – MG

Setembro – 2013

LUCAS SILVA MAGALHÃES

**INOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE EM
FEIJOEIRO COMUM (CULTIVAR BRS ESTILO)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Lucas Carvalho Basilio de
Azevedo

Uberlândia – MG

Setembro – 2013

LUCAS SILVA MAGALHÃES

**INOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E APLICAÇÃO DE BIOFERTILIZANTE EM
FEIJOEIRO COMUM (CULTIVAR BRS ESTILO)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 27 de Setembro de 2013.

Dra. Simone Cristina Braga Bertini

Membro da banca

Profª. Dra. Tatiane Pereira Santos Morais

Membro da banca

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo

Orientador

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois se tenho a chance de estar concluindo mais esta etapa difícil, porém gratificante, devo a ele. Agradeço à minha família e minha namorada pelo apoio e suporte em todos os momentos, fossem estes bons ou ruins. Com certeza eles me deram todo o apoio possível e necessário para que eu chegasse até aqui.

Agradeço também ao meu orientador, professor Dr. Lucas Carvalho, o qual se dispôs a me ajudar desde o primeiro dia. Devo dizer que aprendi muito com o seu profissionalismo e conhecimento.

Não seria justo deixar de agradecer, também, às técnicas do laboratório LAMIC: Júlia e Beatriz. Ambas se dispuseram a me ajudar e a tirar dúvidas em todos os momentos em que eu precisei, sempre de forma educada e amigável.

RESUMO

Existe o potencial de melhora do desenvolvimento do feijoeiro com a inoculação de rizóbios e com aplicação de biofertilizantes na parte aérea, diminuindo a necessidade de uso de fertilizantes minerais. Por isso, nosso objetivo foi avaliar a resposta em crescimento e nodulação do feijoeiro quando da inoculação de rizóbio comercial e aplicação de biofertilizante líquido. Para isso, o experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, próxima ao campus da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia - MG, com o objetivo de analisar o crescimento da planta, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea e raízes, e número e massa de nódulos em plantas tratadas com inoculante comercial MASTERFIX– feijão® e com biofertilizante.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: testemunha, inoculante comercial, aplicação de biofertilizante líquido a 5% e biofertilizante líquido a 5% somado ao inoculante comercial. Analisando os dados, os tratamentos que utilizaram MASTERFIX – feijão® obtiveram os melhores resultados. Segundo o Teste de Tukey a 5% de significância, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, número de nódulos e massa de nódulos foram maiores nos tratamentos em que se utilizou o MASTERFIX – feijão®. Já, a massa seca do sistema radicular foi maior no tratamento em que se utilizou apenas o MASTERFIX – feijão®. Quanto à altura das plantas, os tratamentos, de forma geral, não diferenciaram entre si. De forma geral, a inoculação de rizóbios melhora a nodulação e o desenvolvimento do feijoeiro. O biofertilizante não influenciou nas características analisadas, o que não o descredencia, já que são necessários mais estudos acerca deste fertilizante orgânico.

Palavras - chave: inoculante, diazotróficos, fixação biológica do nitrogênio, feijão.

SUMÁRIO

1 – Introdução	07
2 – Revisões bibliográficas	09
2.1 – Feijoeiro	09
2.2 – Produção e produtividade do feijoeiro	09
2.3 – Nitrogênio como nutriente vegetal	10
2.4 – Fixação biológica do nitrogênio atmosférico	11
2.5 – Biofertilizante	13
3 – Objetivos	15
4 – Materiais e métodos	15
4.1 - Caracterizações da área de coleta do solo	15
4.2 - Delineamento experimental e condução do experimento	17
4.3 – Inoculação de rizóbios	17
4.4 – Instalação e condução do experimento	18
4.5 – Biofertilizante	18
4.6 – Desenvolvimento vegetal	19
4.7 – Número e massa de nódulos	20
4.8 – Análises estatísticas	20
5 – Resultados e discussões	21
5.1 – Massa fresca	21
5.2 – Massa seca	21
5.3 – Massa seca do sistema radicular	22
5.4 – Número de nódulos	22
5.5 – Massa de nódulos	23
5.6 – Altura das plantas	24
6 – Conclusão	25
7 – Referências bibliográficas	26

INTRODUÇÃO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) tem origem na América, no entanto não há precisão de um local específico como centro de origem (Embrapa, 2010). A cultura do feijoeiro é praticada em todo o mundo devido às suas propriedades nutricionais e alta variabilidade de caracteres agronômicos (BONETTI, 1988).

O feijoeiro é capaz de estabelecer associação com bactérias diazotróficas do tipo rizóbio, as quais podem fornecer nitrogênio à planta por meio da estrutura simbiótica formada nas raízes, chamadas de nódulos. No entanto, a prática de inoculação de rizóbios em sementes de feijoeiro ainda é rara por algumas razões: tradicionalmente, o melhoramento de cultivares de feijoeiro é feito sob condições de alta fertilidade do solo; por existir um descompasso entre a formação dos nódulos e a exigência nutricional da planta; e por haver promiscuidade por parte da planta em se associar com espécies diferentes de rizóbios, algumas delas ineficientes (Embrapa, 2002). No entanto, novas cultivares têm sido lançadas pelas instituições de pesquisa, sendo que há necessidade de se avaliar o potencial de nodulação quando tratadas com inoculante comercial. Ao mesmo tempo, novos produtos orgânicos têm sido desenvolvidos como proposta de serem utilizados como biofertilizantes. Há hipóteses de que alguns dos biofertilizantes podem ter efeitos tanto na resposta da planta à tentativa de associações patogênicas benéficas, como na associação com rizóbios.

Na cultura do se destacam mundialmente a Índia e o Brasil, porém ambos exportam pouco, já que além de grandes produtores são grandes consumidores. No Brasil os maiores produtores são Paraná e Minas Gerais. A cultura, apesar de ter perdido área plantada nos últimos anos, consegue manter a produção devido ao maior incremento tecnológico, proporcionado pela entrada de grandes produtores no cenário da cultura do feijoeiro comum. Além disso, o que contribui para a produção se manter estável são as novas cultivares, como a BRS Estilo e BRS Notável, altamente produtivas e resistentes a pragas e doenças chave na cultura.

A fixação biológica é feita por bactérias fixadoras de nitrogênio e algumas cianobactérias. Neste processo, ocorre a transformação do nitrogênio gasoso atmosférico em compostos de amônia solúveis em água, que servirão para nutrir a planta. Na fixação biológica de nitrogênio, a bactéria, ao entrar em contato com a raiz, provoca nela modificações morfológicas, o que gera o encurvamento do pelo radicular. Este encurvamento favorecerá o estabelecimento do cordão de infecção e a diferenciação das células do córtex interno, em que as bactérias irão se abrigar. À medida que a infecção vai avançando, esse

cordão de infecção vai se ramificando entre as células do córtex, o que causa a hiperplasia das mesmas. Com o estabelecimento deste cordão de infecção, as bactérias estão aptas a penetrar na planta para realizar o processo de fixação do nitrogênio gasoso atmosférico. Com a realização deste processo, a bactéria fornece o nitrogênio para a planta através da membrana peribacteróide, a qual é como um sistema vascular, e por isso através dela, as bactérias recebem da planta os nutrientes necessários para sua manutenção. Dessa forma, as bactérias fornecem nitrogênio para a planta de forma econômica e ambientalmente correta.

Os biofertilizantes estão relacionados à agricultura orgânica, a qual visa, através de produtos orgânicos, fortalecer os mecanismos naturais de defesa da mesma. Como são substâncias que fornecem nutrientes às plantas, são produtos fertiprotetores (FERNANDES *et al.*, 2008; BETTIOL *et al.*, 1998). A matéria-prima base dos biofertilizantes é o esterco fresco de animais ruminantes, podendo adicionar vários nutrientes, soro de leite, melaço, etc. Os principais minerais adicionados são: sulfato de zinco, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, sulfato ferroso, ácido bórico e molibdato de sódio, além de cal hidratada (MAGRO, 1994).

Como é previsto até a safra 2019/20 um aumento de mais de 40 milhões de toneladas de grãos, os biofertilizantes tornam-se de fundamental importância, uma vez que não geram os desequilíbrios ambientais provocados pelos fertilizantes químicos e defensivos agrícolas. Portanto, prevendo um grande aumento do uso de defensivos químicos no campo para os próximos anos, pode-se notar o papel fundamental que os biofertilizantes podem passar a ter em um contexto de uma agricultura mais correta socialmente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Feijoeiro

O feijão (*Phaseolus vulgaris L.*), planta pertencente à família fabaceae, é uma planta anual, que pode atingir até 60 cm de altura (Embrapa, 2010). É uma planta muito popular e cultivada no Brasil, de modo que tem muita importância culturalmente ao brasileiro. Pesquisas com base em padrões eletroforéticos de faseolina, uma proteína do feijão que possui pequenas diferenças de acordo com o cultivar do qual foi extraído, sugerem a existência de três centros primários de diversidade genética, tanto para espécies silvestres como para as cultivadas de *Phaseolus vulgaris*: Região entre México e Guatemala, Sul dos Andes e Norte dos Andes (Embrapa, 2010). Contudo, entre os pesquisadores, não há consenso sobre essas origens, a não ser que a planta é de origem americana.

A cultura é praticada em todo o mundo, uma vez que apresenta alta variabilidade de caracteres agrônômicos, além de ser rica em proteína vegetal, vitaminas do complexo B e sais minerais, ferro, cálcio e fósforo (BONETTI, 1988). De 1992 para 2013, se analisarmos o consumo per capita, é estável. Mas em relação às décadas de 1970 e 1980, nota-se uma queda considerável. Entretanto, a importância da cultura do feijão ainda é muito significativa no país, tanto em termos econômicos, quanto culturais.

2.2 Produção e produtividade do feijoeiro

Nota-se que a área plantada vem diminuindo, entretanto a produção vai se mantendo. Isso acontece devido à entrada de médios e grandes produtores com a prática da cultura do feijoeiro comum (CONAB, 2013). Este fato se verifica nos últimos 20 anos e é de muita importância, já que é uma cultura caracterizada ao longo do tempo como sendo praticada somente por pequenos produtores (Embrapa, 2010).

No Brasil, os maiores produtores são: Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato grosso, sendo que Paraná e Minas Gerais se destacam dos restantes com produções de 677.900 toneladas e 663.700 toneladas, respectivamente (CONAB, 2013). Já, em relação aos maiores países produtores, os principais são Índia e Brasil com uma produção de 4.870.000

toneladas e 2.906.500 toneladas, respectivamente. China, México, EUA e Argentina completam esta lista (FAO, 2013).

De 1999 para 2013, o rendimento médio (Kg/ha) vem aumentando com pequenas oscilações, de tal modo que em 1999 o rendimento médio foi de 684 Kg/ha e na safra 2012/13 se espera 938 Kg/ha (CONAB, 2013). Isto se dá devido à entrada de grandes produtores com incrementos de tecnologia e produção, com novos insumos e melhor manejo.

As novas cultivares de feijão lançadas no mercado possuem alto potencial produtivo, além de resistência a doenças e pragas chave na cultura em questão. A Embrapa lançou novas cultivares muito importantes, como a BRS Ametista, BRS Notável e BRS Estilo, utilizada no experimento. Ambas apresentam potencial produtivo acima de 4000 kg/ha e resistência à Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) (Embrapa, 2013).

2.3 Nitrogênio como nutriente vegetal

O nitrogênio é o principal elemento constituinte do ar atmosférico. Estima-se que 78% do ar é constituído de nitrogênio. Contudo, este elemento na forma gasosa não é útil às plantas, uma vez que estas não conseguem metabolizá-lo neste estado físico. Este fato deveria ser preocupante, uma vez que o nitrogênio é essencial no processo de formação de aminoácidos, proteínas, DNA, RNA e enzimas. Além de ser essencial na formação dessas estruturas, o nitrogênio atua na formação da clorofila. Portanto, sem nitrogênio não há fotossíntese (RYLE et al., 1979; TAIZ & ZIEGER, 2004). Assim, a deficiência de nitrogênio na planta faz com que ocorram sintomas como: clorose nas folhas mais velhas; ângulo agudo entre caule e folhas; dormência das gemas laterais; senescência precoce; folhas menores; baixa produção de ramos e botões florais; menor pegamento de vagens e redução no tamanho das sementes (IPNI, 2013). Então, sua deficiência causa queda na qualidade dos grãos e queda na produtividade. Analisando os nutrientes na agricultura, o nitrogênio é o elemento mais utilizado, extraído e mais exportado pelas culturas (MACHADO, 2010).

O nitrogênio chega ao solo através de compostos orgânicos provenientes de restos animais e vegetais ou inorgânicos. Sua fixação pode ser biológica (podendo esta ser simbiótica ou não) ou através das descargas elétricas e adição de fertilizantes inorgânicos e orgânicos. Portanto, o nitrogênio no solo pode estar na forma orgânica ou inorgânica, sofrendo mudanças bioquímicas como mineralização, nitrificação, desnitrificação ou imobilização. Ao mesmo tempo, o N pode ser perdido do solo por meio da volatilização, erosão, lixiviação e extração pela cultura (MACHADO, 2010)

A fixação do N em adubos minerais pode ser feita pelo homem por meio do processo Haber-Bosch, no qual, para quebrar a tripla ligação entre as duas moléculas de nitrogênio é necessária muita energia, ou seja, necessita-se de altas temperaturas e alta pressão. Isso é conseguido somente com a queima de combustíveis fósseis e este custo é repassado na produção dos adubos nitrogenados. Ou seja, é um processo consideravelmente mais caro. O uso de adubos nitrogenados também pode causar poluição, uma vez que grande parte dos adubos nitrogenados se perde no meio ambiente, por lixiviação (NO_3^- , NO_2^- e NH_4^+) ou por volatilização (NH_3^+ , N_2O) (WELIKSON, 2011).

Considerando a necessidade de nitrogênio pelas plantas, a escassez deste nutriente no solo, os processos de perda de N e o alto custo econômico e ambiental da produção de fertilizantes nitrogenados, denota-se a importância de estudos de inoculação com rizóbios eficientes. Com essa prática há a possibilidade de deixar de ser necessária a aplicação de fertilizantes nitrogenados, ou, no mínimo, a chance de ocorrer uma redução significativa do uso de fertilizantes nitrogenados.

2.4 Fixação biológica do nitrogênio atmosférico

O processo de transformação do nitrogênio gasoso atmosférico em um nitrogênio assimilável pelas plantas e animais é conhecido por Fixação Biológica de nitrogênio, o qual é realizado pelas bactérias fixadoras de nitrogênio e algumas cianobactérias (Embrapa, 2013). Estes microorganismos conseguem fixar o nitrogênio e convertê-lo em compostos de amônia solúveis em água devido à nitrogenase, a qual é um complexo enzimático formado por duas subunidades: Fe - proteína e MoFe – proteína (BURRIS, 1999; MYLONA et al., 1995; TAÍZ & ZIEGER, 2004). A Fe – proteína tem o papel de captar a energia necessária para o processo. Já, a MoFe – proteína converte o nitrogênio em Amônia.

O feijoeiro forma associação simbiótica com bactérias diazotróficas do grupo dos rizóbios. As bactérias conhecidas como rizóbios são pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Phylorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium* (Embrapa, 2002). A simbiose das bactérias destes gêneros com as leguminosas são geralmente reconhecidas como interações mutualísticas, entretanto no início da instalação das bactérias na planta a interação é parasítica, uma vez que estes microorganismos recebem fotoassimilados da planta e ainda não fixam nitrogênio (STRALIOTTO, 2002).

A interação entre essas bactérias e as raízes das plantas leva à formação de nódulos radiculares, os quais são considerados novos órgãos com células infectadas por essas bactérias, que irão fazer a fixação do nitrogênio atmosférico (BROUGHTON *et al.*, 2006). Logo, o nitrogênio atmosférico será reduzido à amônia, que é tóxica, e por isso esta é convertida em amida e/ou ureídeos. São estes produtos que nutrem a planta.

Este processo acontece naturalmente nas culturas leguminosas, e talvez por isso a maioria dos produtores não tem a preocupação em utilizar inoculantes visando uma melhora na fixação biológica de nitrogênio. A fixação biológica é de tal importância que há inúmeras pesquisas visando o desenvolvimento de inoculantes eficientes para culturas não leguminosas, principalmente gramíneas (Embrapa, 2012). Esses acontecimentos podem mudar os hábitos dos produtores de feijão.

O processo de nodulação na planta começa com o contato entre a bactéria e a raiz. Este processo ocorre 2 horas após o início deste contato. Os primeiros nódulos vão se desenvolver preferencialmente em regiões de alongamento e em zonas de formação de pequenos pelos radiculares (BHUVANESWARI *et al.*, 1980). Então são nestes locais que ocorrerá a infecção. A nodulação é um complexo processo que envolve diferentes agentes sinalizadores (GERAHTY *et al.*, 1992; TIMMERS *et al.*, 1999; TAÍZ & ZIEGER, 2004). Primeiro as raízes secretam substâncias atrativas às bactérias. Essas substâncias são os isoflavonóides e as betaínas, as quais ativam enzimas que irão induzir a transcrição dos genes NOD na planta. As proteínas transcritas desses genes vão produzir oligossacarídeos lipoquitínicos, mais conhecidos como fatores NOD. Os fatores NOD irão efetivar o processo de nodulação, provocando modificações radiculares essenciais para o sucesso do processo de infecção (GERAHTY *et al.*, 1992).

O início da modificação é o encurvamento dos pelos radiculares. Quando se forma esse encurvamento, as células do córtex interno modificam-se para abrigar as bactérias (GERAHTY *et al.*, 1992; TIMMERS *et al.*, 1999). Ou seja, a planta reconhece que está iniciando um processo de infecção benéfico a ela. Ao mesmo tempo em que se forma esse espaço, também se forma um cordão de infecção no pelo, de modo que com o avanço da infecção este cordão vai expandindo para o interior do córtex e se ramificando, causando hiperplasia das células infectadas. Terminado o processo de formação do cordão de infecção e sua expansão no córtex, haverá a liberação de bactérias no citoplasma das células que sofreram hiperplasia. Neste espaço, ocorrerá então a multiplicação das bactérias até certo ponto, no qual elas param de se dividir e aumentam de tamanho, fazendo a diferenciação para

bacteróides. Após essa diferenciação em bacteróides, ocorre a formação da membrana peribacteróide, a qual é uma membrana que envolve as bactérias e tem a função de um sistema vascular. Então, essa membrana irá fornecer o nitrogênio fixado pela bactéria à planta e irá receber da planta os nutrientes necessários para a manutenção das bactérias fixadoras, principalmente fotossintatos (TAÍZ & ZIEGER, 2004). Este é um processo que não despende energia, não polui, enriquece o solo com nitrogênio e é de baixo custo (Embrapa, 2002).

2.5 Biofertilizante

Desde a segunda guerra mundial há uma nova realidade no campo devido aos pacotes tecnológicos, os quais contam com a mecanização, adubações pesadas e uso de agrotóxicos. Este fato gerou problemas ambientais na década de 1960 que são vistos até hoje, como: morte da fauna, flora e surgimento de biótipos resistentes aos defensivos agrícolas. Daí a importância da agricultura orgânica atualmente. Na agricultura orgânica, o controle de fitoparasitas se baseia em medidas anti - estresse, que permitam que as plantas expressem plenamente seus mecanismos naturais de defesa (AKIBA *et al.*, 1999). Portanto, a agricultura orgânica é definida como um sistema de produção que evita ou exclui amplamente o uso de fertilizantes minerais, pesticidas, reguladores de crescimento e aditivos para a produção vegetal e alimentação animal e compostos sintéticos (EHLERS, 1996).

A agricultura orgânica relaciona diretamente a fertilidade do solo à matéria orgânica já contida neste solo, de modo que microorganismos presentes no solo podem atuar nos compostos biodegradáveis e, assim, suprir elementos químicos e minerais cruciais para o desenvolvimento vegetativo (EHLERS, 1996).

Produtos biológicos provenientes das plantas podem ter ação inseticida, além de estimular o metabolismo e a defesa contra agentes patogênicos. Logo, esses produtos podem ser fertiprotetores e protetores. Fertiprotetores fornecem nutrientes às plantas, e protetores agem diretamente no controle de fitoparasitas. Portanto, biofertilizantes são produtos fertiprotetores (FERNANDES *et al.*, 2008; BETTIOL *et al.*, 1998).

As pesquisas com biofertilizantes tiveram início na década de 90 (SANTOS, 1992; MAGRO, 1994), pelos resultados positivos observados no campo com a pulverização foliar de biofertilizante bovino anaeróbico, produzido pela mistura de esterco de bovino fresco e água (Santos, 1992) ou ainda com adição de minerais ao mesmo (MAGRO, 1994). Como matéria prima básica é utilizado o esterco fresco de ruminantes. Vários outros componentes poderão ser adicionados à mistura, como: minerais, fígado de boi, leite ou soro de leite, açúcar

mascavo ou melação de cana, farinha de osso, etc. Os principais minerais adicionados no preparo do biofertilizante Supermagro são: sulfato de zinco, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, sulfato ferroso, ácido bórico e molibdato de sódio, além de cal hidratada (MAGRO, 1994).

As projeções do agronegócio do Brasil até 2019/2020, é que a produção de grãos (soja, milho, trigo, arroz e feijão) deverá aumentar mais de 40 milhões de toneladas (MAPA, 2009), o que implica em um aumento considerável no uso de fertilizantes e defensivos agrícolas, aumentando assim os riscos à saúde das pessoas, degradação dos solos, contaminação de águas subterrâneas, rios e lagos, etc.

A utilização de insumos naturais orgânicos tende a diminuir os custos de produção e gerar mais empregos, além de evitar o êxodo rural. Portanto, é necessário buscar alternativas para redução e minimização do uso de fertilizantes e defensivos agrícolas utilizados para o controle de pragas, doenças e nutrição das plantas (ROEL, 2002).

O biofertilizante utilizado no experimento tem obtido sucesso em outros trabalhos para colonização micorrízica, processo no qual a linguagem entre os agentes bióticos envolvidos é semelhante ao processo de nodulação. Daí, a razão por utilizá-lo e analisar seu comportamento no processo nodulatório e de desenvolvimento da *Phaseolus vulgaris* L.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo estudar as hipóteses de que tanto a inoculação de rizóbios, como a aplicação do biofertilizante atuam de modo efetivo no processo de nodulação e desenvolvimento da planta. Necessita-se, então, verificar estatisticamente o desempenho do inoculante comercial MASTERFIX - feijão®, assim como do biofertilizante utilizado, analisando o desenvolvimento vegetativo, desenvolvimento radicular e nodulação.

Portanto, esta pesquisa busca comprovar a eficácia (ou não) do produto comercial e do biofertilizante, além de estudar a interação entre estes. O uso de inoculantes na cultura do feijoeiro ainda é bastante baixo, mesmo com estudos mostrando vantagens. Logo, este trabalho pretende ser, se os resultados estatísticos permitirem, mais uma referência positiva no uso de inoculantes para a cultura do feijão.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de coleta do solo

O solo coletado para a realização do experimento foi retirado da Fazenda Experimental do Glória, localizada na parte sudeste do município de Uberlândia, MG. A fazenda experimental está compreendida nas coordenadas geográficas de 18°58'18.46" S e 48°12'28.57" O. A altitude do local compreende cerca de 860 metros. Este local está inserido no Bioma Cerrado e de acordo com o mapa de solo do Plano diretor de Uberlândia, o solo encontrado na maior parte da área é o Latossolo Amarelo distrófico.

Este local está inserido no domínio morfoclimático do Cerrado. De acordo com a classificação proposta por Köppen, o clima é tropical com chuvas no verão (Aw). A precipitação média anual é de 1583,6mm, sendo Julho o mês mais seco, no qual precipita, em média, somente 14 mm. Já, a temperatura média anual varia entre 22°C e 27°C. Na prática, durante o ano há uma estação seca e uma estação chuvosa, sendo ambas bem definidas.

A área possui processos contínuos de degradação, uma vez que houve grande desmatamento realizado no local para a construção de estradas e para o cultivo e formação de

pastagens, o que expôs o solo diretamente aos agentes climáticos, trazendo com isso uma intensificação da erosão natural e causando prejuízos ao meio ambiente.

O solo utilizado no experimento foi retirado da Fazenda do Glória, em Uberlândia-MG. Coletou-se cerca de 300 kg de solo para preenchimento dos vasos na casa de vegetação. Este solo foi retirado em uma profundidade média de 30 cm. Após isso, foi feita a mistura do solo em uma lona. Do solo misturado, foram coletadas 8 amostras simples, as quais formaram a amostra composta de 500 g. Esta amostra composta foi enviada ao Laboratório de Fertilidade da Universidade Federal de Uberlândia para que fosse feita a análise do solo em questão.

Após 3 semanas, a análise química do solo foi concluída. Esta indicou um solo ácido e extremamente pobre em fósforo (Tabela 01). Logo, para dar seguimento ao experimento, o solo utilizado nos vasos foi corrigido com reagentes salinos para regularizar o pH e corrigir o teor de fósforo, uma vez que este nutriente é essencial para boa produtividade de qualquer cultura.

Tabela 01: análise química do solo

pH H ₂ O	P me ^h -1	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	SB	t	T	V(%)	m(%)
5,5	1,9	11	160	24	1,03	1,18	4,13	25	13

Baseado na análise de solo, cálculos foram feitos para determinar a quantidade de reagentes a colocar em cada vaso do experimento. Primeiro, determinou-se o volume de solo utilizado no vaso, através da fórmula $V=(\pi h/3)(R^2+Rr+r)$, onde **h** representa a altura do tronco de cone; **R** é o raio da base maior; e **r** é o raio da base menor. As medidas feitas nos vasos mensuraram R = 8,75 cm, r = 6,75 cm e h = 14 cm. Assim, determinou-se que o volume de cada vaso foi de 2,6 dm³. Logo, as contas a respeito da quantidade de reagentes que seriam adicionados aos vasos seriam feitas com base nesse volume, o qual corresponderia ao volume de solo adicionado a cada vaso.

No laboratório determinaram-se os reagentes e suas respectivas quantidades que seriam usados para corrigir e fertilizar satisfatoriamente o solo contido nos vasos. Então, como reagentes foram utilizados: 208 mg/vaso de K₂HPO₄ (fonte de fósforo e potássio); 195 mg/vaso de KCl (fonte de potássio); 4,2 g/vaso de CaCl₂.2H₂O (fonte de cálcio); e 1,02 g/vaso de (MgCO₃)₄.Mg(OH)₂.5H₂O (fonte de magnésio).

Após isso, em laboratório foram separados 24 copos plásticos para, neles, misturarmos essa quantidade de cada reagente. Então, cada copo seria destinado a um vaso. Preparados os

24 copos com a mistura de reagentes, estes foram levados até a área experimental para executar a aplicação destes nos vasos. Para melhor distribuição dos adubos na rizosfera, essa mistura de reagentes presentes nos copos foi colocada em subsuperfície nos vasos. Então, em cada vaso, retirou-se a camada dos 5 primeiros centímetros e após isso distribuiu-se nos vasos os reagentes.

Terminado o processo, os 5 centímetros de solo que foram retirados, foram novamente recolocados nos vasos. Para melhor distribuição dos nutrientes no solo, logo após a correção e fertilização, os vasos foram irrigados de modo a ficar na capacidade de campo. Nos 3 dias posteriores à adição de reagentes, esses vasos foram irrigados com o mesmo propósito. Após isso, os solos tornaram-se aptos para a semeadura.

4.2 Delineamento experimental e condução do experimento

O Experimento foi realizado em casa-de-vegetação, em uma área experimental da Universidade Federal de Uberlândia - MG, próxima à área do campus Umuarama. A casa-de-vegetação possui 20 metros de comprimento e 10 metros de largura. Logo, as condições para o desenvolvimento da planta de feijão foram ideais, já que a área é livre de ataques de insetos e os cuidados necessários foram executados diariamente, como irrigação, etc.

Na casa - de - vegetação da área experimental, o experimento foi conduzido de acordo com o planejamento prévio. Estabeleceu-se durante o planejamento do experimento que haveria 4 tratamentos com 6 repetições cada. Estes tratamentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, uma vez que o ambiente é homogêneo. Os 4 tratamentos consistiram em: Testemunha (T1); MASTERFIX - feijão® (T2); Fertilizante biológico natural (T3); e Fertilizante biológico natural somado ao MASTERFIX - feijão® (T4).

As sementes de feijoeiro comum utilizadas no experimento são da cultivar BRS Estilo, desenvolvida pela Embrapa. Esta cultivar apresenta arquitetura ereta, alto potencial produtivo e resistência, tanto ao acamamento quanto à oito tipos de doenças do fungo causador da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Além disso, também é resistente ao mosaico-comum (BCMV). Os grãos são claros com o tipo de grão comercial carioca.

Foram avaliadas as seguintes características durante o desenvolvimento do feijoeiro comum BRS Estilo: altura das plantas, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, massa seca do sistema radicular, massa dos nódulos e número de nódulos.

4.3 Inoculação de rizóbios

O inoculante comercial utilizado foi o MASTERFIX – feijão®, que é um produto da Stoller à base de turfa contendo bactérias do gênero *Rhizobium*. Nesta turfa há $2 \cdot 10^9$ UFC/g. É recomendado que se aplique este produto uniformemente de 100 a 200g a cada 50 kg de sementes de feijão, à sombra, e em local fresco.

Como apenas 2 tratamentos necessitam do inoculante comercial (T2 e T4), poucas sementes foram tratadas e, conseqüentemente, pouco produto utilizado, sendo possível fazer a inoculação das sementes de forma manual e bastante simples. A inoculação foi feita em laboratório, utilizando um recipiente plástico, no qual foi inserido 500g de sementes de feijoeiro comum BRS Estilo e 2g de MASTERFIX – feijão®. Posteriormente, foi feita a mistura de modo manual. Após este processo de inoculação, as sementes permaneceram em local fresco e à sombra até o momento da semeadura, a qual foi feita logo em seguida.

4.4 Instalação e condução do experimento

No dia 20/06/2013, na casa de vegetação, os 24 vasos foram semeados com as sementes de feijão da cultivar BRS Estilo. A semeadura foi executada de modo a semear em cada vaso 8 sementes, dispostas em covas, no formato circular e equidistantes, sendo que cada cova foi perfurada a 3 cm de profundidade.

Após a semeadura e, conseqüentemente, instalação completa do experimento, os vasos foram irrigados 1 vez ao dia, durante todos os dias, de tal forma que não ocorreu excesso e nem falta de água. Esta questão é muito importante, uma vez que a cultura do feijão é bastante afetada pelas condições hídricas, seja pelo excesso ou falta de água. Como na maioria das culturas, não deve haver falta de água no florescimento e no período de formação de vagens, já que isto levará à grande perda de produtividade. Por outro lado, se houver excesso de água no solo, tanto o desenvolvimento vegetativo, quanto a frutificação, são afetados negativamente, uma vez que o solo torna-se mal aerado.

As plantas sofreram desbaste aos 17 dias após a semeadura para que restassem apenas as 3 plantas mais vigorosas e uniformes em cada vaso. Esse manejo foi adotado corretamente para evitar principalmente a competição intra-específica e conseqüentemente evitar erros futuros no experimento.

4.5 Biofertilizante

O biofertilizante foi obtido por fermentação aeróbica em tambores de plástico de 50L. Em cada tambor foram adicionados 6L de esterco fresco bovino; 18L de água não clorada; 0,25 L de leite fresco bovino e 0,25 L de melação de cana. Após homogeneização por cinco minutos, foram deixados em repouso por três dias. Os minerais foram adicionados para as seguintes concentrações finais:

- 1) Sulfato de zinco (8 g L^{-1});
- 2) Cloreto de cálcio (8 g L^{-1}),
- 3) Farinha de osso ($0,8 \text{ g L}^{-1}$);
- 4) Sulfato de magnésio (8 g L^{-1});
- 5) Sulfato de manganês ($1,2 \text{ g L}^{-1}$);
- 6) Sulfato de cobre ($1,5 \text{ g L}^{-1}$);
- 7) Sulfato de cobalto ($0,2 \text{ g L}^{-1}$);
- 8) Sulfato ferroso ($0,22 \text{ g L}^{-1}$);
- 9) ácido bórico (4 g L^{-1});
- 10) Molibdato de sódio ($0,4 \text{ g L}^{-1}$) (SANTOS, 1992; MAGRO, 1994; FERNANDES, 2000).

As plantas de feijoeiro tratadas com o biofertilizante sofreram duas aplicações na parte aérea de 15 mL/vaso de biofertilizante diluído a 5%. A primeira aplicação se deu quando as plantas apresentaram o segundo trifólio completamente expandido (aos 30 dias após a semeadura). Já, a segunda aplicação foi realizada 7 dias após a primeira pulverização (37 dias após a semeadura).

As aplicações do biofertilizante diluído a 5% se deram por meio de um borrifador, o qual foi testado em laboratório para verificar a quantidade de vezes que este deveria ser acionado para liberar no meio 15 ml da calda biofertilizante. Estas aplicações foram via foliares. Portanto, no momento da aplicação, o solo foi protegido com uma cobertura de plástico para que o biofertilizante não atingisse o solo do vaso.

4.6 Desenvolvimento vegetal

A altura das plantas foi medida em 4 etapas, equidistantes 7 dias uma das outras, com uma trena graduada em centímetros, de tal forma que em cada uma dessas etapas se media as 3 plantas de cada vaso e ao final se fazia a média destas alturas. A primeira medição foi feita uma semana antes da primeira aplicação do biofertilizante no dia 13/07/2013. As demais medições se deram com intervalo de 7 dias.

A parte aérea e as raízes foram colhidas 60 dias após a semeadura das plantas, por ocasião do florescimento das plantas. O corte da parte aérea se deu por meio de um canivete, atuando rente ao solo. Logo após a coleta, a parte aérea foi pesada, obtendo-se a massa fresca. Em seguida, após medida a massa fresca, as amostras foram postas para secar em estufa durante 96 horas com circulação de ar forçada a 60°C. Assim, a massa seca da parte aérea foi medida após 24 horas de secagem.

No dia 20/08 as raízes foram retiradas dos vasos de forma bastante cuidadosa para não ocorrer danos no sistema radicular e, assim, não prejudicar a contagem dos nódulos. Foi necessário, além de muito cuidado no manuseio, uma peneira em bom estado e bastante água para limpar as raízes, sem levar à perda de nódulos e partes do sistema radicular. Essas raízes foram inseridas em papel Kraft com as respectivas identificações da parcela. Em seguida foram levadas ao laboratório, onde permaneceram em estufa a 65°C por 96 horas até o dia 24/08, em que foi feita a pesagem do sistema radicular de cada parcela.

4.7 Número e massa de nódulos

Após a pesagem dos sistemas radiculares, foi feita a separação dos nódulos de cada sistema radicular. É a parte mais desgastante de todo o processo experimental, uma vez que a contagem é totalmente manual, além de demorada, necessitando de grande concentração e atenção. Os nódulos foram separados manualmente nas raízes sobre papel Kraft, com auxílio de uma luminária, pinças e lupa. Separados esses nódulos, eles foram contados para cada parcela e em seguida pesados em uma balança de precisão. Assim, obteve-se o número de nódulos e seus respectivos pesos em cada parcela.

4.8 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância, ao nível de 5% de significância. As comparações das médias foram feitas pelo teste de Tukey, utilizando o software Sisvar, desenvolvido pela Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Massa fresca da parte aérea

A massa seca do feijoeiro não se diferenciou estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 2), apesar de que os tratamentos que utilizaram MASTERFIX – feijão® foram, numericamente, superiores. Contudo, segundo o Teste de Tukey a 5%, esta superioridade numérica não foi suficiente para os tratamentos que utilizaram o MASTERFIX – feijão® serem considerados melhores do que os tratamentos em que não se utilizou o MASTERFIX – feijão®.

Tabela 2. Efeito dos tratamentos na massa fresca da parte aérea do feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Médias
Testemunha	29,99 a
Biofertilizante	30,60 a
Biofertilizante + MASTERFIX	37,46 a
MASTERFIX – feijão®	38,06 a

Médias (n = 6) acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

5.2 Massa seca da parte aérea

Com base no teste de Tukey a 5% de significância vemos que os tratamentos não diferem estatisticamente entre si em relação à massa seca (Tabela 3). Pode-se notar, como na análise para massa fresca, um melhor resultado, numericamente, dos tratamentos em que se utilizou o MASTERFIX – feijão®, o que não foi suficiente para que estes se diferenciassem

estatisticamente dos demais tratamentos, sendo, portanto, iguais segundo o Teste de Tukey a 5%.

Tabela 3. Efeito dos tratamentos na massa seca da parte aérea do feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Médias
Testemunha	6.89 a
Biofertilizante	7.30 a
Biofertilizante + MASTERFIX	8.48 a
MASTERFIX – feijão®	9.13 a

Médias (n = 6) acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

5.3 Massa seca do Sistema radicular

Nota-se, com base no teste de Tukey a 5% de significância, que o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado foi o único a se diferenciar estatisticamente da testemunha (Tabela 4). Ou seja, de acordo com esse experimento e as condições nas quais ele foi conduzido, nota-se que o tratamento com biofertilizante junto ao MASTERFIX – feijão® teve efeito inesperado de antagonismo, uma vez que seus resultados apresentaram resultados menores, numericamente, do que o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado. Isto se verifica, apesar de estatisticamente não se notar diferença entre os tratamentos MASTERFIX – feijão® e Biofertilizante + MASTERFIX – feijão®.

Tabela 4. Efeito dos tratamentos na massa seca do sistema radicular do feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Médias
Testemunha	8.48 b
Biofertilizante	9.03 ab
Biofertilizante + MASTERFIX	11.38 ab
MASTERFIX – feijão®	16.20 a

Médias (n = 6) acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

5.4 Número de nódulos

Nota-se, com base no teste de Tukey a 5% de significância, que o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado, assim como o tratamento com MASTERFIX – feijão® junto ao biofertilizante, superaram em muito os outros tratamentos quanto ao número de nódulos (Tabela 5). A diferença numérica do tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado para o tratamento com biofertilizante + MASTERFIX – feijão® é menor, mas se levarmos em conta que teremos milhares de plantas em uma área de cultivo, supõe-se que o aproveitamento do nitrogênio será consideravelmente maior. Os tratamentos que utilizaram MASTERFIX – feijão® não diferenciaram entre si com o Teste de Tukey a 5% de significância. Contudo, se diferenciam dos demais tratamentos, os quais foram, além de estatisticamente iguais, praticamente, numericamente iguais, mostrando que o biofertilizante nas condições do experimento não estimula a nodulação.

Tabela 5. Efeito dos tratamentos na quantidade de nódulos produzidos pelo feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Médias
Testemunha	218.83 b
Biofertilizante	219.83 b
Biofertilizante + MASTERFIX	417.83 a
MASTERFIX – feijão®	439.33 a

Médias (n = 6) acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

5.5 Massa de nódulos

Segundo o Teste de Tukey a 5% de significância, o único tratamento a se diferenciar estatisticamente da testemunha é o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado (Tabela 6). Analisando os resultados para número de nódulos, já se esperava uma grande diferença estatística a favor dos tratamento com MASTERFIX – feijão® para a massa de nódulos. Apesar do tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado não se diferenciar estatisticamente, segundo o Teste de Tukey a 5% de significância, do tratamento com Biofertilizante + MASTERFIX – feijão®, nota-se uma diferença de 0,162g de nódulo. Se tratando de nódulos é uma diferença bastante considerável. Analisar a massa de nódulos é até mais importante do que analisar o número de nódulos, uma vez que uma planta pode produzir mais nódulos do que outra planta. Entretanto, a planta que produz menos nódulos pode ter uma massa de nódulos maior, portanto tem maior número de bactérias fixadoras de

nitrogênio. Este fato não significa que analisar o número de nódulos seja dispensável, já que os dados obtidos nos dão informações a respeito do processo de nodulação, extremamente importante em culturas comerciais, como a soja (*Glycine Max L.*).

Tabela 6. Efeito dos tratamentos na massa de nódulos produzida pelo feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Médias
Testemunha	0.296 b
Biofertilizante	0.298 b
Biofertilizante + MASTERFIX	0.551 ab
MASTERFIX – feijão®	0.713 a

Médias (n = 6) acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

5.6 Altura das plantas

Analisando o Teste de Tukey a 5% de significância para cada uma das medições de altura, nota-se diferença estatística apenas na primeira medição, período no qual sequer a primeira aplicação de biofertilizante foi feita (Tabela 7). Logo, não dá para dizer que os tratamentos com MASTERFIX - feijão e biofertilizante tiveram efeitos significativos na altura das plantas durante o ciclo, a não ser em um primeiro momento, onde o MASTERFIX – feijão® isolado fornece um crescimento ligeiramente diferenciado.

Tabela 7. Efeito dos tratamentos na altura das plantas do feijoeiro em função de biofertilizante e inoculante.

Tratamentos	Medição 1	Medição 2	Medição 3	Medição 4
Testemunha	13.89 b	15.85 a	17.61 a	19.33 a
Biofertilizante	14.78 ab	16.37 a	17.82 a	19.11 a
Biofertilizante + MASTERFIX	15.30 a	16.62 a	18.13 a	20.02 a
MASTERFIX – feijão®	15.24 a	16.51 a	18.44 a	20,94 a

Médias acompanhadas por letras iguais não se diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

6. CONCLUSÕES

Com o presente trabalho, podemos concluir que os 2 tratamentos em que se utilizou o MASTERFIX – feijão® obtiveram o melhor desempenho apenas para número de nódulos. Para a massa de nódulos, o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado foi o único a se diferenciar da testemunha, mostrando seu bom desempenho para esta característica. Apesar de mostrar, numericamente, melhores resultados tanto para massa fresca da parte aérea, quanto para massa seca da parte aérea, o tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado não se diferenciou da testemunha, segundo o Teste de Tukey a 5% de significância.

O tratamento com MASTERFIX – feijão® isolado foi o único a se diferenciar estatisticamente da testemunha. Logo, analisando a massa seca do sistema radicular, podemos constatar um indicio de antagonismo entre o biofertilizante e o MASTERFIX – feijão®, uma vez que o desempenho do tratamento com biofertilizante somado ao MASTERFIX – feijão®, em termos de número, foi consideravelmente menor do que o tratamento com MASTERFIX - feijão isolado.

Apesar do biofertilizante utilizado no experimento ter obtido sucesso em outros trabalhos com relação à colonização micorrízica, nas condições em que este trabalho foi desenvolvido, este fertilizante orgânico não obteve os efeitos desejados e esperados à priori. Entretanto, é necessário mais estudos acerca deste biofertilizante para chegar a um consenso sobre sua relação com o processo de nodulação e desenvolvimento da planta de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Fica evidente a contribuição que o produto MASTERFIX – feijão® pode dar aos produtores da cultura no Brasil, já que ele claramente estimula o processo de nodulação, permitindo melhor aproveitamento do nitrogênio, o que contribui para um melhor desenvolvimento da planta de uma forma geral.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONETTI, R. Efeito do N do solo na fixação simbiótica do N₂ e na utilização de fertilizante nitrogenado em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Junho, 1982. 138p. Tese de Mestrado. Tese de Mestrado. Orientada por: Siu Mui Tsai Saito.

BURRIS, R.H. Advances in biological nitrogen fixation. **Journal of Industrial of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, p.381-393, 1999.

CONAB (Cia Nacional do Abastecimento). Avaliação da Safra Agrícola 2011/12. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_05_09_09_29_16_boletim_graos_maio_2013.pdf>. Acesso em: 15 de ago. de 2013.

EHLERS, E. Agricultura sustentável: origens e perspectivas de um novo paradigma. São Paulo: Editora Paradigma, 1996. 178 p.

ELENOR, A. W. Importância socioeconômica. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/arvore/CONTAG01_2_2611200785948.html>. Acesso em: 25 de ago. de 2013.

Embrapa Arroz e feijão. **Catálogo completo das cultivares de feijão**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/transferecia/tecnologiasprodutos/cultivares/index.php>>. Acesso em: 15 de ago. de 2013.

F, EVANDRO BINOTTO; M, SANDRO L. P.; M, PAULO A.; C, DERBLAI; S, JONES; N, DURVAL DOURADO; L, QUIRIJN DE JONG VAN; S, OSMAR; M, LIZIANY. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja. [Uruguaiana]. FZVA, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Crop description and Climate. Disponível em: <http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_bean.html>. Acesso em: 20 de ago. de 2013.

GERAHTY, N.; et al. Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional auto regulatory control point. *Plant Science*, v.58, p.1-7.

MACHADO, LEONARDO DE OLIVEIRA. Adubação nitrogenada. Disponível em: <<http://www.dpv24.iciag.ufu.br/new/dpv24/Apostilas/Monitor%20Leonardo%20-%20Apostila%20Adub.%20Nitrogenada%2002.pdf>>. Acesso em: 25 de ago. 2013.

MAGRO, D. Supermagro: a receita completa. *Boletim da Associação de Agricultura Orgânica*, n. 16, p.3-4. 1994.

MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). **Perfil do feijão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao/saiba-mais>>. Acesso em: 15 de ago. de 2013.

STRALIOTTO, R. A Importância da Inoculação com Rizóbio na cultura do feijoeiro. Disponível em: < http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/artigos/fbnl_inocula_feijoeiro>. Acesso em: 26 de ago. 2013.

TAÍZ, L.; ZIEGER, E. *Fisiologia vegetal*. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3° ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.

TORRES, M. Seminário discutirá fixação biológica de nitrogênio em plantas não leguminosas. *Grão em Grão*, p. 01, nov. 2012.

WELIKSON, C. Fritz Haber e a Síntese da Amônia. Disponível em: < http://web.ccead.pucrio.br/condigital/mvsl/linha%20tempo/Fritz_Haber/PDF_LT/LT_Texto_Fritz_Haber.pdf>. Acesso em: 26 de ago. 2013.

