



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS RURAIS
CAMPUS CURITIBANOS

RENAN CARLOS REBELATO

**EFEITO DA NOVA TÉCNICA DE COINOCULAÇÃO NA CULTURA DA
ALFAFA (*Medicago sativa*), COM *Rhizobium* e *Azospirillum***

CURITIBANOS

Novembro/2014

Renan Carlos Rebelato

Efeito da nova técnica de coinoculação na cultura da alfafa (*Medicago sativa*),
com *Rhizobium* e *Azospirillum*

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência para obtenção do título de Bacharel em Ciências Rurais, do Curso de Ciências Rurais, na disciplina de Projetos em Ciências Rurais ministrado pela Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

Orientador (a): Professora Sonia Purin.

CURITIBANOS

Novembro/2014

RESUMO

A alfafa (*Medicago sativa*) é originária da Ásia, tendo o Irã como centro geográfico de origem, esta cultura além de ser uma leguminosa forrageira é de fácil adaptação pelo mundo e chegando ao Brasil pelo Rio Grande do Sul no Século XIX. A alfafa possui uma grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes, pode ser considerada uma planta com altos índices de fixação de nitrogênio através da simbiose de bactérias aeróbicas, principalmente, da espécie *Rhizobium meliloti*. Uma possibilidade de aumentar o crescimento desta cultura é o uso da coinoculação que consiste em utilizar combinações de diferentes microrganismos, aos quais produzem um efeito sinérgico, que se superam os resultados produtivos obtidos com os mesmos, quando utilizados na forma isolada. Esta técnica já foi explorada em culturas economicamente importantes, como soja e feijão, porém seus efeitos para a cultura da alfafa permanecem desconhecidos. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da coinoculação da alfafa com bactérias do gênero *Rhizobium* e *Azospirillum* - sobre a produção de matéria seca, matéria verde e densidade de plantas por hectare. Os resultados esperados incluem um maior aumento na produção de alfafa e conseqüentemente na qualidade para a alimentação animal e produção de leite.

Palavras-chave: Simbiose, Sinérgismo, Produtividade, Fixação Biológica de Nitrogênio.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	1
2- JUSTIFICATIVA	2
3- REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1. Alfafa e seu cultivo no mundo e no Brasil.....	3
3.2. Manejo e uso da cultura	4
3.2.1- Pastejo	4
3.2.2- Forragem Verde	4
3.2.3- Feno	5
3.2.4-Ensilagem	5
3.3. Inoculação da alfafa	5
3.4. Técnicas de coinoculação	7
4- HIPÓTESE	8
5- OBJETIVOS	8
5.1 – Objetivo Geral	8
5.2 – Objetivos Específicos.....	8
6- METODOLOGIA	9
6.1- Descrição da área experimental	9
6.2- Tratamentos e amostragens.....	10
6.3- Análise estatística.....	11
7- RESULTADOS ESPERADOS	12
8 – CRONOGRAMA	12
9- ORÇAMENTO	13
10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

1- INTRODUÇÃO

A alfafa (*Medicago sativa*) é originária da Ásia, tendo o Irã como centro geográfico de origem. Esta cultivar além de ser uma leguminosa forrageira é de fácil adaptação pelo mundo. Chegou ao Brasil pelo Rio Grande do Sul no Século XIX (NUEMBERG et.al. 1992) e assim se difundiu para os outros estados.

Devido ao seu alto rendimento e à qualidade de sua forragem, a alfafa é uma das forrageiras mais utilizadas em todo o mundo (BOTREL et. al, 2001). Desta maneira “os estudos de melhoramento de alfafa no Brasil ainda são incipientes, e a introdução de materiais do exterior vem sendo a principal estratégia para a disponibilização desses germoplasma aos programas de melhoramento (FERREIRA e PEREIRA, 2005)”. Uma das principais características da alfafa é seu alto teor nutritivo de proteína bruta além de ser uma espécie com alta capacidade de fixar nitrogênio, (VASCONCELOS et. al, 2008). Possuindo assim maior valor nutritivo do que as gramíneas no mesmo estágio de desenvolvimento.

O sul do Brasil é muito comprometido no arrazoamento animal durante o inverno devido falta de pastagens alternativas além da aveia e do azevém. Com a utilização de alfafa, este problema pode ser atenuado, devido ao fato dela ser uma espécie de clima temperado. A alfafa possui uma grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes, sendo considerada cosmopolita por alguns autores, vegetando em áreas de deserto e até tundras (HADADD e CASTRO, 1999).

O nitrogênio é um nutriente primário para as plantas (RASSINI, 2003). Na alfafa, este nutriente pode ser suprido por meio da fixação biológica realizada por bactérias aeróbicas, principalmente, da espécie *Rhizobium meliloti*, aplicada na forma de inoculantes comerciais. Estudos recentes tem demonstrado que uma alternativa bastante promissora é o uso de bactérias de vida livre associados a raízes, uma técnica chamada coinoculação. Os benefícios desta técnica já vêm sendo registrados para culturas como feijão e

soja em diversas áreas do Brasil. Entretanto, o efeito desta prática permanece desconhecido para a grande maioria das culturas cultivadas no país, dentre elas a alfafa.

2- JUSTIFICATIVA

A alfafa produz em torno de 25 t MS ha⁻¹ ano⁻¹ porém essa produtividade, muitas vezes, não é alcançada devido a limitações do material genético, condições edafoclimáticas e também nutricionais (FONTES et. al, 1993). Uma das maneiras de potencializar a produtividade da alfafa inclui a melhoria no estado nutricional das plantas através do maior conteúdo de nutrientes essenciais tais como nitrogênio. A simbiose com bactérias fixadoras de N é utilizada rotineiramente pelos produtores ao adotarem o uso de inoculantes. Porém, a maior absorção de N e, conseqüentemente, crescimento vegetativo, pode ser promovida pela técnica de coinoculação com bactérias de diferentes gêneros.

Os estudos com *Azospirillum brasilense*, que é utilizado na inoculação do milho e coinoculação da soja, servirão como base para os testes na cultura da alfafa. Almeja-se comprovar o ganho de produção de matéria seca por hectare através da consorciação de estirpes que estão sendo usadas atualmente para a cultura uma vez que a média anual varia de 20 a 25 t/ha.

O aumento da absorção de N através da coinoculação é importante principalmente porque reduz o investimento financeiro em adubos nitrogenados pelo produtor. Além disso, o menor aporte de fertilizantes nitrogenados no cultivo de alfafa reduz a perda de nutrientes por lixiviação e desnitrificação, contribuindo assim para a conservação do ambiente edáfico e recursos hídricos.

3- REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Alfafa e seu cultivo no mundo e no Brasil

A alfafa (*Medicago sativa* L.) é uma das mais antigas espécies forrageiras cultivadas, sendo intensivamente utilizada em países de pecuária leiteira, por constituir uma planta que reúne algumas das mais importantes características forrageiras como alta produtividade, qualidade proteica, palatabilidade, digestibilidade e capacidade de fixação de nitrogênio (BOTREL, 2005). A planta muito dependente de água no seu ciclo, em comparação com espécies C₄ como o milho e sorgo, variando de 600 a 900 kg de água. kg⁻¹ de matéria seca de forragem (RASSINI, 2001).

Em países de clima temperado, como EUA e Argentina, é o volumoso mais utilizado na alimentação de vacas de leite (CASTILLO e GALLARDO, 1995), podendo ser oferecido aos animais como feno, silagem, verde picado e sob a forma de pastejo, conseguindo-se excelentes resultados em termos de produção de leite (PEREIRA, 2001).

Estima-se que a área cultivada com alfafa no mundo é da ordem de 32.266.605 hectares, com a seguinte distribuição: no hemisfério norte, destaca-se como maior produtor os Estados Unidos da América, que representa também, a maior produção mundial, com 10,5 milhões de hectares (26% sob irrigação), seguidos pela ex-União Soviética, com 3,3 milhões, Canadá, com 2,5 milhões e Itália, com 1,3 milhões. No hemisfério Sul, o maior produtor e o segundo em nível mundial, é a Argentina com 7,5 milhões de hectares Seguido pela África do Sul, com 300.000 e Peru, com 120.000 (COSTA & MONTEIRO, 1997).

O cultivo da alfafa (*Medicago sativa*) é bastante restrito no Brasil. Apesar de todo o país apresentar condições de boa produção, a maior parte desse cultivo está concentrada na Região Sul. O uso da alfafa como fonte de alimento deveria ser mais difundido nas outras regiões brasileiras, por tratar-se de uma forrageira muito importante, tendo em vista sua capacidade de fixação biológica de N, que promove a produção de alimentos com maiores teores proteicos para

os animais, sem a necessidade do uso de fertilizantes nitrogenados. A seleção de estirpes de rizóbio adequadas para a eficiência do processo de fixação de N é fator imprescindível para garantir altas produtividades, persistência do alfafal e qualidade da forragem colhida (OLIVEIRA, 1999). No Brasil, tem sido crescente o interesse por essa cultura, ocasionado, principalmente, pelo processo de intensificação dos sistemas de produção de leite nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Nestes sistemas, são utilizados animais de maior potencial genético, que exigem plantas forrageiras de melhor valor nutritivo (PEREIRA et. al., 2001), a alfafa se adapta bem ao estado de Santa Catarina, pelo fato de possuir cultivares que podem suportar altas e baixas temperaturas, impendido que as oscilações do tempo diminuam sua produção.

3.2. Manejo e uso da cultura

3.2.1- Pastejo

Na forma de pastejo, além de equinos e bovinos, outros animais, como suínos, ovinos e aves, também se alimentam de alfafa. Apesar de diminuir os custos da colheita da forragem, o pastejo é de difícil controle quanto ao aproveitamento, por causa do efeito do animal sobre a planta (RASSINI, 2003).

3.2.2- Forragem Verde

Para evitar alguns inconvenientes do pastejo, como descanso (deitar em cima da planta), pisoteio e arranquio pelos animais, a alfafa pode ser simplesmente cortada manual ou mecanicamente, e oferecida aos animais no cocho. Por essa forma evitam-se problemas de timpanismo, uma vez que a alfafa pode ser servida de maneira complementar após os animais haverem pastejado forrageiras de menor qualidade (RASSINI, 2003).

3.2.3- Feno

Apesar da boa distribuição de forragem de alfafa durante o ano, o que poderia dispensar seu armazenamento, necessário em outros países, em consequência de condições climáticas adversas (neve), no Brasil a alfafa ainda é mais usada como feno. Possivelmente, esse fato se deve ao transporte para regiões onde a forrageira não é cultivada, principalmente para alimentação de equinos de alto valor zootécnico em haras, por exemplo (RASSINI, 2003).

3.2.4-Ensilagem

Mediante o uso de aditivos ricos em carboidratos para melhorar a fermentação, a ensilagem da alfafa é prática comum em países cujas condições atmosféricas, principalmente baixa temperatura e alta umidade, não permitem a fenação.

Por sua vez, no Brasil esta prática não é recomendada nem difundida entre os produtores, em virtude das dificuldades que a planta apresenta para ser ensilada (alto teor de proteína e baixo teor de carboidrato), bem como pela inexistência de máquinas apropriadas para essa prática (RASSINI, 2003).

3.3. Inoculação da alfafa

A inoculação é um termo usado que refere-se à adição de bactérias fixadoras de nitrogênio na planta, que irão se desenvolver na raiz e absorver o nitrogênio do ar, transformando-o em uma forma mineral para a absorção da planta.

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo importante na agricultura brasileira, que tem uma tradição de décadas no uso de inoculantes a base de rizóbios, sendo que, em termos agrícolas, a maior contribuição ocorre pela associação simbiótica com leguminosas (HUNGRIA, 2011). Este processo traz benefícios econômicos com a redução nos custos de produção e

a redução nas aplicações de fertilizantes leva a uma melhoria da qualidade ambiental - com menor aporte de nitratos para as águas superficiais e subterrâneas - e à sustentabilidade dos agroecossistemas.(OLIVEIRA, 1999). Assim a inoculação facilita a vida do agricultor, e evita custos desnecessários para a obtenção de melhores resultados de desenvolvimento vegetativo e produtividade.

Um dos fatores básicos que contribuem para a importância da alfafa como planta forrageira é sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, por meio da simbiose com a bactéria (*Rhizobium meliloti*) (XAVIER, 2005), Estimativas da fixação deste nutriente em clima temperado variam de 170 a 224 kg/ha/ano (HIECHEL, 1984).

Em condições tropicais, a (*Rhizobium meliloti*) não é encontrada naturalmente nos solos recomendados para seu cultivo. Assim, não há nodulação da alfafa com as estirpes nativas, havendo sempre a necessidade de se inocular suas sementes com rizóbio específico (FRANCO, 1994). Uma vez que 95% dos estudos de inoculação são para a cultura da soja (*Glycine max*), é importante que tenham estudos sobre outras leguminosas como alfafa (*Medicago sativa*), que é considerada a rainha das forrageiras.

Existem diversas formas de inocular a bactéria (*Rhizobium meliloti*) na semente de alfafa (RASSINI, 2003).

a) Método da cola - consiste em dissolver 2,5 kg de goma arábica em 5 litros de água destilada; adicionar 500 g de inoculante e agitar até homogeneizar a mistura; incluir nessa mistura 50 kg de sementes de alfafa e deixar secar à sombra.

b) Método da peletização – deve-se preparar 1,5 litro de solução aderente (água açucarada na proporção 1:1, goma arábica a 40%, celofas a 5%); deixar esfriar para uso posterior; misturar o inoculante (80 g para cada 10 kg de sementes) à solução aderente; derramar a suspensão sobre as sementes, agitando-as até que todas estejam umedecidas; adicionar o material para recobrimento (6 kg de calcário fino - "filler"), até que as sementes estejam cobertas e separadas uma das outras.

c) Método da inoculação direta - durante a semeadura deve-se utilizar o inoculante recomendado na proporção de 200 g para cada 20 kg de sementes; adicionar solução aderente (água e açúcar na proporção 1:1); agitar até que todas entrem em contato com a solução.

Imediatamente após a inoculação, deve-se realizar a semeadura ou, no máximo, no outro dia, desde que as sementes inoculadas estejam em local fresco e à sombra. Para a alfafa, a simbiose com (*Rhizobium meliloti*) é tão importante que é recomendada a destruição de culturas quando esse processo não tenha ocorrido, pelo fato de essa planta ser muito exigente quanto ao nitrogênio. Essa recomendação é baseada nos altos dispêndios da aplicação desse elemento na forma mineral, o que pode inviabilizar economicamente o cultivo da forrageira (RASSINI, 2003).

3.4. Técnicas de coinoculação

A coinoculação tem a função de utilizar combinações de diferentes microrganismos, aos quais produzem um efeito múltiplo, em que se superam os resultados produtivos obtidos com os mesmos, quando utilizados na forma isolada, de modo geral, ocorre a potencialização da nodulação e maior crescimento radicular, em resposta a interação positiva entre as bactérias simbióticas (*Bradyrhizobium* ou *Rhizobium*) e as bactérias diazotróficas, em especial as pertencentes ao gênero *Azospirillum* (BARBARO, 2011).

A coinoculação é utilizada na cultura da soja principalmente, e esta demonstrando resultados positivos na cultura, o qual gera uma motivação maior para o estudo desta técnica.

Estudos mostram que a inoculação de (*Azospirillum brasilense*) conjuntamente com estirpes específicas propiciou uma maior nodulação das plantas de feijoeiro, sendo observado um aumento de 63,3% na nodulação das plantas que receberam esta coinoculação (VERONEZI, 2012). Para a cultura da soja também obteve-se resultados significativos, testes confirmam a eficiência agrônômica da coinoculação da soja com *Bradyrhizoibum* nas

sementes e (*Azospirillum brasilense*) no sulco. Os estudos demonstraram que a reinoculação anual da soja com *Bradyrhizobium* resultou em incremento médio no rendimento de grãos de 222 kg/ha (3,7 sacas), ou 8,4%, enquanto que o tratamento com coinoculação resultou em um incremento médio de 427 kg/ha (7,1 sacas), ou 16,1%. Foi, portanto, um ganho adicional de 205 kg/ha (3,4 sacas), ou 7,1%, pela coinoculação em comparação com o tratamento somente inoculado com *Bradyrhizobium* na semente (HUNGRIA, 2011).

4- HIPÓTESE

O uso de co-inoculação de alfafa pode aumentar sua massa verde e seca, além da palatabilidade da mesma pelo animal.

5- OBJETIVOS

5.1 – Objetivo Geral

Avaliar o efeito da coinoculação da alfafa (*Medicago sativa*), com inoculantes comerciais específicos da cultura (*Rhizobium melilot*) e inoculantes usados para gramíneas (*Azospirillum brasilense*).

5.2 – Objetivos Específicos

- Testar o processo de coinoculação para aumentar a produtividade da alfafa.
- Avaliar a nodulação em função dos diferentes tipos de inoculação utilizados.

- Comparar valores de massa verde, massa seca, estatura e altura das plantas obtidas com a coinoculação, em comparação a inoculação padrão.

6- METODOLOGIA

6.1- Descrição da área experimental

O experimento será realizado na área experimental do campus de Curitibanos- SC, na Universidade Federal de Santa Catarina sendo que clima da região é classificado como Cfb temperado com temperatura média entre 15°C e 25°C, com uma precipitação média anual de 1500 mm, e uma altitude de 1000 m. As sementes serão adquiridas em uma loja agropecuária da região. O solo é considerado Cambissolo Háptico de textura média a argilosa.

Não haverá necessidade de calagem, pois conforme a análise de solo os teores de MO = 6% e pH SMP= 6,5 estão em níveis altos, No tratamento 1 a adubação nitrogenada será aplicada com 30 kg/ha, 2 semanas antes do plantio e 40 kg/há antes do primeiro corte. Como os teores de potássio (K) estão muito abaixo do desejado 39,10 mg/dm⁻³ (40 ppm) serão aplicados 420 kg/ha obtido na forma de cloreto de potássio, ou seja 42,0 g/m² em cada parcela (tabela 1).

Tabela 1. Recomendação de calagem, adubação fosfatada e potássica, para a cultura da alfafa.

Índice	Calagem		Fósforo (P ₂ O ₅ =kg /ha)			Potássio (K ₂ O =kg/ha)					
	Índice	Calagem	Índice	Calagem	nível P	1°	2°	3°	Nível K	1°	2°
SMP*	(t/ha)	SMP	(t/ha)	(pm)	ano	ano	Ano	(pm)	ano	Ano	ano
5,5	7,9	6,1	3,4	£ 2,0	160	R**	R	£ 20	460	R	R
5,6	7,0	6,2	2,7	2,1 a 40	130	R	R	21 a 40	420	R	R
5,7	6,2	6,3	2,1	4,1 a 9,0	90	R	R	41 a 60	380	R	R
5,8	5,5	6,4	1,5	9,1 a 14,0	70	R	R	61 a 80	340	R	R
5,9	4,8	6,5	0,7	<14,0	60	R	R	81 a 120	300	R	R
6,0	4,1	6,6	0,0	>18,0	<40	R	R	>120	<300	R	R

* SMP – iniciais do nome dos pesquisadores que desenvolveram a técnica (Shoemaker, McLean, Pratt).

** valor R (reposição):110 kg P₂O₅/ha/ano e 400 kg K₂O/ha/ano.

Adaptado de Siqueira et al. (1987).

Serão aplicados 260 kg/ha de potássio em cobertura, 60 kg/ha sessenta dias após o plantio e 100 kg/ha no primeiro corte, conforme a recomendação técnica para o primeiro ano. Já para fosforo será aplicado 130 kg/ha ou 13 g/m² corte a partir do superfosfato simples, metade no preparo do solo e metade após o primeiro corte. O nitrogênio será aplicado utilizando-se 30 kg/ha de (3 g/m²) de ureia (45 % N) somente em uma aplicação duas semanas antes do plantio, e realizada a incorporação no solo.

6.2- Tratamentos e amostragens

Para o experimento será utilizado um Delineamento em blocos Casualidades aleatoriamente com quatro tratamentos e cinco repetições para cada tratamento. Cada parcela da área terá 24m² respeitando-se 1m de bordadura. Os tratamentos serão T0- Sem nenhum tipo de adubação e inoculação; T1- Será aplicado nitrogênio em forma de ureia granulada= 30kg/ha (45%) uma vez , dois meses antes da semeadura ; T2- inoculação com (*Rhizobium meliloti*) (inoculante turfoso), 200g para cada 20 kg de sementes, preparando primeiramente a água açucarada totalizando 10% da solução total e misturando o inoculante com a semente em um balde e plantando logo após este preparo e T3- Coinoculação, inoculante das gramíneas em forma líquida (*Azospirillum*) + inoculante da alfafa turfoso (*Rhizobium meliloti*), o processo será o mesmo do acima, somente o *Azospirillum* será adicionado depois em uma dose de 100ml para 25 kg de sementes.

A coinoculação será realizada pelo método de Inoculação direta, o mesmo utilizado para inoculação padrão, onde durante a semeadura será utilizado coinoculante proposto na proporção de 200 g para cada 20 kg de sementes; e adicionar solução aderente (água e açúcar na proporção 1:1); agitando até que todas entrem em contato com a solução.

A semeadura será feita na proporção de 20kg por hectare distribuídos a lanço e posteriormente incorporados a 5 cm de profundidade.

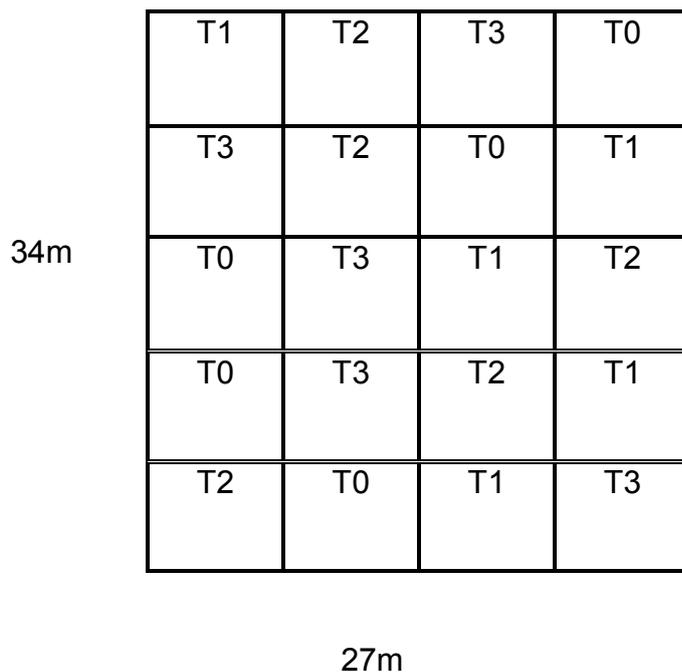


Figura 1: croqui da área, com tratamentos T0, T1, T2, T3

O corte da alfafa para a primeira avaliação do número de nódulos, massa verde e massa seca que será realizada aos 70 a 80 dias, sempre após a floração para que a planta não venha a sofrer perdas de produtividade com os gastos realizados na fotossíntese, e medidos os valores em balança analítica de precisão. O segundo corte será entre os 115 e 132 dias, quando a planta ainda estiver com 10% de floração. Os valores de densidade de planta por hectare serão medidos por parcela, 24 m² por parcela (6m x 6m) com 1 m de bordadura. Será realizada a pesagem de massa verde e seca em uma balança analítica. A massa verde é medida após o corte, diretamente na balança, a massa seca será medida após a secagem das plantas em uma estufa. A contagem dos nódulos será realizada após a secagem, onde é retirado os nódulos da planta e pesados separadamente.

6.3- Análise estatística

As análises estatísticas serão realizadas com auxílio do programa estatístico Assistat. Os dados serão submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

7- RESULTADOS ESPERADOS

Com o uso da coinoculação espera-se que a produção de massa verde e seca aumente em relação aos valores obtidos com a inoculação padrão. Além do mais a coinoculação busca diminuir o uso de nitrogênio, que já é muito pouco utilizado para esta cultura. Também se espera que a cultura tenha um bom desenvolvimento como feno e ensilagem, sendo uma opção mais viável como cultura de inverno, obtendo também maior rendimento de nutrientes e na produção de leite para o animal.

8 – CRONOGRAMA

ATIVIDADE	DATA											
	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Preparo da área	X											
Primeira adubação P, K	X											
Preparo da Semente/inoculação			X									
Plantio			X									
Segunda dose N, K e P					X							
Primeiro Corte						X						
Primeira Avaliação						X						
Segundo Corte								X				
Segunda Avaliação								X				
Leitura de Artigos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

9- ORÇAMENTO

Descrição	Quantidades	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Coinoculante	1 unidade	20,00	20,00
Cloreto de Potássio	25 kg	82,00	82,00
Superfosfato Simples	5 kg	3,00	3,00
Sementes de alfafa	2 kg	110,00	110,00
Balde graduado 20 litro	1 unidade	55,00	55,00
Trena 20m	1 unidade	49,00	49,00
Açúcar	5 kg	6,98	6,98
Enxada	1 unidade	25,90	25,90
Ureia (45% N)	5 kg	1,25	1,25
Maquinário para preparo da área	3 horas	100,00	300,00
Balança semi-analitica	1 unidade	1000,00	1000,00
Estufa com circulação de ar	1 unidade	5000,00	5000,00
Embalagens plásticas e sacos de papel para coleta de plantas	300 unidades	1,00	300,00
Inseticidas e fungicidas para o tratamento fitossanitário	2 unidades	100,00	200,00
TOTAL			7172.03

10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBARO, I.M.; et al. Resultados Preliminares Da Co-Inoculação De Azospirillum Juntamente Com Bradyrhizobium Em Soja. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, Jul-Dez 2011.

BOTREL, M.de ANDRADE, et, al. Cultivares de alfafa em área de influência da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais. **Pesq. agropec. bras.** v.36 n.11 Brasília Nov. 2001

BOTREL, Milton de Andrade et al. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa avaliadas em minas gerais. **Ciênc. agrotec.** 2005, v.29, n.2, p. 409-414. ISSN 1413-7054.

CHENG, Y. et al. **Medicago sativa and Medicago murex differ in the nodulation response to soil acidity.** In: XAVIER, Deise Ferreira et al. Eficiência de inoculantes de rizóbio na nodulação de alfafa em solo de cerrado. *R. Bras. Zootec.* 2005, v.34, n.3, p. 781-785.

COSTA, C. & MONTEIRO, AL.G. **Alfafa como forrageira para corte e pastejo.** In: 3o Simpósio sobre Ecossistema de Pastagens. **Anais...** FAVORETTO. 1997. p.297-317.

FERREIRA, R. de P; PEREIRA, A.V. Melhoramento de forrageiras. In: Borém A (Ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa, Editora UFV. p.781-812.

HADDAD, M. M.; CASTRO, F. G. F. **Sistema de produção.** In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 1999, Piracicaba. Anais.Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 7-22.

HIECHEL, G.H. et al. **N₂ fixation, and N and dry matter partitioning during a 4-year alfalfa stand.** In: XAVIER, Deise Ferreira et al. Eficiência de inoculantes de rizóbio na nodulação de alfafa em solo de cerrado. **Revista Brasileira Zootécnica.** 2005, v.34, n.3, p. 781-785. ISSN 1806-9290.

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasiliense: inovação em rendimento a baixo custo / Mariangela Hungria.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos n.395. Embrapa Soja, ISSN 1516-781X).

NUERNBERG, N.; MILAN, P. A.; SILVEIRA, C. A. M. **Manual de produção de alfafa.** Florianópolis: Epagri, 1992. 102 p.

OLIVEIRA, P. P. A. et al. **Interação entre cultivares, estirpes comerciais de Rhizobium meliloti e fungicidas no incremento da produção de alfafa.** *Pesq. agropec. bras.* 1999, v.34, n.3, p. 425-431.

PAULINO, V. T. et al. **Volume e densidade de biomassa de alfafa (medicago sativa, l.) Cv. Crioula em função da aplicação de calcário e zinco.** XX congresso brasileiro de zootecnia. Zootec. Palmas-TO, 2010.

RASSINI, J.B., et al. **EMBRAPA: Cultivo da alfafa**. Embrapa Pecuária Sudeste, Sistemas de Produção, Plantio, Versão Eletrônica. Jan/2003.

RASSINI, J.B. **Manejo de Água de Irrigação para Alfafa (*Medicago sativa* L.)**. *Rev. Bras. Zootec.* 2001, v.30, n.6, p. 1681-1688. ISSN 1806-9290.

SOUZA-SOBRINHO, F. de et al. Estimativas de repetibilidade para produção de matéria seca em alfafa. *Ciência Rural*. 2004, v.34, n.2, p. 531-537. ISSN 0103-8478.

VASCONCELOS, E. S. de et al. **Seleção de genótipos de alfafa pela adaptabilidade e estabilidade da produção de matéria seca**. *Acta Sci, Agr.* 2008, v.30, n.3, p. 339-343. ISSN 1807-8621.

VERONEZI, S. D. F. **Co-inoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Seminario de agroecologia de Mato grosso do sul. 4., 2012. Mato grosso do sul – Brasil.

XAVIER, D. F. et al. Eficiência de inoculantes de rizóbio na nodulação de alfafa em solo de cerrado. *Revista Brasileira Zootécnica*. 2005, v.34, n.3, p. 781-785. ISSN 1806-9290.