

Efeito do cultivo de feijão com co-inoculação (*Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*) e lâminas de irrigação sobre a qualidade fisiológica das sementes produzidas

Effect of common bean cultivation with co-inoculation (*Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense*) and irrigation depths on the physiological quality of the seeds produced

Amanda Ribeiro Peres^{1*}, José Roberto Portugal², Ricardo Antônio Ferreira Rodrigues³, Marco Eustáquio de Sá², Orivaldo Arf², Aline Aparecida Franco⁴ e Lucas Martins Garé²

¹ União das Faculdades dos Grandes Lagos (Unilago), Curso de Agronomia. São José do Rio Preto, Brasil.

² Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Ilha Solteira, Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia. Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

³ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Ilha Solteira, Departamento de Engenharia Rural e Solos. Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

⁴ Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Campus de Ituiutaba. Ituiutaba, Brasil.

*Autor para correspondência: RESUMO

amandarperes_agro@yahoo.com.br

Conflito de Interesse:
Os autores declaram não ter conflito de interesse

Licença:
Creative Commons CC-BY

Historial:
Recebido: 09/11/17;
Aceito: 05/06/18

Durante a produção de sementes, os nutrientes (nitrogênio) e condições climáticas (água) podem afetar a sua qualidade fisiológica. A influência do cultivo do feijoeiro com a utilização de técnicas mais sustentáveis como a co-inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio e a redução da lâmina de irrigação sobre a qualidade da semente produzida deve ser analisada. Objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes oriundas do cultivo de feijão submetido à inoculação e co-inoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* sob duas lâminas de irrigação. O delineamento experimental em campo foi em blocos casualizados com tratamentos dispostos em esquema de parcelas subdivididas. Nas parcelas foram alocadas as duas lâminas de irrigação (recomendada para o feijão e 75% da recomendada) e nas subparcelas foram alocadas as cinco formas de fornecimento de nitrogênio (testemunha sem inoculação com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura sem inoculação; inoculação de *A. brasilense* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; inoculação de *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; e co-inoculação de *A. brasilense* e *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura), com quatro repetições. O cultivo do feijoeiro com aplicação de 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura sem inoculação proporciona qualidade fisiológica de sementes satisfatória, não havendo a necessidade de aplicação de maiores doses de nitrogênio e inoculação. As sementes de feijoeiro podem ser produzidas com a lâmina de 75% da recomenda, sem diminuição da sua qualidade.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., bactéria fixadora de nitrogênio, nitrogênio, variação hídrica, vigor.

ABSTRACT

During seed production, nutrients (nitrogen) and climatic conditions (water) can affect their physiological quality. Therefore, the influence of common bean cultivation with the use of more sustainable techniques such as co-inoculation with nitrogen-fixing bacteria and the reduction of the irrigation depth on the quality of the seed produced should be analyzed. The objective of this study was to evaluate the physiological quality of seeds coming from the common bean cultivation submitted to inoculation and co-inoculation with *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* under two irrigation depths. The experiment conducted in the field consisted of randomized blocks with a split-plot design with two irrigation depths as plots (recommended and 75% of the recommended) and five forms of nitrogen supply as subplots (control non-inoculated with 40 kg ha⁻¹ of nitrogen in topdressing; control non-inoculated with 80 kg ha⁻¹ of N in topdressing; *A. brasilense* inoculation with 40 kg ha⁻¹ of N in topdressing; *R. tropici* inoculation with 40 kg ha⁻¹ of N in topdressing; and co-inoculation of *A. brasilense* and *R. tropici* with 40 kg ha⁻¹ of N in topdressing). Common bean cultivation with 40 kg ha⁻¹ of N in topdressing without inoculation provides satisfactory physiological quality of seeds, and there is no need to apply higher doses of nitrogen and inoculation. Bean seeds can be produced with the recommended 75% depth, without decrease their quality.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., nitrogen-fixing bacteria, nitrogen, hydric variation, vigor.

INTRODUÇÃO

O uso de sementes de qualidade propicia melhor estabelecimento da cultura e maior potencial produtivo, dessa forma, o conhecimento sobre sementes é imprescindível. Segundo Araújo e Araújo (2015) o conceito de sementes de qualidade é expresso pelo atributo genético, físico, fisiológico e sanitário. O atributo fisiológico refere-se à longevidade da semente e sua capacidade de gerar uma planta perfeita, que pode ser aferida pelo poder germinativo e vigor (Araújo e Araújo 2015, Vazquez e Sá 2015).

Vários fatores afetam o vigor da semente durante a produção, colheita, armazenamento e emergência no campo. Durante a produção, os principais fatores são: condições climáticas (temperatura e água), nutrientes e intensidade luminosa (Carvalho e Nakagawa 2012).

A quantidade de água disponível no solo durante o desenvolvimento da semente pode afetar indiretamente o vigor, por influenciar a composição química quantitativa da semente (Carvalho e Nakagawa 2012). A ocorrência de deficiência hídrica no período de transferência de matéria seca pode provocar redução no peso das sementes e afetar de forma significativa o seu desempenho. Além disso, a deficiência hídrica acelera a senescência foliar e diminui o período de acúmulo de reservas, fazendo com que as sementes oriundas das plantas estressadas não apresentem padrão normal de desenvolvimento (Marcos-Filho 2005).

No que se refere a adequada nutrição das plantas de feijão, a disponibilidade de nutrientes influencia a formação do embrião e dos cotilédones, interferindo sobre o vigor e a qualidade fisiológica (Teixeira et al. 2005). Dentre os nutrientes, o nitrogênio (N) tem ação mais visível e pronunciada na qualidade da semente (Marcos Filho 2005), no entanto, os resultados variam em função da espécie, das condições ambientais, como também do estágio de desenvolvimento da planta no momento da aplicação do nutriente (Carvalho e Nakagawa 2012). Por questões econômicas e ambientais pelo uso do nitrogênio mineral, são necessárias técnicas alternativas para o fornecimento do N para a cultura do feijão, a qual cita-se as bactérias fixadoras de N.

A fixação biológica de N (FBN) representa a forma mais importante de fixar o N atmosférico em amônio (Taiz e Zeiger 2013). Essa reação de FBN é realizada por microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos, que podem ser de vida livre, estar associados a espécies vegetais ou, estabelecer simbiose com leguminosas (Moreira et al. 2010). Na associação com leguminosas, a bactéria é denominada de rizóbio, tendo como característica principal a capacidade de interação com o sistema radicular da planta hospedeira por meio do desenvolvimento de estruturas altamente especializadas, o nódulo radicular, local onde ocorre a FBN (Cassini e Franco 2006). A inoculação de bactérias do grupo dos rizóbios é uma alternativa que pode substituir, mesmo que em parte, a adubação nitrogenada no feijoeiro (Straliotto R. et al. 2003), podendo beneficiar a qualidade fisiológica das sementes.

Além das bactérias do gênero *Rhizobium*, existem outras que também são utilizadas visando o suprimento de N para a cultura. Segundo Bashan e Bashan (2005) bactérias do gênero *Azospirillum* são classificadas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) e são as mais conhecidas entre as não simbióticas, assim também elas promovem o crescimento da planta por diversos mecanismos, como a fixação de N e produção de hormônios de plantas (auxina, giberelina e citocinina).

Uma técnica alternativa de co-inoculação ou também denominada de inoculação mista com bactérias simbióticas e assimbióticas tem sido estudada em leguminosas. Essa técnica consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem efeito sinérgico, em que se superam os resultados produtivos obtidos quando utilizados na forma isolada (Ferlini 2006, Bárbaro et al. 2008). Burdman et al. (1997), avaliando o efeito de *Azospirillum* e *Rhizobium* sobre a nodulação e crescimento do feijoeiro em laboratório, observaram que a co-inoculação aumentou o número total de nódulos e a fixação de N comparados com a inoculação apenas com *Rhizobium*.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes, oriundas do cultivo de feijão submetido à inoculação e co-inoculação com *Rhizobium tropici* e

Azospirillum brasilense sob duas lâminas de irrigação.

MATERIAIS E MÉTODOS

A primeira parte da pesquisa foi realizada no período de outono/inverno dos anos de 2012 e 2013, na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria, estado de Mato Grosso do Sul, que tem como coordenadas geográficas aproximadas de 51°24' O e 20°20' S e 340 metros de altitude. O solo original da área é um Latossolo

Vermelho Distrófico, textura argilosa, segundo a classificação de Santos et al. (2013).

O clima predominante da região, conforme classificação de Koppen é do tipo Aw, definido como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. De acordo com Portugal et al. (2015), a precipitação pluvial média anual é de 1.313 mm, temperatura média mínima de 19°C e máxima de 31°C. Os dados climáticos de temperatura mínima e máxima e precipitação registrados durante a condução do experimento estão na Figura 1. A precipitação total acumulada em 2012 foi de 94 mm e em 2013 de 155 mm.

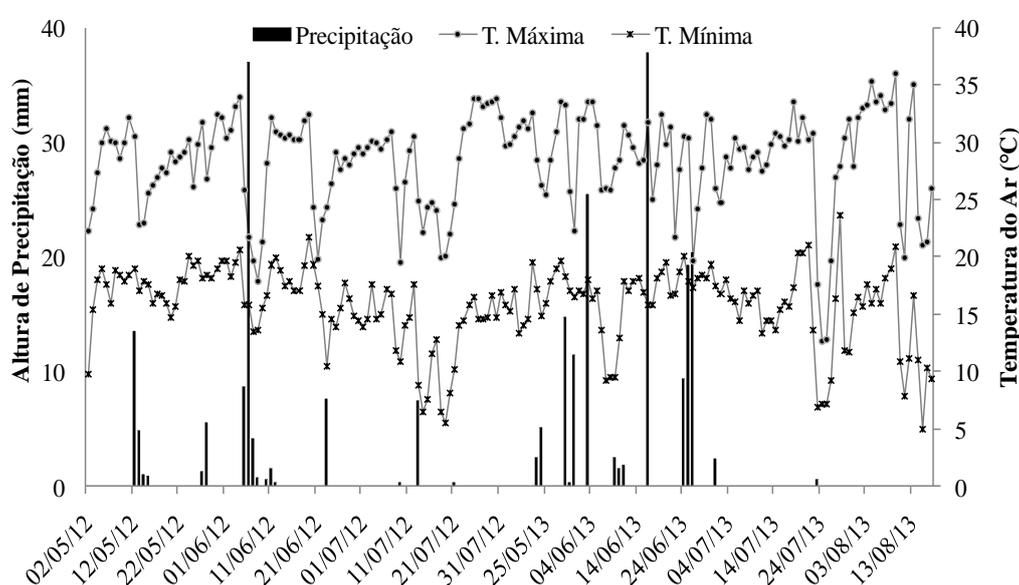


Figura 1. Temperatura máxima, mínima e precipitação diária, registrados durante a condução do experimento no campo. Selvíria-MS, 2012 e 2013.

Antes da instalação do experimento, em 2012, foi coletada amostra de solo da área na camada de 0-0,20 m para análise química. Os resultados revelaram: P (resina) = 12,4 mg dm⁻³, M.O.=16,4 g dm⁻³, pH (CaCl₂) = 5,0; K, Ca, Mg, H +Al, SB e CTC = 1,5; 18,2; 11,8; 18,2; 31,5 e 49,7 mmolc dm⁻³, respectivamente e V = 63%. Nos dois anos foi utilizada áreas com fertilidade semelhantes, tendo o milho como cultura antecessora e semeado no sistema convencional de manejo de solo.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com tratamentos dispostos em esquema de parcelas subdivididas. Nas parcelas foram alocadas as duas lâminas de irrigação (recomendada para o feijão e 75% da

recomendada) e nas subparcelas foram alocadas as cinco formas de fornecimento de nitrogênio (testemunha sem inoculação com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura sem inoculação; inoculação de *A. brasilense* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; inoculação de *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; e co-inoculação de *A. brasilense* e *R. tropici* com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura), com quatro repetições.

As unidades experimentais foram constituídas por cinco linhas de 6,2 m de comprimento, espaçadas 0,50 m entre si no ano de 2012 e 0,45 m em 2013. A área útil foi considerada as três linhas centrais de cada unidade experimental.

O feijão foi semeado mecanicamente, nos dias dois de maio em 2012 e 22 de maio em 2013, respectivamente, utilizando a cultivar Pérola, com a quantidade de sementes suficientes para obtenção de 10 e 13 plantas m^{-1} . Não foi realizado o tratamento químico das sementes. A adubação de semeadura foi de 250 kg ha^{-1} da fórmula 04-30¹-0 nos dois anos de cultivo. No segundo ano, o experimento foi alocado em área com a mesma fertilidade do primeiro ano de cultivo.

Na inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* utilizou-se inoculante comercial turfoso com a estirpe Semia 4080, na dose de 200 g para 25 kg de sementes. A inoculação com *Azospirillum brasilense* foi realizada com o inoculante comercial turfoso que contém as estirpes AbV₅ e AbV₆, na dose de 200 g para 25 kg de sementes no ano de 2012 e, no ano de 2013 utilizou-se inoculante líquido para gramíneas que também contém as mesmas estirpes (AbV₅ e AbV₆) na dose de 200 mL para 25 kg de sementes. A co-inoculação foi realizada misturando as duas bactérias, nas mesmas proporções utilizadas quando inoculadas isoladamente, ou seja, 200 g (ou 200 mL) de inoculante contendo *A. brasilense* + 200 g de inoculante contendo *R. tropici* para 25 kg de sementes. A inoculação foi realizada misturando o inoculante com solução açucarada a 12% na proporção de 250 mL da solução para cada 500 g de inoculante.

A emergência das plântulas ocorreu aos sete dias em 2012 e seis dias em 2013, após a semeadura. A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada aos 24 e 20 dias após a emergência (DAE) nos anos de 2012 e 2013, respectivamente, quando as plantas estavam no estágio V₄₋₄ (quarta folha trifoliada). Utilizou-se a ureia como fonte de nitrogênio. Logo após a adubação em superfície e nas entrelinhas, a área foi irrigada para diminuir as perdas por volatilização da amônia.

O fornecimento de água foi realizado por um sistema fixo de irrigação convencional por aspersão com precipitação média de 3,3 mm h^{-1} nos aspersores. A reposição de água foi realizada quando a evapotranspiração da cultura (ET_c) acumulada atingiu valores próximos da água disponível do solo (ADS) preestabelecidos. A evaporação de água (ECA) foi obtida diariamente do tanque classe A instalado no Posto Meteorológico distante 500 m da área

experimental. O coeficiente do tanque classe A (K_p) utilizado foi 0,7 que foi proposto por Doorenbos e Pruitt (1976).

No manejo de água da cultura para a lâmina recomendada, foram utilizados coeficientes de cultura (K_c) de 0,30; 0,70; 1,05; 0,75 e 0,25 (Doorenbos e Kassam 1979) para as fases de desenvolvimento: germinação – folhas primárias (V₀ – V₂); primeira folha trifoliada – terceira folha trifoliada (V₃ – V₄); prefloração – formação de vagens (R₅ – R₇); enchimento de vagens (R₈) e maturação (R₉) (Fernandez et al. 1986), respectivamente. Na lâmina de 75% da recomendada os valores dos coeficientes de cultura K_c foram 25% inferior em relação ao K_c da lâmina recomendada.

A colheita foi realizada manualmente aos 89 DAE em 2012 e 81 DAE em 2013. A segunda parte da pesquisa foi realizada no laboratório de análise de sementes da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP).

Foi realizado o teste de germinação com quatro subamostras de 50 sementes, em rolos de papel *germitest* mantidos a temperatura constante de 25±1°C. O papel foi umedecido com água destilada numa quantidade equivalente a três vezes o peso do papel. As contagens de plântulas normais foram realizadas aos cinco e nove dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras de Análise de Sementes (MAPA 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. Segundo MAPA (2009), plântulas normais são aquelas que alcançaram o estágio em que todas as suas estruturas essenciais estão bem desenvolvidas, completas, proporcionais e sadias (sistema radicular bem desenvolvido - raiz primária longa e delgada geralmente revestida por numerosos pelos absorventes e terminando numa extremidade afilada e raízes secundárias produzidas dentro do período de duração do teste; parte aérea bem desenvolvida; cotilédones - dois cotilédones em dicotiledôneas; folhas primárias verdes e em expansão).

A primeira contagem de germinação foi conduzida juntamente com o teste de germinação e constou do registro das plântulas normais determinadas na primeira contagem, avaliada aos cinco dias após a

semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

A emergência em campo foi realizada utilizando-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em linha de dois metros de comprimento com espaçamento entrelinhas de 0,25 m, sendo irrigadas diariamente. As contagens foram efetuadas 14 dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem.

O envelhecimento acelerado foi realizado segundo metodologia descrita por Marcos-Filho (1999), utilizando-se quatro subamostras de 50 sementes para cada tratamento, pelo método de *gerbox*, onde aproximadamente 200 sementes foram colocadas sobre a tela de inox de uma caixa plástica (*gerbox*), contendo no fundo 40 mL de água deionizada. Após a colocação da tampa, as caixas foram levadas ao germinador regulado à temperatura de 42°C, onde permaneceram por 72 horas. Transcorrido esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação e as plântulas normais foram avaliadas após cinco dias. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

A condutividade elétrica foi realizada segundo o método descrito por Marcos Filho (2005), utilizando quatro repetições de 50 sementes por tratamento, cujas massas foram previamente determinadas. Após a determinação da massa de cada amostra, as sementes foram colocadas em copos plásticos contendo 75 mL de água deionizada, mantidas em germinador a temperatura de 25±1°C, durante 24 horas. Decorrido esse período, a condutividade da solução de embebição foi determinada com o uso do condutímetro modelo CD-20. Posteriormente, o valor encontrado foi dividido pela massa da amostra (g) e os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

Para o comprimento de plântula preparou-se o substrato de maneira semelhante ao teste de germinação (MAPA 2009). Em seguida, quatro repetições de 20 sementes foram distribuídas sobre duas linhas no terço superior do papel. Os rolos foram confeccionados e colocados em pé, inclinado com ângulo de 75°, dentro do germinador e mantidos a temperatura constante de 25±1°C por cinco dias. Após esse período, foi determinado o comprimento de 10 plântulas normais por repetição, com auxílio de uma régua,

considerando a ponta da raiz até a inserção dos cotilédones. O comprimento médio de plântulas foi calculado dividindo-se a soma das medidas de cada repetição por 10 e os resultados foram expressos em mm plântula⁻¹ (Nakagawa 1999).

Após a avaliação do teste de comprimento de plântulas, as 10 plântulas normais mensuradas foram utilizadas para esse teste massa seca de plântulas, onde os cotilédones foram retirados e posteriormente as plântulas foram secas em estufa de circulação de ar regulada a 65°C até atingir massa constante e pesadas em balança de precisão (0,001 g). A massa seca de plântulas foi obtida dividindo-se a massa total de plântulas de cada repetição pelo número de plântulas avaliadas e os resultados expressos em mg plântula⁻¹ (Nakagawa 1999).

Os dados foram avaliados por meio da análise de variância pelo teste F. Quando o valor de F foi significativo ao nível de 5% de probabilidade, aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias. A análise estatística foi realizada através do software SISVAR (Ferreira 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação média em 2012 foi de 94% e em 2013 de 93%, estando dentro dos padrões comerciais, em que a germinação mínima exigida é de 80% (Instrução Normativa N° 45 2013). A germinação das sementes de feijão não foi influenciada pela forma de fornecimento de nitrogênio nos dois anos de cultivo, porém foi afetada pela lâmina de irrigação em 2012 (Tabela 1). A aplicação de 75% da lâmina de irrigação recomendada no feijoeiro em 2012 resultou em produção de sementes com maior germinação em relação à lâmina recomendada. Dados semelhantes foram obtidos por Bassan et al. (2001), que não verificaram influência da inoculação com *R. tropici* na germinação de sementes do feijoeiro. Da mesma forma, Meira et al. (2005), e Barbosa et al. (2011), não observaram diferença na germinação de sementes de feijão com as doses de N. No entanto, Farinelli et al. (2006), relataram respostas a adubação nitrogenada em cobertura, em que a germinação ajustou-se a função linear crescente com as doses 0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹ de N, proporcionando aumento na germinação das sementes com o aumento das doses de N. Goes et al. (2009), ao avaliar a germinação em

função do manejo de irrigação utilizado e doses de N em cobertura, não observaram diferenças.

Nos dois anos de cultivo, a primeira contagem de germinação foi afetada pela forma de fornecimento de nitrogênio (Tabela 1). Em 2012, a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura, inoculação com *A. brasilense* e co-inoculação originaram maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem. Já em 2013, ocorreu diferença apenas

entre a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N e co-inoculação, em que a testemunha foi capaz de resultar maior porcentagem de plântulas normais. A lâmina de irrigação não interferiu na primeira contagem de germinação. Diferente do que ocorreu neste experimento, Meira et al. (2005), e Barbosa et al. (2011), em experimento com doses de N aplicados em cobertura, relataram que não ocorreu diferenças na primeira contagem de germinação.

Tabela 1. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG) e emergência em campo (E) de sementes de feijoeiro cultivar Pérola, oriundas do cultivo com diferentes formas de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação. Ilha Solteira-SP, 2012 e 2013.

Tratamentos	G (%)		PCG (%)		E (%)	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013
FORMA DE FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO						
T - 40 kg ha ⁻¹ N em cobertura	95	95	80a	93a	76	88
T - 80 kg ha ⁻¹ N em cobertura	95	94	68b	90ab	76	89
<i>Azospirillum brasilense</i>	94	94	77a	89ab	77	86
<i>Rhizobium tropici</i>	94	91	65b	86ab	82	83
<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>	95	92	80a	85b	71	83
DMS	4,68	6,3	8,0	7,04	10,84	7,65
LÂMINA DE IRRIGAÇÃO						
Lâmina recomendada	93b	92	73	88	76	84
75% da Lâmina Recomendada	96a	94	76	89	77	87
DMS	2,08	2,8	3,6	3,13	4,81	3,4
F						
Forma de Forn. de N (FFN)	0,23 ^{ns}	1,00 ^{ns}	12,84 ^{**}	3,38 [*]	2,13 ^{ns}	2,16 ^{ns}
Lâmina de Irrigação (L)	5,62 [*]	1,55 ^{ns}	2,60 ^{ns}	0,73 ^{ns}	0,44 ^{ns}	3,74 ^{ns}
(FFN) x (L)	0,96 ^{ns}	0,25 ^{ns}	1,91 ^{ns}	0,21 ^{ns}	2,60 ^{ns}	1,05 ^{ns}
Média	94,3	93,1	74,2	88,7	76,4	86
CV (%)	3,40	4,63	7,4	5,43	9,71	6,10

^{**}, ^{*} e ^{ns} – significativos a 1 e 5 % de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), D.M.S. – diferença mínima significativa, C.V. – coeficiente de variação.

Para a emergência de plântulas, não houve efeito da forma de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação (Tabela 1). Da mesma forma, Bassan et al. (2001), também não observaram diferença na emergência em campo com a inoculação com *R. tropici*.

A análise estatística para o teste de envelhecimento acelerado pode ser observada na Tabela 2. Não se verificou diferença entre os resultados do teste para nenhum dos fatores avaliados, não evidenciando diferenças no vigor. Bassan et al. (2001), também não obtiveram diferenças no teste de envelhecimento acelerado com a inoculação de *R. tropici*.

De forma semelhante, em experimento realizado por Gomes-Júnior e Sá (2010), não ocorreu diferenças nos resultados do envelhecimento

acelerado com as doses de 0, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de N aplicados em cobertura. Meira et al. (2005), e Barbosa et al. (2011), também não observaram efeito de doses de N aplicadas em cobertura no vigor das sementes, obtido com o teste de envelhecimento acelerado.

Para a condutividade elétrica houve efeito significativo da interação entre forma de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação (Tabela 2). Este teste estabelece que sementes menos vigorosas, ou seja, mais deterioradas, liberam maiores quantidades de solutos durante a embebição, devido a menor velocidade de restabelecimento da integridade das membranas celulares durante este período e, portanto, originam leituras superiores (Marcos-Filho 2005).

Para o desdobramento em 2012, observa-se que na lâmina recomendada não houve diferença entre as formas de fornecimento de nitrogênio, enquanto que na lâmina de 75% da recomendada, a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura e a inoculação de *A. brasilense* originaram sementes mais vigorosas que a inoculação com *R. tropici*.

A testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N associada a 75% da lâmina recomendada, a testemunha com de 80 kg de N ha⁻¹ em cobertura e a inoculação com *R. tropici* associadas a lâmina recomendada foram capazes de produzir sementes mais vigorosas (Tabela 3).

Tabela 2. Teste de envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE) de sementes de feijoeiro cultivar Pérola oriundas do cultivo com diferentes formas de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação. Ilha Solteira-SP, 2012 e 2013.

Tratamentos	EA (%)		CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	
	2012	2013	2012	2013
FORMA DE FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO				
T - 40 kg ha ⁻¹ N em cobertura	96	93	52,59	79,50
T - 80 kg ha ⁻¹ N em cobertura	96	92	53,32	69,29
<i>Azospirillum brasilense</i>	94	92	52,76	79,17
<i>Rhizobium tropici</i>	96	96	61,14	81,56
<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>	97	95	55,91	80,36
DMS	4,15	4,56	8,30	7,5
LÂMINA DE IRRIGAÇÃO				
Lâmina recomendada	96	93	53,48	80,17
75% da Lâmina Recomendada	95	94	56,81	75,79
DMS	1,84	2,02	3,69	3,33
F				
Forma de Forn. de N (FFN)	1,73 ^{ns}	2,44 ^{ns}	3,22*	7,42**
Lâmina de Irrigação (L)	0,61 ^{ns}	1,03 ^{ns}	3,44 ^{ns}	7,27*
(FFN) x (L)	0,73 ^{ns}	1,67 ^{ns}	3,85*	4,74**
Média	96	94	55,1	77,98
CV (%)	2,97	3,34	10,31	6,58

**, * e ns – significativos a 1 e 5 % de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), D.M.S. – diferença mínima significativa, C.V. – coeficiente de variação.

Tabela 3. Desdobramento das interações significativas entre forma de fornecimento de nitrogênio e lâmina de irrigação para condutividade elétrica em 2012 e 2013 em sementes de feijoeiro cultivar Pérola. Ilha Solteira-SP, 2012 e 2013.

Lâminas ¹	Condutividade elétrica em 2012 ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)				
	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	57,08Ab	48,81Aa	52,04Aa	55,58Aa	53,88Aa
75% R	48,10Aa	57,83ABb	53,48Aa	66,70Bb	57,94ABa
Lâminas ¹	Condutividade elétrica em 2013 ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)				
	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	84,72BCb	71,59Aa	74,55ABa	85,81Cb	84,16BCb
75% R	74,28ABa	66,99Aa	83,80Bb	77,31ABa	76,56ABa

¹ R = Recomendada, 75% R = 75% da recomendada. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Em 2013, o desdobramento demonstrou, na lâmina recomendada, que a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura resultou em maior vigor.

Já na lâmina de 75% da recomendada, a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura também proporcionou maior vigor diferindo apenas de *A.*

brasilense. Nota-se que a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura, *R. tropici* e co-inoculação associados com 75% da lâmina recomendada e *A. brasilense* associado com a lâmina recomendada obtiveram menor valor de condutividade elétrica, portanto maior vigor (Tabela 3).

Por outro lado, Farinelli et al. (2006) e Barbosa et al. (2011) não verificaram efeito de doses de N em

cobertura sobre a condutividade elétrica de sementes de feijão.

O comprimento de plântulas e a massa seca de plântulas foram influenciados pela interação entre forma de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação nos dois anos do experimento (Tabela 4).

Tabela 4. Comprimento de plântulas (CP) e massa seca de plântulas (MS) de sementes de feijoeiro cultivar Pérola oriundas do cultivo com diferentes formas de fornecimento de nitrogênio e lâminas de irrigação. Ilha Solteira-SP, 2012 e 2013.

Tratamentos	CP (mm plântula ⁻¹)		MS (mg plântula ⁻¹)	
	2012	2013	2012	2013
FORMA DE FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO				
T - 40 kg ha ⁻¹ N em cobertura	85,0	112,8	20	30
T - 80 kg ha ⁻¹ N em cobertura	89,0	108,6	26	31
<i>Azospirillum brasilense</i>	80,7	96,7	21	27
<i>Rhizobium tropici</i>	87,7	98,6	21	28
<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>	77,9	92,6	20	25
DMS	14,99	17,64	3,40	4,20
LÂMINA DE IRRIGAÇÃO				
Lâmina recomendada	87,4	99,1	22	28
75% da Lâmina Recomendada	80,7	104,6	21	29
DMS	6,66	7,83	1,51	1,87
F				
Forma de Forn. de N (FFN)	1,66 ^{ns}	3,94*	8,01**	5,92**
Lâmina de Irrigação (L)	4,28*	2,07 ^{ns}	1,50 ^{ns}	0,74 ^{ns}
(FFN) x (L)	3,69*	2,88*	6,31**	3,46*
Média	84,0	101,8	21,55	28,25
CV (%)	12,21	11,86	10,81	10,18

**, * e ns – significativos a 1 e 5 % de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. Médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05), D.M.S. – diferença mínima significativa, C.V. – coeficiente de variação.

No desdobramento, para o comprimento de plântulas em 2012, na lâmina recomendada, a inoculação com *R. tropici* resultou maior vigor em relação a inoculação com *A. brasilense*, enquanto que na lâmina de 75% da recomendada, não houve diferenças.

Já a inoculação com *A. brasilense* associada à lâmina recomendada e a inoculação com *R. tropici* e a co-inoculação associadas a 75% da lâmina recomendada reduziram o comprimento das plântulas (Tabela 5).

Analisando o desdobramento para o comprimento de plântulas em 2013, verifica-se que na lâmina recomendada, a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura propiciou maior vigor que a co-inoculação. Na lâmina de 75% da recomendada, a testemunha com 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura proporcionou o maior valor comparado ao *A.*

brasilense e ao *R. tropici*. Nota-se que na co-inoculação a lâmina de 75% da recomendada resultou em maior comprimento de plântulas em comparação com a lâmina recomendada (Tabela 5).

Observando a massa seca de plântulas em 2012, verifica-se que na lâmina recomendada, o maior valor foi obtido com a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura (testemunha) em relação ao *A. brasilense*. Na lâmina de 75% da recomendada, também se obteve maior valor com a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura (testemunha), não apresentando diferença de *A. brasilense*. A inoculação de *A. brasilense* com 75% da lâmina recomendada e inoculação com *R. tropici* e co-inoculação com a lâmina recomendada apresentaram valores superiores de massa seca de plântulas em 2012 (Tabela 6). A massa seca de plântulas em 2013, na lâmina recomendada

propiciou menor valor com a co-inoculação e, na lâmina de 75% da recomendada não houve diferença entre os tratamentos de forma de fornecimento de nitrogênio. Verifica-se que a co-inoculação associada a lâmina de 75% da recomendada apresentou maior massa seca de plântulas do que em associação a lâmina recomendada (Tabela 6).

Observa-se grande variabilidade nas respostas obtidas com a inoculação do feijoeiro. De acordo com Cassini e Franco (2006) o principal fator é a existência generalizada e diversificada de bactérias nativas no solo, que competem com as bactérias inoculadas e interagem diferencialmente com os diversos cultivares utilizados, acarretando variabilidade da resposta à nodulação e à FBN.

Tabela 5. Desdobramento das interações significativas entre forma de fornecimento de nitrogênio e lâmina de irrigação para o teste de comprimento de plântulas em 2012 e 2013 de sementes de feijoeiro cultivar Pérola. Ilha Solteira-SP, 2012 e 2013.

Comprimento de plântulas em 2012 (mm plântula ⁻¹)					
Lâminas ¹	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	90,7ABa	90,7Aba	72,7Bb	96,5Aa	86,5ABa
75% R	79,3Aa	87,3Aa	88,7Aa	78,9Ab	69,3Ab
Comprimento de plântulas em 2013 (mm plântula ⁻¹)					
Lâminas ¹	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	106,0Aa	104,4ABa	100,9ABa	103,5ABa	80,7Bb
75% R	119,6Aa	112,8ABa	92,5Ba	93,6Ba	104,5ABa

¹ R = Recomendada, 75% R = 75% da recomendada. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Tabela 6. Desdobramento das interações significativas entre forma de fornecimento de nitrogênio e lâmina de irrigação para a massa seca de plântulas em 2012 e 2013 de sementes de feijoeiro cultivar Pérola. Ilha Solteira-SP, Brasil, 2012 e 2013.

Massa seca de plântulas em 2012 (mg plântula ⁻¹)					
Lâminas ¹	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	20,6ABa	24,4Aa	19,4Bb	22,7ABa	23,0ABa
75% R	20,0BCa	27,0Aa	23,0Aba	18,4BCb	17,2Cb
Massa seca de plântulas em 2013 (mg plântula ⁻¹)					
Lâminas ¹	Forma de fornecimento de nitrogênio				
	T-40	T-80	<i>A. brasilense</i>	<i>R. tropici</i>	<i>A. brasilense</i> + <i>R. tropici</i>
R	29,0Aa	31,8Aa	27,3Aba	29,4Aa	21,8Bb
75% R	30,7Aa	31,0Aa	25,8Aa	26,9Aa	28,7Aa

¹ R = Recomendada, 75% R = 75% da recomendada. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

CONCLUSÕES

O cultivo do feijoeiro com aplicação de 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura sem inoculação proporciona qualidade fisiológica de sementes satisfatória, não havendo a necessidade de aplicação de maiores doses de nitrogênio e inoculação com *R. tropici*, inoculação com *A. brasilense* e co-inoculação com

R. tropici e *A. brasilense*. Ainda, nas condições desse experimento, sementes de feijoeiro podem ser produzidas com a lâmina de 75% da recomendação, sem resultar em diminuição da sua qualidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de estudos concedida à primeira autora, e à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP) pela infraestrutura cedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araujo, RF; Araujo, EF. 2015. Produção de sementes. In Carneiro, JE; Paula-Júnior, TJ; Borém, A. eds. Feijão: do plantio à colheita. Viçosa, UFV. 356-384 p.
- Bárbaro, IM; Brancalhão, SR; Ticelli, M; Miguel, FB; Silva, JAA. 2008. Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade (em linha). Infobibos, Campinas, Brasil. Consultado 10 jul. 2015. Disponível em http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm
- Barbosa, RM; Costa, DS; Homem, BFM; Sá, ME. 2011. Nitrogênio na produção e qualidade de sementes de feijão. Pesquisa Agropecuária Tropical 41(3):470-474.
- Bashan, Y; Bashan, LE. 2005. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In Hillel, D. ed. Encyclopedia of soils in the environment. Oxford, Elsevier. 103-115 p.
- Bassan, DAZ; Arf, O; Buzetti, S; Carvalho, MAC; Santos, NCB; Sá, ME. 2001. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. Revista Brasileira de Sementes 23(1):76-83.
- Burdman, S; Kigel, J; Okon, Y. 1997. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Soil Biology and Biochemistry 29(5-6):923-929.
- Carvalho, NM; Nakagawa, J. 2012. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5 ed. Jaboticabal, Funep. 590 p.
- Cassini, STA; Franco, MC. 2006. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In Vieira, C; Paula-Júnior, J; Borém, A. eds. Feijão. Viçosa, UFV. 143-170 p.
- Doorenbos, J; Kassan, AH. 1979. Yield response to water. Roma, FAO. 193 p. (Irrigation and Drainage, 33).
- Doorenbos, J; Pruitt, WO. 1976. Las necesidades de agua de los cultivos. Roma, FAO. 193 p.
- Farinelli, R; Lemos, LB; Cavariani, C; Nakagawa, J. 2006. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão em função de sistemas de manejo de solo e adubação nitrogenada. Revista Brasileira de Sementes 28(2):102-109.
- Ferlini, HA. 2006. Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Consultado 12 jul. 2015. Disponível em: http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glycine_s_articulos_800_AGR.htm
- Ferreira, DF. 2011. SISVAR: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia 35(6):1039-1042.
- Goes, RJ; Lopes, AS; Barbosa, AS; Souto-Filho, SN. 2009. Nitrogênio em cobertura e manejos de irrigação na qualidade fisiológica de sementes de feijão (em linha). In Encontro de Iniciação Científica (7, Dourados, Brasil). Dourados, Brasil, UEMS. Consultado 12 jul. 2015. Disponível em <https://anaisonline.uems.br/index.php/enic/article/view/1096>.
- Gomes-Júnior, FG; Sá, ME. 2010. Proteína e qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em função da adubação nitrogenada em plantio direto. Revista Brasileira de Sementes 32(1):34-44.
- Instrução Normativa Nº 45. 2013. Estabelece normas específicas e padrões de identidade e qualidade para a produção e comercialização de sementes de grandes culturas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Brasil. Set. 2013.
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil). 2009. Regras para análise de sementes. Brasília, Mapa/ACS. 399 p. (Secretaria de Defesa Agropecuária).

- Marcos-Filho, J. 1999. Teste de envelhecimento acelerado. In Kryzanowski, FC; Vieira, RD; França-Neto, JB. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina, ABRATES. 3.1-3.24 p.
- Marcos-Filho, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Fealq. 495 p.
- Meira, FA; Sá, ME; Buzetti, S; Arf, O. 2005. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. Pesquisa agropecuária brasileira 40(4):383-388.
- Moreira, FMS; Silva, K; Nóbrega, RSA; Carvalho, F. 2010. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. Comunicata Scientiae 1(2):74-99.
- Nakagawa, J. 1999. Testes de vigor baseado no desempenho de plântulas. In Kryzanowski, FC; Vieira, RD; França-Neto, JB. eds. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina, ABRATES. 2.1-2.24 p.
- Portugal, JR; Peres, AR; Rodrigues, RAF. 2015. Aspectos climáticos no feijoeiro. In Arf, O; Lemos, LB; Soratto, RP; Ferrari, S. eds. Aspectos gerais da cultura do feijão *Phaseolus vulgaris* L. Botucatu, FEPAP. 65-75 p.
- Santos, HG; Jacomine, PKT; Oliveira, VA; Lumbreras, JF; Coelho, MR; Almeida, JA; Cunha, TJF; Oliveira, JB. 2013. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, Embrapa. 353 p.
- Straliotto R; Teixeira MG; Mercante FM. 2003. Fixação Biológica de Nitrogênio. IN: Embrapa arroz e feijão. Cultivo do Feijoeiro Comum. Consultado 9 jan. 2012. Disponible en: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/fbnitrogenio.htm>
- Taiz, L; Zeiger, E. 2013. Fisiologia vegetal. Porto Alegre, Artmed. 918 p.
- Teixeira, IR; Borém, A; Araújo, GAA; Andrade, MJ. 2005. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com manganês e zinco. Bragantia 64(1):83-88.
- Vazquez, GH; Sá, ME. 2015. Tecnologia e produção de sementes. In Arf, O; Lemos, LB; Soratto, RP; Ferrari, S. eds. Aspectos gerais da cultura do feijão – *Phaseolus vulgaris* L. Botucatu, Fepaf. 315-336 p.