



Sobrevivência de *Bradyrhizobium* sp. em Sementes de Feijão-caupi Tratadas com Carbendazim e Inoculante Formulado com o Polímero Carboximetilcelulose

Survival of Bradyrhizobium sp. in cowpea seeds treated with carbendazin and inoculants formulated with the carboxymethylcellulose polymer

Delineide Pereira Gomes¹; Vanessa Cristina Macêdo Reis¹; Thiago Palhares Farias¹; Luciene Ferreira dos Santos¹; Érica Garcia França¹; Narjara Greicy Reis Cunha¹; Jean Magalhães da Silva²; José Flavio Ferreira de Sousa³

¹Instituto Federal do Maranhão, IFMA, Campus São Luis - Maracanã, Av. dos Curiós, s/n - Vila Esperança, 65095-460, São Luís - MA, delineide.gomes@ifma.edu.br, vanessa04rengav@gmail.com, thiagopalhares@ifma.edu.br, lucyeneherr@gmail.com, franca.ERICA@acad.ifma.edu.br, cunha.reis@acad.ifma.edu.br; ²Instituto Federal do Maranhão, IFMA, Campus São Raimundo das Mangabeiras, BR-230, 65840-000, São Raimundo das Mangabeiras - MA, jean.magalhaes@ifma.edu.br; ³Instituto Federal do Maranhão, IFMA, Campus Caxias, MA-349, KM 02, 65609-899, Caxias - MA, jose.ferreira@ifma.edu.br

Resumo

Fungicidas associado a inoculantes pode reduzir a sobrevivência de rizóbio em sementes. O objetivo foi avaliar a sobrevivência de *Bradyrhizobium* sp. em sementes de caupi tratadas com carbendazim e com inoculantes formulados com carboximetilcelulose (CMC). Sementes foram inoculadas com uma estirpe de *Bradyrhizobium*. O CMC foi empregado em dez concentrações. A sobrevivência da estirpe foi avaliada aos 0, 1, 2, 3, 4, 12, 24, 96, 192 e 768 h de armazenamento das sementes tratadas com esses produtos. O número de células viáveis foi obtido pela contagem das unidades formadoras de colônias, pelo método das diluições seriadas. Concentrações como 0.25 e 0.75 g/L do CMC foram capazes de manter a viabilidade celular por 768 h após o tratamento com carbendazim. Mesmo sem um padrão de crescimento, a combinação do inoculante veiculado pelo CMC com o carbendazim permite a sobrevivência do rizóbio, em muitas das concentrações do polímero e em alguns dos períodos de armazenamento das sementes.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, Rizóbio, Polímero

Abstract

Fungicides associated with inoculants can reduce the survival of rhizobia in seeds. The objective was to evaluate the survival of Bradyrhizobium sp. in cowpea seeds treated with carbendazin and inoculants formulated with carboxymethylcellulose (CMC). Seeds were inoculated with a Bradyrhizobium strain. CMC was used in ten concentrations. Strain survival was evaluated at 0, 1, 2, 3, 4, 12, 24, 96, 192 and 768 h of storage of seeds treated with these products. The number of viable cells was obtained by counting the colony-forming units, using the serial dilution method. Concentrations such as 0.25 and 0.75 g/L of CMC were able to maintain cell viability for 768 h after treatment with carbendazin. Even without a growth pattern, the combination of the inoculant conveyed by the CMC with carbendazin



allows the rhizobia to survive, in many of the polymer concentrations and in some of the seed storage periods.

Key words: *Vigna unguiculata, Rhizobium, Polymer*

Introdução

O caupi é um feijão muito produzido nas regiões norte e nordeste do país, estando presente tanto na agricultura familiar quanto no agronegócio, mas com grande representação ainda pelo pequeno produtor rural. Apesar da extrema importância econômico-social para o Brasil, a cultura ainda possui baixa produtividade, justificada, entre outros fatores, pelo uso de cultivares pouco produtivas, e também, pela baixa disponibilidade de nutrientes em alguns tipos de solos, em especial o nitrogênio, e pelo baixo nível de tecnologias voltadas para cultura nessas regiões (CHAGAS JUNIOR et al., 2010; SOUZA, 2017).

Devido à tolerância para a adaptação em ambientes não favoráveis é que a cultura do caupi interage bem com rizóbios, facilitando os processos de fixação biológica do nitrogênio - FBN (MARTINS et al., 2003; ZILLI et al., 2006; VIEIRA et al., 2010). A cultura estabelece boa relação com *Bradyrhizobium* sp. e na literatura existe algumas pesquisas de inoculação deste rizóbio combinado ao uso de agroquímicos, dentre eles inseticidas, fungicidas, micronutrientes, etc (SILVA NETO et al., 2013; SANTOS et al., 2018). No entanto, pesquisas afirmam que estes produtos podem ter efeito deletério sobre os rizóbios, e, portanto podem reduzir a FBN.

Sabe-se que a FBN representa uma grande economia em comparação aos custos com a adubação química com fontes nitrogenadas, sendo que esse processo se dá através da inoculação de sementes com formulações apropriadas, técnica de custo acessível e de fácil operação (KUSDRA, 1998). A redução de fertilizantes nitrogenados e o uso de rizóbios em sementes se racionaliza com os princípios agroecológicos, pois estimula a produção de alimentos nutritivos e seguros com a preservação dos seres vivos e do meio ambiente (ARIAS, 2016).

Os processos de produção de inoculantes têm produzido produtos excelentes, mas ainda não têm a confiança total dos agricultores devido formulações nem sempre eficientes (ARIAS, 2016). Fatores podem reduzir a eficiência do rizóbio e competir para o lançamento de novas formulações, mais viáveis e eficientes. Neste contexto, pesquisas devem ser realizadas para verificar a interação dos rizóbios com outros produtos que são aplicados normalmente nas sementes, tais como os fungicidas, inseticidas, micronutrientes e outros.

Algumas pesquisas têm demonstrado o efeito de fungicidas de sementes na eficiência agrônômica de rizóbios nas diferentes culturas a nível de campo, porém poucos trabalhos relatam o efeito da combinação desses fungicidas com os inoculantes, nas mais variadas formulações, na sobrevivência do rizóbio em ambiente controlado.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência de um rizóbio em sementes de feijão-caupi tratadas com um fungicida e com inoculantes líquidos formulados com o



polímero Carboximetilcelulose (CMC), em diferentes concentrações e períodos de armazenamento das sementes tratadas com esses produtos.

Material e Métodos

A pesquisa foi de natureza quantitativa e experimental. A mesma foi realizada no Laboratório de Biotecnologia/Microbiologia de Solos do IFMA Campus São Luis- Maracanã em São Luis-MA.

Obtenção das sementes de feijão caupi

Foi obtido um lote de sementes de feijão caupi da cultivar BRS Aracê. As sementes utilizadas no experimento passaram por tratamento com fungicida a base de carbendazin na dose de 200 mL/100 kg de sementes do produto comercial. As sementes tratadas foram postas para secar em papel filtro esterilizado em temperatura ambiente.

Obtenção do rizóbio: estirpe de referência e condições de crescimento

A estirpe de rizóbio de referência que foi utilizada foi a *Bradyrhizobium* sp. – UFLA 03-84 (= SEMIA 6461), eficiente na simbiose com o feijão caupi (LACERDA et al. 2004). A estirpe foi cultivada em meio de cultura YMA (VINCENT, 1970) (10 g/L de manitol, 0,01 g/L de K_2HPO_4 , 0,04 g/L de KH_2PO_4 , 0,05 g/L de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 g/L NaCl, 0,4 g/L de extrato de levedura em pó, 15 g/L ágar, pH ajustado a 6,8-7,0) a 28 °C (FARIAS, 2014).

Preparo das formulações do inoculante com o polímero CMC

Foi utilizado o meio YMA como solução, descrito sucintamente: manitol 10 g/L, como fonte de carbono. Foi utilizado o polímero Carboximetilcelulose (CMC) como veículo líquido nas formulações do inoculante. Após o preparo, as formulações foram esterilizadas em autoclave a 120 °C. Para a padronização da concentração do inóculo, as estirpes foram inoculadas em Erlenmeyer (125,0 mL), contendo 45,0 mL de meio YMA líquido (pH 6,8) e incubada em agitador orbital a 110 rpm e 28 °C, durante 72 h, até densidade óptica de 0,5 a 600 nm (DO600), equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL pela escala de McFarland. Posteriormente, uma alíquota de 0,1 mL do inóculo foi adicionada a frascos de vidro lavados com ácido e esterilizados com meio YMA líquido modificado. Os frascos foram distribuídos em uma incubadora a 110 rpm e 28°C. Para auxiliar a detecção de possíveis contaminações, por alterações em pH do meio durante a avaliação, tratamentos controles sem inoculação foram mantidos. Alíquotas de 0,1 mL do inóculo da estirpe inoculante UFLA 03-84 foi inoculada em cada uma das formulações. Em seguida, as formulações foram transferidas para tubos de centrifugação em polipropileno fundo cônico, com tampa alongada à prova de vazamentos, com capacidade de 50 mL, esterilizados por radiação gama. As amostras foram armazenadas em agitador orbital a 110 rpm e 28 °C (adaptado de FARIAS, 2014; CARDILLO, 2015).



Inoculação das sementes de caupi tratadas com fungicida com as formulações do inoculante veiculadas pela carboximetilcelulose (CMC)

A inoculação do rizóbio nas sementes de caupi foi realizada após a aplicação do fungicida carbendazin. Após o tratamento fungicida, sementes de caupi foram inoculadas com as dez concentrações do inoculante formulado com o veículo carboximetilcelulose (CMC), em lotes de 200 sementes, sendo selecionadas aleatoriamente do lote, com 500 µL de inoculante líquido.

Em seguida, as mesmas foram avaliadas quanto a sobrevivência do rizóbio, após serem submetidas a dez períodos de armazenamento (0, 1, 2, 3, 4, 12, 24, 96, 192 e 768 horas) das sementes tratadas com esses produtos.

Avaliação da sobrevivência do rizóbio nas sementes tratadas com fungicida e inoculadas com as formulações líquidas do inoculante veiculadas pela carboximetilcelulose (CMC)

A sobrevivência do rizóbio foi avaliada em sementes tratadas e não tratadas (testemunha), num total de dez concentrações, dez períodos de armazenamento, com três repetições.

Para isto, foi utilizado o método de diluições seriadas. Vinte sementes, retiradas aleatoriamente de amostras com 200 sementes, de cada tratamento estão sendo colocadas em Erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina 0,85% estéril e agitadas por 15 minutos, sendo considerada, inicialmente, a diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição, alíquota de 1,0 mL de cada formulação foi diluída sucessivamente até 10^{-9} .

Alíquotas de 20 µL foram inoculadas em placas de Petri com meio YMA, por meio da técnica de microgotas, e secadas na cabine bacteriológica durante 20 minutos antes de ser invertida e depois incubada a 28 °C, por um período de até 144 h. As avaliações foram realizadas em quadruplicatas (adaptado de FARIAS, 2014; CARDILLO, 2015).

O número de células viáveis foi determinado pela contagem de unidades formadoras de colônias, para cada tratamento em delineamento inteiramente casualizado (DIC) aos 0, 1, 2, 3, 4, 12, 24, 96, 192 e 768 horas de armazenamento das sementes tratadas com o fungicida e com os inoculantes.

O número de unidades formadoras de colônias por mililitro foi calculado utilizando a seguinte fórmula: Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) = Número de Colônias por diluição x Fator de diluição.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 são apresentadas as concentrações do polímero sintético Carboximetilcelulose (CMC), obtidas experimentalmente, as quais foram utilizadas nas formulações dos inoculante



do ensaio. Para definir essas concentrações, foram feitos ensaios para verificar as consistências adequadas das mesmas.

Os dados apresentados estão expressos como médias obtidas na maior diluição (10^{-9}), o que corresponde ao maior número de UFC por microlitro do inoculante.

TABELA1. Concentrações (g/L) do polímero Carboximetilcelulose (CMC) obtidas para o preparo das formulações do rizóbio visando a inoculação de sementes de feijão caupi tratadas com fungicida.

Polímero	Concentrações (g/L)									
CMC	0	0.05	0.25	0.50	0.75	1.0	1.25	1.5	1.75	2.0

Fonte: Própria (2020)

Na Tabela 2 são observados os resultados obtidos pelo uso do polímero Carboximetilcelulose (CMC), nas concentrações de 0 a 2 g/L. Observou-se, que com a utilização do CMC, em suas várias concentrações, não houve um padrão na manutenção da viabilidade celular da estirpe avaliada. Algumas concentrações como 0.250 e 0750 g/L do CMC mantiveram uma viabilidade celular até o tempo máximo de 32 dias ou 768 horas após o tratamento das sementes com o fungicida utilizado no estudo.

No entanto, concentrações a partir de 1.25 g/L de carboximetilcelulose proporcionou bons valores de UFC do microrganismo estudado, em vários períodos de armazenamento das sementes. Assim, o polímero CMC, nessas concentrações, podem atuar como um veículo para formulações de inoculantes agrícolas com *Bradyrhizobium* sp., em sementes de caupi tratadas com carbendazin (Tabela 2).

TABELA2. Sobrevivência da estirpe de *Bradyrhizobium* sp. UFLA 03-84 (SEMIA 6461) em sementes de feijão-caupi tratadas com fungicida e submetidas à formulação com o polímero Carboximetilcelulose (CMC) nas concentrações de 0 a 2 g L⁻¹(dados da diluição de 10^{-9}).

Concentração (g/L)	Período de armazenamento (horas)	UFC (média)
0	0	$9,2 \times 10^{-9}$
	1	$9,6 \times 10^{-9}$
	2	$1,4 \times 10^{-9}$
	3	$1,0 \times 10^{-9}$
	4	$8,4 \times 10^{-9}$
	12	$15,6 \times 10^{-9}$
	24	$3,1 \times 10^{-9}$
	96	$10,1 \times 10^{-9}$
	192	$4,4 \times 10^{-9}$
	768	$5,8 \times 10^{-9}$
	0	$0,0 \times 10^{-9}$



0.05	1	$1,0 \times 10^{-9}$
	2	$0,0 \times 10^{-9}$
	3	$1,0 \times 10^{-9}$
	4	$3,0 \times 10^{-9}$
	12	$0,0 \times 10^{-9}$
	24	$0,0 \times 10^{-9}$
	96	$0,0 \times 10^{-9}$
	192	$1,0 \times 10^{-9}$
	768	$2,5 \times 10^{-9}$
0.25	0	$4,8 \times 10^{-9}$
	1	$1,4 \times 10^{-9}$
	2	$1,8 \times 10^{-9}$
	3	$6,2 \times 10^{-9}$
	4	$2,3 \times 10^{-9}$
	12	$6,5 \times 10^{-9}$
	24	$7,6 \times 10^{-9}$
	96	$0,0 \times 10^{-9}$
	192	$2,3 \times 10^{-9}$
768	$16,7 \times 10^{-9}$	
0.5	0	$4,5 \times 10^{-9}$
	1	$6,0 \times 10^{-9}$
	2	$3,0 \times 10^{-9}$
	3	$6,0 \times 10^{-9}$
	4	$3,0 \times 10^{-9}$
	12	$2,0 \times 10^{-9}$
	24	$0,0 \times 10^{-9}$
	96	$4,3 \times 10^{-9}$
	192	$1,0 \times 10^{-9}$
768	$3,0 \times 10^{-9}$	
0.75	0	$0,0 \times 10^{-9}$
	1	$3,0 \times 10^{-9}$
	2	$2,5 \times 10^{-9}$
	3	$4,4 \times 10^{-9}$
	4	$1,0 \times 10^{-9}$
	12	$17,8 \times 10^{-9}$
	24	$12,6 \times 10^{-9}$
	96	$5,3 \times 10^{-9}$
	192	$1,0 \times 10^{-9}$
768	$2,4 \times 10^{-9}$	
	0	$2,3 \times 10^{-9}$
	1	$1,8 \times 10^{-9}$



1.0	2	$2,0 \times 10^{-9}$
	3	$0,0 \times 10^{-9}$
	4	$0,0 \times 10^{-9}$
	12	$3,0 \times 10^{-9}$
	24	$0,0 \times 10^{-9}$
	96	$2,0 \times 10^{-9}$
	192	$5,4 \times 10^{-9}$
	768	$7,5 \times 10^{-9}$
1.25	0	$8,2 \times 10^{-9}$
	1	$7,6 \times 10^{-9}$
	2	$15,1 \times 10^{-9}$
	3	$13,0 \times 10^{-9}$
	4	$3,3 \times 10^{-9}$
	12	$1,5 \times 10^{-9}$
	24	$12,9 \times 10^{-9}$
	96	$30,4 \times 10^{-9}$
	192	$24,8 \times 10^{-9}$
768	$25,8 \times 10^{-9}$	
1.5	0	$2,9 \times 10^{-9}$
	1	$2,6 \times 10^{-9}$
	2	$2,3 \times 10^{-9}$
	3	$3,0 \times 10^{-9}$
	4	$36,2 \times 10^{-9}$
	12	$2,0 \times 10^{-9}$
	24	$2,0 \times 10^{-9}$
	96	$23,3 \times 10^{-9}$
	192	$29,3 \times 10^{-9}$
768	$13,7 \times 10^{-9}$	
1.75	0	$3,0 \times 10^{-9}$
	1	$4,3 \times 10^{-9}$
	2	$1,0 \times 10^{-9}$
	3	$2,0 \times 10^{-9}$
	4	$1,0 \times 10^{-9}$
	12	$8,5 \times 10^{-9}$
	24	$18,3 \times 10^{-9}$
	96	$4,1 \times 10^{-9}$
	192	$5,6 \times 10^{-9}$
768	$20,6 \times 10^{-9}$	
	0	$5,2 \times 10^{-9}$
	1	$1,0 \times 10^{-9}$



2.0	2	$4,7 \times 10^{-9}$
	3	$32,2 \times 10^{-9}$
	4	$3,8 \times 10^{-9}$
	12	$1,5 \times 10^{-9}$
	24	$3,2 \times 10^{-9}$
	96	$26,2 \times 10^{-9}$
	192	$14,4 \times 10^{-9}$
	768	$9,0 \times 10^{-9}$

UFC: Unidade Formadora de Colônia.

Fonte: Própria (2020).

Estudos com o carboximetilcelulose (CMC) tem mostrado este ser um polímero bastante promissor quanto a sua utilização em formulações poliméricas, como no caso da misturas de CMC e amido, visando a utilização como veículo ou suporte para inoculantes (RHOR, 2007; FERNANDES JÚNIOR et al., 2009).

Em feijoeiro comum, Kintschev et al. (2014) verificaram que a sobrevivência das estirpes de rizóbio (*Rhizobium tropici* + *Rhizobium freirei*) inoculadas nas sementes foi afetada pela aplicação de diferentes fungicidas, principalmente pelos produtos com modo de ação por contato. Na presente pesquisa, com sementes de caupi, foi utilizado um fungicida sistêmico, no caso o carbendazin, o qual, quando combinado com as concentrações do CMC, não proporcionou um padrão de crescimento do rizóbio estudado. Santos et al. (2018), em estudo de compatibilidade dos fungicidas tiofanato metílico + fluazinam com rizóbios, verificaram que estes fungicidas foram compatíveis no tratamento de sementes de caupi, pois não inibiram *in vitro* o crescimento da estirpe INPA 03-11B de *Bradyrhizobium japonicum*.

Conclusões

Na análise da sobrevivência da estirpe de *Bradyrhizobium* sp. UFLA 03-84 em sementes de feijão-caupi cv. BRS Aracê, não há um padrão de crescimento no número de células viáveis do rizóbio em função das concentrações (0.05, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 e 2.00 g L⁻¹) do polímero carboximetilcelulose (CMC) e dos períodos de armazenamento (0, 1, 2, 3, 4, 12, 24, 96, 192 e 768 h) das sementes tratadas com esses produtos.

Mesmo sem a observação desse padrão de crescimento, a combinação do inoculante veiculado pelo CMC com o fungicida carbendazim permite a sobrevivência do rizóbio avaliado, em muitas das concentrações do polímero, e em alguns dos períodos de armazenamento das sementes tratadas do presente estudo.



Agradecimentos

Os autores agradecem ao IFMA Campus São Luis- Maracanã pela disponibilidade da infraestrutura (Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia do Solo) e à FAPEMA pela concessão da bolsa, e aos alunos voluntários do projeto.

Referências

ARIAS, L.V.A. *Inoculação de Azotobacter spp. em sementes de feijão (Phaseolus vulgaris): qualidade fisiológica das sementes e produção de grãos*. 2016. 60 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, SP, 2016.

CARDILLO, B. E. da S. *Compatibilidade de fungicida via semente e fixação simbiótica em feijoeiro-comum*. 2015. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2015.

CHAGAS J.R, A.F.; RAHMEIER, R.; FIDELIS, R.R.; SANTOS, G.R. E CHAGAS, L.F.B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupitô. *Revista Ciência Agrônômica*, v.41, p.709-714, 2010.

FARIAS, T. P. *Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado em áreas do Maranhão*. 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2014.

FERNANDES JÚNIOR, P. I. *Composições poliméricas a base de carboximetilcelulose (CMC) e amido como veículos de inoculação de rizóbio em leguminosas*. 2006. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2006.

KINTSCHEV, M. R.; GOULART, A. C. P.; MERCANTE, F.M. Compatibilidade entre a inoculação de rizóbios e fungicidas aplicados em sementes de feijoeiro-comum. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 40, n. 4, p. 338-346, 2014.

KUSDRAS, J.F. *Influência do Oligochaeta edáfico Amynthes spp. e do Rhizobium tropici no feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.)*. 1998. 116f. Dissertação. (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 1998.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. *Revista Ceres*, v. 51, n. 293, p. 67–82, 2004.



MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. *Biology and Fertility of Soils*, v.38, p.333–339, 2003.

RHOR, T.G. *Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano*. 2007. 124f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química.)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

SANTOS, M. M. S.; ROCHA, W. S.; SILVA JUNIOR, F. R. CHAGAS JUNIOR, A. F; LOPES, R.R. Compatibilidade de tratamentos de sementes e rizóbio *in vitro* e em casa de vegetação no feijão-caupi. *Tecnologia & Ciência agropecuária*, v.12, n.1, p. 15-21, 2018.

SILVA NETO, M.L; SMIDERLE, O.J.S.K.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; XAVIER, G.R.; ZILLI, J.E. Compatibilidade do tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n.1, p.80-87, 2013.

SOUZA, D. A. *Germinação e desenvolvimento inicial de Vigna unguiculata (L.) Walp. inoculada com bactérias diazotróficas*. 2017. 36 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação de Tecnologia em Agroecologia) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2017.

VINCENT, J. M. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. London: International Biological Programme, 1970.

VIEIRA, C. L., FREITAS, A. D., SILVA, A. F., SAMPAIO, E.V.; ARAÚJO, M. DO S.. Inoculação de variedades locais de feijão macassar com estirpes selecionadas de rizóbio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.14, n.11, p. 1170-1175, 2010.

ZILLI, J. É. et al. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, n. 5, p. 811-818, 2006.