



GUILHERME GODOY FONSECA

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-
COMUM À INOCULAÇÃO DAS SEMENTES
COM ESTIRPES DE RIZÓBIO EM MINAS
GERAIS**

LAVRAS - MG

2011

GUILHERME GODOY FONSECA

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-COMUM À
INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM DUAS ESTIRPES DE RIZÓBIO
EM MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Messias José Bastos de Andrade

Coorientadora

Dra. Fátima Maria de Souza Moreira

LAVRAS - MG

2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Fonseca, Guilherme Godoy.

Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com estirpes de rizóbio em Minas Gerais / Guilherme Godoy Fonseca. – Lavras : UFLA, 2011.

166 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Messias José Bastos de Andrade.

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Inoculante. 4. *Rhizobium*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.652894

GUILHERME GODOY FONSECA

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-COMUM À
INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM DUAS ESTIRPES DE RIZÓBIO
EM MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 13 de maio de 2011.

| | |
|------------------------------------|--------|
| Dra. Fátima Maria de Souza Moreira | UFLA |
| Dr. Augusto Ramalho de Moraes | UFLA |
| Dr. Cícero Monti Teixeira | EPAMIG |

Dr. Messias José Bastos de Andrade
Orientador

**LAVRAS – MG
2011**

A Deus, razão da minha vida,

OFEREÇO.

*Aos meus pais, Hélio e Helena que, verdadeiramente e
incondicionalmente, me amaram.*

*Às minhas irmãs, Andressa e Laís, que são minhas eternas apoiadoras e
torcedoras, vibrando sempre com minhas vitórias.*

*À minha namorada e futura esposa, Dalila, por todo carinho, amor e
cuidado,*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e Salvador, Jesus Cristo, que me carregou ao longo desta jornada, e me ofereceu abrigo debaixo de suas asas em horas de aflição. Toda honra, glória e louvores somente a Ti, meu Rei.

Aos meus pais, Hélio Aparecido da Fonseca e Helena Godoy Fonseca, que me sustentaram e apoiaram nos meus estudos e, verdadeiramente, me ofereceram todas as condições para que eu pudesse me tornar o homem que hoje sou.

Às minhas irmãs, Andressa Godoy Fonseca e Laís Godoy Fonseca, pelo amor, cuidado e ombro amigo em tempos bons e de fraqueza.

Ao meu amor, Dalila de Paula Souza, que me conquistou com seu carinho, amor, e companheirismo e se tornou a base de minha vida. Ao Peú, Carminha, Talita e Pedrinho, pelo acolhimento como filho, irmão e tio.

À Universidade Federal de Lavras, através do programa de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de realizar este curso.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, pela oportunidade de desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Messias José Bastos de Andrade, pela demonstração de profissionalismo e competência, e por todo seu cuidado com minha formação neste tempo.

À professora Dra. Fátima Maria de Souza Moreira, que ao coorientar-me possibilitou realizar este trabalho.

Aos pesquisadores da EPAMIG, Cícero Monti Teixeira e Fábio Aurélio Dias Martins, pela ajuda na execução dos experimentos.

Ao professor Dr. Augusto Ramalho de Moraes e ao pesquisador Cícero Monti Teixeira, por comporem a banca examinadora e oferecerem grandes sugestões.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura, Alessandro, Mário (Manguinha), Júlio e Agnaldo, pela colaboração dos trabalhos a campo.

Aos amigos de equipe, Dâmiany Pádua Oliveira, Bruno Lima Soares, Paulo Ademar Avelar Ferreira, Luan Alberto Andrade, Dayliane Bernardes de Andrade, Henrique César Souza e Fernando Valaci, pela cooperação e companheirismo.

Ao pastor, professor e Dr. Marcelo Silva de Oliveira, pelos sábios conselhos e direcionamento na vida cristã, e pelo acolhimento em sua casa.

Às repúblicas Casa Favorita, Pindaíba e Upah, que me acolheram durante meus dias como estudante de Agronomia.

À Marilane, Carlos, Sara e Daniel Sanomia, família abençoada que me acolheu durante meus dias como mestrando.

Aos amigos Lulu, Fran, Bené, Viçosa, Hiel, Vítor Cabelo, Juninho Cunha, Julinho Cunha e Johnny. Porque existem amigos mais chegados que um irmão.

Aos demais não mencionados, mas que contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho. Meu muito obrigado!

RESUMO GERAL

Com o objetivo de verificar a resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio, foram conduzidos três experimentos de campo no inverno-primavera 2010 em DBC, com três repetições. Em Lavras, o fatorial foi 6 x 3 envolvendo seis cultivares (Radiante, Ouro Vermelho, Majestoso, Bolinha, Supremo e Talismã) e três tipos de inoculação (inoculação com as estirpes CIAT 899 de *Rhizobium tropici* ou UFLA 04-173 de *Rhizobium sp.*, mais testemunha não inoculada). Em Patos de Minas e Uberaba o fatorial foi 8 x 3, envolvendo oito cultivares (União, Madrepérola, Supremo, Radiante, Bolinha, Ouro Negro, Ouro Vermelho e Majestoso) e as mesmas inoculações. A mistura inoculante, na proporção 3:1 turfa:cultura, foi empregada na base de 10 g por kg de semente e a qualidade do inoculante foi monitorada, sendo observado o número mínimo de 10^9 células de *Rhizobium* por grama de inoculante. Na floração avaliaram-se o número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea e teor e acúmulo de N na parte aérea. Na colheita foram avaliados o rendimento de grãos e seus componentes primários (número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos) e teor e acúmulo de N nos grãos. Verificou-se que em Lavras as cultivares Supremo e Majestoso apresentam maior nodulação e que estas diferenças não se manifestam no crescimento e no teor e acúmulo de N nas plantas. As cultivares diferem quanto ao rendimento e seus componentes, sendo que as cvs. Supremo, Majestoso, Talismã e Ouro Vermelho apresentam maior produtividade. A inoculação das sementes eleva o número de vagens na cv. Ouro Vermelho, mas na cv. Majestoso este efeito é observado apenas quando se utiliza a estirpe CIAT 899. Em Patos e Uberaba, as cultivares Madrepérola, Ouro Negro e Ouro Vermelho apresentam mais nódulos e maior massa seca de parte aérea; em Patos, as mesmas cultivares têm maior produtividade, mas em Uberaba, apenas Ouro Negro situa-se entre as mais produtivas. Em Uberaba há maior matéria seca de nódulos e de parte aérea, mas o ambiente mais favorável em Patos resulta em maiores valores de rendimento e componentes. A inoculação favorece a matéria seca de parte aérea nos dois locais. Em Patos, a estirpe UFLA 04-173 apresenta mais nódulos que CIAT 899 e testemunha. Nas duas localidades, o teor de N na parte aérea não difere entre os tratamentos inoculados e não inoculado, exceto nas cultivares Madrepérola, Ouro Negro e União, onde a inoculação com UFLA 04-173 é inferior àquela com CIAT 899 e à testemunha. Considerando o teor de N na parte aérea, Bolinha responde à inoculação com ambas as estirpes, enquanto Madrepérola responde à inoculação apenas com CIAT 899. Em Patos, a inoculação não influencia o teor de N e o rendimento de grãos. Em Uberaba, CIAT 899 supera UFLA 04-173 e o tratamento sem inoculação. Em ambas as localidades, a estirpe CIAT 899

também mostra superioridade quanto a número de vagens por planta e massa de cem grãos.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio. Nodulação. *Rhizobium* sp.

GENERAL ABSTRACT

Aiming to verify whether common bean cultivars equally respond to the inoculation of seeds with *Rhizobium*, three field experiments were conducted in the winter-spring crop of 2010 in a randomized block design, with three replications. In Lavras, with a factorial 6 x 3, involving six cultivars (Radiante, Ouro Vermelho, Majestoso, Bolinha, Supremo e Talismã), and three levels of inoculation (inoculation with strains CIAT 899 of *Rhizobium tropici* or UFLA 04-173 of *Rhizobium* sp. and a control without inoculation). In Patos de Minas and Uberaba, the factorial was 8 x 3, involving eight cultivars (União, Madrepérola, Supremo, Radiante, Bolinha, Ouro Negro, Ouro Vermelho e Majestoso) and the same inoculations. The inoculum mixture, in the proportion of 3:1 peat: culture, was employed on the basis of 10 g per kg of seed and the inoculant quality was monitored through counting, observing the minimum number of viable cells (about 10^9 cells of *Rhizobium* by gram of inoculant. At flowering were evaluated the number of nodules, nodules dry mass, shoots dry weight, content and accumulation of nitrogen in shoots. At harvest were evaluated the grain yield and its primary components (100 grains weight, number of pods per plant, number of grains per pod) and the content and N accumulation in grains. In Lavras it's verified that cvs. Supremo and Majestoso have greater nodulation than the others, but these differences are not manifested in growth and content and N accumulation. Cultivars differ in the yield and its components, and the cvs. Supremo, Majestoso, Talismã and Ouro Vermelho show higher productivity. Seed inoculation increases the number of pods in cv. Ouro Vermelho, but in Majestoso this effect was only observed when using the CIAT 899. In Patos and Uberaba, cvs. Madrepérola, Ouro Negro and Ouro Vermelho had the highest number of nodules and higher dry mass than the others; in Patos, the same cultivars were between those of higher productivity, but in Uberaba, only cv. Ouro Negro was among the most productive. In Uberaba was the greater nodules dry weight and higher shoots dry matter, but the most favorable environment in Patos resulted in higher values for grain yield and its components. The inoculation favoured the shoot dry matter in both places. In Patos, UFLA 04-173 showed a higher number of nodules than the CIAT 899 and the non-inoculated treatment. In both places, the N content in shoots did not differ between inoculated and uninoculated cultivars treatments except in Madrepérola, Ouro Negro e União, in which inoculation with UFLA 04-173 was lower than CIAT 899 and the uninoculated treatment. Considering the N content in shoots, the cv. Bolinha responded to inoculation with both strains, while the cv. Madrepérola responded to inoculation only with CIAT 899. In Patos, inoculation did not influence the N content nor grain yield. In Uberaba, the CIAT 899 overcame the UFLA 04-173 and the treatment without

inoculation. In both locations, the CIAT 899 also showed superiority in number of pods per plant and weight of one hundred grains.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Nitrogen fixation. Nodulation. *Rhizobium sp.*

LISTA DE TABELAS

| CAPITULO 2 | |
|------------|--|
| Tabela 1 | Resultados da análise química de amostra de um Latossolo Vermelho distroférico típico de textura argilosa pertencente ao local de instalação do experimento. Departamento de Agricultura – DAG, UFLA. Lavras-MG, 2010..... 78 |
| Tabela 2 | Principais características das cultivares utilizadas no experimento em Lavras, MG..... 81 |
| Tabela 3 | Resumo da análise de variância (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos a: número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). Lavras/MG, 2010..... 85 |
| Tabela 4 | Valores médios do número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Lavras/MG, 2010..... 86 |
| Tabela 5 | Resumo da análise de variância (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos a estande final (EST), número de vagens por planta (VAG), número de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor de N nos grãos (TNG) e acúmulo de N nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN). Lavras/MG, 2010..... 91 |
| Tabela 6 | Valores médios referentes a características relacionadas à colheita de grãos de feijão-comum – estande final de plantas (EST), número grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. DAG-UFLA, Lavras/MG. 2010..... 92 |
| Tabela 7 | Números médios de vagens por planta, em função de cultivares e inoculação. Lavras/MG, 2010..... 93 |
| CAPITULO 3 | |
| Tabela 1 | Resultados da análise química de amostras de material dos solos utilizados (camada 0 a 20 cm), Patos de Minas e Uberaba, MG, 2010..... 126 |
| Tabela 2 | Principais características das cultivares utilizadas no experimento em Uberaba e Patos de Minas, MG..... 127 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| Tabela 3 | Resumo da análise de variância conjunta (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos ao número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 132 |
| Tabela 4 | Valores médios referentes a número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 133 |
| Tabela 5 | Valores médios do número de nódulos de feijoeiro em função de localidade e inoculação. 2010..... | 135 |
| Tabela 6 | Valores médios de teor de nitrogênio (%) na parte aérea em função de cultivares e inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 137 |
| Tabela 7 | Valores médios do acúmulo de nitrogênio (mg/10 plantas) na parte aérea do feijoeiro em função de cultivares e inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 139 |
| Tabela 8 | Resumo da análise de variância conjunta (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos ao estande final (EST), número de vagens por planta (VAG) e de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN). Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 140 |
| Tabela 9 | Valores médios referentes a estande final (EST), número de vagens por planta (VAG) e de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos de feijoeiro (REN) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010..... | 141 |
| Tabela 10 | Estande de feijoeiro (em mil unidades) em função de local e inoculação. 2010..... | 142 |
| Tabela 11 | Massa de cem grãos de feijoeiro (g) em função de local e cultivares. 2010..... | 145 |
| Tabela 12 | Acúmulo de nitrogênio em grãos (g/g) em função de cultivares e local. 2010..... | 147 |
| Tabela 13 | Acúmulo de nitrogênio em grãos (g/g) em função dos dois locais e tipos de inoculação. 2010..... | 148 |
| Tabela 14 | Rendimento de grãos de feijoeiro (kg ha ⁻¹) em função de local e cultivares. 2010..... | 150 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| Tabela 15 | Rendimento de grãos de feijoeiro (kg ha^{-1}) em função de local e inoculação. 2010..... | 151 |
|-----------|---|-----|

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|----------|---|-----|
| | CAPITULO 2 | |
| Figura 1 | Variações diárias de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial no período de julho a novembro de 2010 (dados fornecidos pela Estação Climatológica Principal de Lavras - MG, situada no “campus” da UFLA, em convênio com o Instituto Nacional de Meteorologia – INMET)..... | 79 |
| | CAPITULO 3 | |
| Figura 1 | Variações diárias de temperatura (máxima, média e mínima), precipitação pluvial e umidade relativa no período de julho a outubro de 2010 (dados fornecidos pela Estação Climatológica da EPAMIG, Uberaba-MG)..... | 124 |
| Figura 2 | Variação mensal das médias de temperaturas (máxima, média e mínima) e precipitação pluvial diária no período de julho a novembro de 2010, Patos de Minas, MG, 2011 (dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET)..... | 125 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------------|---|-----------|
| | CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO E REFERENCIAL..... | 17 |
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL..... | 18 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 20 |
| 2.1 | Importância do feijão-comum no Brasil..... | 20 |
| 2.2 | Importância do nitrogênio para a cultura do feijoeiro..... | 21 |
| 2.3 | Quantidades de N fixadas pelo feijoeiro-comum..... | 23 |
| 2.4 | Fatores bióticos e abióticos que interferem nas diferentes etapas da nodulação e na eficiência simbiótica..... | 25 |
| 2.4.1 | Fatores abióticos..... | 25 |
| 2.4.1.1 | pH do solo e suas interações com outros nutrientes..... | 25 |
| 2.4.1.2 | Disponibilidade de nutrientes no solo e suas interações com a simbiose e o rizóbio..... | 27 |
| 2.4.1.3 | Umidade do solo e estresse osmótico..... | 30 |
| 2.4.1.4 | Temperatura..... | 32 |
| 2.4.1.5 | Tratamento de sementes..... | 33 |
| 2.4.2 | Influência dos fatores bióticos na fixação biológica de nitrogênio..... | 34 |
| 2.4.2.1 | Efeitos do macrossimbionte..... | 34 |
| 2.4.2.2 | Efeitos do microssimbionte..... | 36 |
| 2.4.3 | Influência das técnicas de inoculação..... | 38 |
| 2.5 | Comportamento diferencial de cultivares de feijoeiro-comum em relação à FBN..... | 40 |
| 2.6 | Estirpes de <i>Rhizobium</i>..... | 41 |
| 2.7 | Disponibilidade de N x nodulação e fixação simbiótica no feijoeiro..... | 45 |
| 2.8 | Rizóbio do inoculante x microrganismos nativos..... | 48 |
| | REFERÊNCIAS..... | 51 |
| | CAPÍTULO 2 RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-COMUM À INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM DUAS ESTIRPES DE RIZÓBIO EM LAVRAS..... | 69 |
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 72 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 77 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 85 |
| 3.1 | Características avaliadas por ocasião da floração..... | 85 |
| 3.2 | Características avaliadas por ocasião da colheita..... | 90 |
| 4 | CONCLUSÕES..... | 98 |
| | REFERÊNCIAS..... | 99 |

| | | |
|------------|---|-----|
| | CAPÍTULO 3 RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEJJOEIRO-COMUM À INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM DUAS ESTIRPES DE RIZÓBIO EM UBERABA E PATOS DE MINAS..... | 113 |
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 118 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 123 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 133 |
| 3.1 | Características avaliadas por ocasião da floração..... | 133 |
| 3.2 | Características avaliadas por ocasião da colheita..... | 141 |
| 4 | CONCLUSÕES..... | 153 |
| | REFERÊNCIAS..... | 154 |

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*) é a espécie mais produzida dentre aquelas do gênero *Phaseolus*. Este é amplamente utilizado em todo território nacional, principalmente nos sistemas produtivos de subsistência da agricultura familiar e representa o principal componente da dieta protéica da população brasileira.

O nutriente mais extraído e exportado pelo feijoeiro é o nitrogênio, fundamental para a composição da molécula de proteína. As fontes desse elemento são o solo (por meio da decomposição da matéria orgânica), a aplicação de fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN). Em regiões de clima tropical, a decomposição da matéria orgânica ocorre de forma mais rápida, resultando na rápida mineralização do nitrogênio (N), que fica sujeito a perdas. Os adubos nitrogenados, além do alto custo econômico e, às vezes, baixa frequência de resposta, apresentam ainda um custo ecológico adicional nos solos tropicais, onde as suas perdas, principalmente por lixiviação, volatilização e escoamento superficial, são estimadas em torno de 50% das quantidades aplicadas. O N perdido neste processo é altamente poluente e, uma vez lixiviado para o lençol freático, provoca a contaminação dos aquíferos subterrâneos, rios e lagos, pelo nitrato encontrado nas fórmulas de adubo nitrogenado, além de contribuir para a maior emissão de gases do efeito estufa nas perdas por volatilização. O aproveitamento dos benefícios da FBN é a mais importante solução para este problema, mesmo que se apresente como alternativa de fornecimento parcial de N, pois dentre as leguminosas, o feijoeiro-comum é aquela em que a FBN se apresenta com menor eficiência, em decorrência de diversos fatores relacionados à interação ambiente-bactéria-planta.

Devido à existência de inúmeros fatores limitantes da FBN no feijoeiro-comum, a inoculação de sementes desta espécie ainda possui descrédito junto aos agricultores e técnicos, e ainda não se mostrou tão eficiente quanto à empregada na cultura da soja. Assim, em nenhuma região produtora de feijão do País a inoculação de sementes é uma prática frequente e as recomendações oficiais de adubação geralmente ignoram a possibilidade de contribuição da FBN no atendimento à grande demanda de nitrogênio por esta leguminosa. Como consequência, o mercado de inoculantes para o feijoeiro-comum no Brasil é ainda irrisório, representando apenas 4% do mercado nacional, contra 95% dos inoculantes destinados à cultura da soja.

Nos últimos anos, entretanto, tem aumentado o número de pesquisas que indicam a possibilidade da cultura realmente se beneficiar da FBN, desde que se aprimore o manejo dos fatores envolvidos, estabelecendo boas práticas de inoculação. Resultados indicam que o feijoeiro, em condições de campo, pode se beneficiar do processo da fixação biológica de nitrogênio (FBN) alcançando níveis de produtividade de até 2.500 kg ha⁻¹. Portanto, é necessário que se promova trabalhos de seleção de estirpes visando competitividade e eficiência, além de testes com diferentes cultivares de feijoeiro-comum mais utilizados para a obtenção de respostas concretas sobre o processo de simbiose nesta leguminosa.

Objetivou-se com este trabalho verificar se cultivares de feijoeiro-comum respondem igualmente à inoculação das sementes com rizóbio, investigar o comportamento de novas cultivares de feijoeiro quando submetidas à inoculação e detectar se existe diferença na nodulação e eficiência entre estirpes de rizóbio inoculadas no feijoeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância do feijão-comum no Brasil

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), com uma produção anual que há vários anos supera 3 milhões de toneladas (praticamente 20% da produção mundial), tendo a safra de 2009/2010 alcançado 3334,7 mil toneladas em uma área de 3692 mil hectares, destinada totalmente ao mercado interno. A cultura desta leguminosa no país tem sua importância social e econômica evidenciada pelo enorme contingente de pequenos produtores e trabalhadores rurais ainda envolvidos na sua produção, a despeito da melhoria do nível tecnológico utilizado e da consequente mecanização e atração de grandes produtores e empresários para a sua cadeia produtiva. Além disso, é a mais importante fonte proteica na dieta dos brasileiros. No Brasil, a cultura se desenvolve durante três épocas e a colheita varia segundo a região geográfica: a primeira colheita ocorre durante os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março; a segunda em abril, maio, junho e julho; e a terceira durante agosto e setembro; esta última safra é a que obtém os maiores rendimentos médios (2184 kg ha^{-1}), devido o nível tecnológico e condições climáticas favoráveis durante a colheita dos grãos (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2010).

A produtividade média da cultura no País, atualmente 903 kg ha^{-1} (CONAB, 2010), embora crescente nos últimos anos, ainda contrasta com a sua grande importância, e situa-se abaixo da produtividade alcançada em outros grandes países produtores como Estados Unidos e China, respectivamente, 1.923 e 1.304 kg ha^{-1} (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAOSTAT, 2009). As tecnologias empregadas hoje, tais como irrigação e a semeadura sobre palhadas têm possibilitado o cultivo do

feijoeiro em diversos sistemas de produção, com produtividade de grãos entre 3.000 e 4.000 kg ha⁻¹ (SILVA et al., 2006) e tem proporcionado, nos últimos anos, aumento expressivo do interesse de produtores em utilizarem essas tecnologias avançadas. Ferreira et al. (2006) afirmaram que tal fato desconcentrou os períodos de safra e promoveu a incorporação de novas áreas de produção em todo o território nacional, reduzindo-se assim a sazonalidade, a instabilidade dos preços e os problemas de abastecimento. A maior regularidade da produção, por sua vez, estimulou a entrada de produtores mais eficientes na atividade, fortalecendo a agricultura empresarial.

2.2 Importância do nitrogênio para a cultura do feijoeiro

Devido ao ciclo curto e pequena profundidade das raízes do feijoeiro, a baixa disponibilidade de nutrientes no solo é um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade. Dado ao alto teor de N nos grãos e nos demais tecidos, este é o nutriente mais extraído e exportado pela planta, que tem como fontes desse elemento o solo (por meio da decomposição da matéria orgânica), a aplicação de fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de N₂ atmosférico (FERREIRA; ANDRADE; ARAÚJO, 2004).

Nos solos tropicais, a decomposição da matéria orgânica é um processo rápido, ocorrendo rápida mineralização do N, que fica sujeito a perdas. Os adubos nitrogenados, além do alto custo econômico e, às vezes, baixa frequência de resposta (FRANCO, 1977), apresentam ainda um custo ambiental adicional nos solos tropicais (PELEGRIN et al., 2009), onde as suas perdas, principalmente por lixiviação de nitrato e por escoamento superficial devido a chuvas ou irrigação, são estimadas em torno de 50% das quantidades aplicadas (STRALIOTTO et al., 2002). O N perdido neste processo é altamente poluente e, uma vez carregado para o lençol freático, provoca a contaminação dos

aquíferos subterrâneos, rios e lagos. Outras perdas de N ocorrem em forma gasosa, retornando à atmosfera, principalmente por meio de desnitrificação e volatilização (SIQUEIRA et al., 1994).

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), como a maioria das leguminosas, é capaz de utilizar o N atmosférico fixado em suas raízes por bactérias de diversas espécies, assim como aquelas do gênero *Rhizobium* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Na soja, por exemplo, esta é uma associação bem eficiente e já consagrada desde os primeiros plantios no Brasil, proporcionando grande economia para a agricultura nacional, devido à ausência de adubação nitrogenada nesta cultura. Porém, o processo de fixação biológica de nitrogênio na cultura do feijoeiro ainda encontra alguns obstáculos que limitam a FBN, como por exemplo, fatores edafoclimáticos, além daqueles relacionados com a planta hospedeira e com a população nativa de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas – BFNNL (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No feijoeiro-comum, fatores tais como acidez do solo, temperatura, deficiências nutricionais, toxidez de alumínio, disponibilidade de água e fisiologia da planta em simbiose são limitantes à fixação biológica de nitrogênio-FBN (ARAÚJO; TEIXEIRA; ALMEIDA, 2000; RAMOS et al., 2003; CASSINI; FRANCO, 2006). Nesta espécie em particular, as cultivares melhoradas foram selecionadas na presença de fertilizantes nitrogenados em detrimento da sua eficiência na FBN, o ciclo cultural é curto e o sistema radicular superficial expõe a bactéria a grandes variações de temperatura (ANDRADE et al., 2001). Além disso, a baixa competitividade do rizóbio do feijoeiro com microrganismos nativos do solo resulta em baixíssima eficiência da FBN na espécie (DENARDIN, 1991). Assim, em determinadas situações, a vantagem de se inocular as sementes de feijoeiro-comum pode ser nula, devido à ocorrência generalizada de rizóbios nos solos brasileiros. Do mesmo modo, aplicações de doses elevadas de N, principalmente na semeadura, têm ação

negativa sobre a nodulação e a FBN (FERREIRA; ANDRADE; ARAÚJO, 2004; CASSINI; FRANCO, 2006).

Em Minas Gerais, as recomendações oficiais de adubação para o feijoeiro-comum variam de 20 a 40 kg ha⁻¹ de N no plantio e de 20 a 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura, dependendo do nível tecnológico do produtor e expectativa de produtividade. Com a aplicação total de apenas 50 kg ha⁻¹ de N (plantio + cobertura), por exemplo, espera-se uma produtividade de 1.800 kg ha⁻¹ de grãos (CHAGAS et al., 1999), para a qual é estimada absorção de N superior a 100 kg ha⁻¹ (VIEIRA, 2006). Considerando-se as perdas de N no solo e a baixa recuperação da adubação nitrogenada, verifica-se que somente o N do solo mais o N aplicado podem não suprir toda a demanda do nutriente, sendo possível que a FBN seja responsável pela aquisição de parte do N necessário, mesmo sem o emprego da inoculação das sementes, ou seja, apenas com a contribuição de rizóbios nativos (CASSINI; FRANCO, 2006).

2.3 Quantidades de N fixadas pelo feijoeiro-comum

Existem várias metodologias que são utilizadas para estimar a contribuição das bactérias fixadoras de nitrogênio nas leguminosas. As comumente utilizadas, por sua facilidade e economia, são: o número e a massa de nódulos secos, a massa de planta seca e o rendimento de grãos e seus componentes, onde a correlação positiva entre as variáveis de nódulos e planta permite inferir sobre o nitrogênio fixado (MOHR et al., 1999; FERREIRA et al., 2000). Porém, esses parâmetros só fornecem evidências indiretas da FBN e não oferecem muita precisão de quanto nitrogênio é fixado (DANSO, 1985).

Outra variável importante é o teor de nitrogênio nas leguminosas, por estar relacionado à produção de matéria seca e, portanto, ao rendimento. O N advindo da FBN tem sido amplamente estimado a partir da diferença entre o

nitrogênio total e o procedente de plantas não - noduladas (BODDEY et al., 1983). No entanto, esse método possui precisão restrita quando os conteúdos de nitrogênio no solo são elevados, já que as leguminosas noduladas também absorvem N disponível da solução do solo (DANSO, 1985). Geralmente utiliza-se o método de Microkjeldahl para quantificar o N total, a partir do extrato obtido de 100 mg de massa seca com solução digestora de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e posterior destilação em hidróxido de sódio (NaOH), titulando com H_2SO_4 ou HCL como descrito por Silva e Queiroz (2006).

Resultados experimentais evidenciam ampla variação no potencial de fixação de nitrogênio do feijoeiro-comum no campo, já tendo sido observadas consideráveis quantidades de N fixadas por plantas de feijão inoculadas com *Rhizobium*. Rennie (1984), por exemplo, registrou fixação da ordem de até 110 kg ha⁻¹ de N por cultivo.

Para a maioria das cultivares de feijoeiro-comum utilizadas no Brasil, que apresentam boa nodulação e ciclo cultural de 80 a 90 dias, Duque et al. (1985) e Mendes et al. (1995) estimaram que o potencial de fixação com inoculação fica em torno de 30 kg ha⁻¹ de N por cultivo. Saito (1982), mais otimista, estimou uma contribuição média da ordem de 60 kg ha⁻¹ de N, o que, segundo o autor, representaria de 30 a 50% do N total acumulado pela planta. Dados mais recentes de Moreira e Siqueira (2006), sugerem valores bastante extremos de fixação do feijoeiro, variando desde 4 até 165 kg ha⁻¹ ano⁻¹.

Considerando a grande demanda de N pelo feijoeiro, tal fixação, muitas vezes, ainda não é suficiente para dispensar o uso de adubação com N mineral (PEREIRA, 2000), mas pode ter fundamental efeito complementar. Como a eficiência de utilização do N do fertilizante raramente excede 50%, na ausência de simbiose é necessário fornecer à planta mais de 100 kg ha⁻¹ de N (BLISS, 1993). Em muitas regiões produtoras de Minas Gerais, como em municípios do Noroeste Mineiro, as quantidades aplicadas em lavouras irrigadas de inverno

chegam a exceder 150 kg ha^{-1} de N por ciclo de cultivo, o que se aproxima de uma taxa de aplicação de $2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de N, econômica e ambientalmente condenável.

Uma possibilidade de reverter esta situação é o manejo da simbiose feijoeiro-rizóbio, considerando-se a aplicação do inoculante combinado com baixas doses de N (CASSINI; FRANCO, 2006).

2.4 Fatores bióticos e abióticos que interferem nas diferentes etapas da nodulação e na eficiência simbiótica

Para que haja a expressão da sua capacidade de fixação de nitrogênio nas plantas, os rizóbios dependem tanto de fatores intrínsecos do processo de simbiose bactéria-leguminosa, quanto de fatores extrínsecos que afetam a sobrevivência da planta e do microrganismo. Dentre os fatores que podem interferir na qualidade da FBN estão os fatores ambientais (temperatura, acidez do solo, disponibilidade de nutrientes no solo, umidade do solo e salinidade), número de células presentes no inóculo, baixa capacidade competitiva das estirpes, técnicas de inoculação, instabilidade genética dos microssimbiontes e cultivares inadequadas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.4.1 Fatores abióticos

2.4.1.1 pH do solo e suas interações com outros nutrientes

A eficiência e capacidade de nodulação do rizóbio é bastante relacionada às características edáficas, principalmente pH do solo, um dos fatores mais limitantes, que interfere na multiplicação, sobrevivência, infecção e formação dos nódulos, e na capacidade de fixação de nitrogênio de uma estirpe. Condições

de acidez prejudicam não só as bactérias fixadoras de nitrogênio, mas também o hospedeiro, por afetar a disponibilidade de nutrientes nas plantas e causar fitotoxicidade, limitando o crescimento e a produtividade da cultura. Essa condição origina interações negativas com nutrientes como cálcio, fósforo e molibdênio, as quais também são prejudiciais ao rizóbio (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999). Por outro lado, em solos salinos com altos valores de pH, originam-se condições de estresse hídrico que afetam diretamente a taxa de fotossíntese da planta e o metabolismo do nódulo (BOTTOMLEY, 1991). Como os solos tropicais possuem acidez elevada, é importante que se selecione estirpes de rizóbio mais resistentes às condições de pH baixo, para se obter sucesso tanto na sobrevivência das bactérias nos inoculantes comerciais quanto na simbiose com o feijoeiro no campo. No Brasil, vários pesquisadores têm apontado a necessidade de pesquisas à procura de estirpes de rizóbio para o feijoeiro, voltadas para solos ácidos e com temperaturas elevadas, onde normalmente se desenvolve a cultura (HUNGRIA et al., 2000; ANDRADE; MURPHY; GILLER, 2002; CHUEIRE et al., 2003; RAPOSEIRAS et al., 2006; SOARES et al., 2006).

A calagem pode trazer benefícios às bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas (BFNN) em solos com condições de baixo pH, aumentando sua população (LOVATO; PEREIRA; VIDOR, 1985) e corrigindo a deficiência de alguns nutrientes e a toxidez de outros, além de proporcionar maior nodulação (RUFINI et al., 2011). Porém, tal correção nem sempre é economicamente viável, já que em muitos solos as condições de acidez exigem altas doses de calcário, sendo o seu transporte um fator limitante.

Assim, uma estratégia mais viável seria a identificação de estirpes adaptadas às condições de acidez, e a seleção daquelas capazes de aumentar a produtividade das leguminosas.

2.4.1.2 Disponibilidade de nutrientes no solo e suas interações com a simbiose e o rizóbio

O feijoeiro é uma planta muito exigente em termos nutricionais e que não tolera a acidez do solo, tendo seu crescimento limitado, pelas deficiências nutricionais advindas desta condição. Em situações de simbiose, é de suma importância o suprimento de cálcio, fósforo e molibdênio.

A calagem, por si só, já é suficiente para que haja a manutenção de níveis adequados de cálcio no solo, considerando que esta já é uma prática comum nos cultivos em solos ácidos de regiões tropicais. O cálcio fornecido ao solo via calagem favorece o estabelecimento do rizóbio no solo, tanto pela correção da acidez, quanto pelo efeito direto do nutriente no rizóbio.

A deficiência de fósforo na maioria dos solos tropicais tem efeito marcante sobre a atividade da nitrogenase, por causa da grande quantidade de energia gasta pelo processo de FBN (STRALIOTTO, 1999). Diversos estudos realizados em casa de vegetação e no campo mostram resposta positiva entre a adubação fosfatada e o efeito simbiótico rizóbio-feijoeiro, quando testados diferentes níveis de fósforo no solo (PEREIRA; BLISS, 1987), obtendo respostas positivas também na produtividade. A nodulação e a fixação biológica de nitrogênio pelo feijoeiro, segundo Tsai et al. (1993), responderam positivamente ao aumento dos teores de P, K e S do solo, e que quando o feijoeiro recebeu um balanço adequado de nutrientes, não houve inibição, mas sim sinergia da adubação nitrogenada sobre a nodulação e fixação do nitrogênio.

Deve-se destacar também o molibdênio como micronutriente essencial na eficiência da simbiose (FRANCO; DAY, 1980), caracterizando-se por ser absorvido em pequena quantidade sob a forma de MoO_4^{-2} e por não participar da estrutura da planta, mas como componente estrutural de pelo menos duas enzimas relacionadas ao metabolismo do nitrogênio, a nitrogenase e a nitrato

redutase e participando de alguns processos de ativação enzimática. A maior ou menor disponibilidade de molibdênio está determinada pelo pH do solo e a redução do pH do solo pode diminuir esta disponibilidade (DECHEN; NACHTIGALL, 2006), com sua deficiência ocorrendo em solos ácidos de textura mais leve (RAIJ, 1991). A redução do pH do solo ou acúmulo de matéria orgânica e a elevação do dióxido de carbono atmosférico podem reduzir a disponibilidade de molibdênio, causando declínio na fixação biológica de nitrogênio (HUNGATE et al., 2004).

No campo, a aplicação foliar de Mo proporcionou aumento considerável na atividade de redução do acetileno aos 32 e 46 dias após a emergência (VIEIRA et al., 1998), da ordem de 29 a 174 % em relação a plantas de feijoeiro não pulverizadas com este micronutriente. O efeito do Mo na atividade específica da nitrogenase (atividade da nitrogenase.g⁻¹ de nódulos secos) neste experimento permaneceu presente até o estágio de enchimento de grãos (60 dias após a emergência). O aumento da atividade da nitrogenase, especialmente nos estágios de florescimento e início de desenvolvimento das vagens é importante para contrabalançar a deficiência de nitrogênio normalmente observada no feijoeiro nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta (BARRADAS; HUNGRIA, 1989). Além disso, o decréscimo na atividade da nitrogenase observada nesta simbiose após o florescimento pode ser menos acentuada (VIEIRA; PAULA JÚNIOR; BORÉM, 1998) ou mesmo, em alguns casos evitada, pela aplicação deste micronutriente. Os efeitos da aplicação de molibdênio têm sido bastante evidentes nos solos férteis mais intensamente cultivados da região da Zona da Mata Mineira, no entanto, não podem ser generalizados para todos os tipos de solos, uma vez que experimentos realizados em outros tipos de solo mostram efeitos menos evidentes ou mesmo não significativos (HUNGRIA et al., 1997).

Outro aspecto relevante que afeta a harmonia entre o macro e microssimbionte é o excesso de nitrogênio combinado disponível no solo, pois o alto nível deste nutriente possui ação negativa em alguma etapa do processo simbiótico, limitando o potencial de nodulação. De uma maneira geral, o nitrogênio pode influenciar de várias maneiras o processo de interação rizóbio-leguminosa, como por exemplo, no controle da produção de flavonóides pela planta, na adesão das bactérias às raízes, no processo de infecção, no desenvolvimento nodular e na atividade da nitrogenase (STREETTER, 1988 apud MERCANTE; FRANCO, 2000).

O cobalto não é considerado micronutriente essencial para as plantas, porém, para o feijoeiro, que depende da fixação biológica para seu suprimento em N, o cobalto se torna essencial para o desenvolvimento da cultura. O cobalto faz parte da cobalamina (vitamina B₁₂), que é essencial ao rizóbio nos processos bioquímicos da fixação de N₂. Este micronutriente também participa da formação da nitrogenase e da leghemoglobina. Aplicações de cobalto e molibdênio, em soja, não têm mostrado efeitos positivos sobre a nodulação desta. Esses micronutrientes, quando aplicados separadamente via semente ou folha, são pouco eficientes, porém, quando em conjunto, possuem sua importância no aumento da eficiência da fixação de N₂ (CAMPO; HUNGRIA, 2002). Horizonte (1984) forneceu cobalto e molibdênio às sementes de feijoeiro, obtendo aumentos na produção de grãos, peso de 100 grãos e no teor de N total da folha. É interessante ressaltar que, um dos fatores relevantes que interfere na sobrevivência das estirpes é a forma de aplicação do cobalto, pois, quando este micronutriente é fornecido na forma de sais (sulfato ou cloreto de cobalto), em contato com as bactérias, provoca alta mortalidade microbiana, ocasionada pelo elevado grau higroscópico do material. Existem no mercado, portanto, algumas formulações de cobalto de maior compatibilidade com as bactérias do inoculante.

Não somente a baixa disponibilidade dos macro e micronutrientes afeta a FBN, mas também a toxidez provocada pela elevação nos níveis de alumínio e manganês são fatores limitantes à cultura e, conseqüentemente, à simbiose. Em solos ácidos ocorre o aumento da solubilidade de alumínio e manganês, e diminuição de fosfatos, molibdatos e cálcio. O alumínio reduz a atividade dos rizóbios, próximo à divisão celular, aumentando o tempo para geração de células, causando diminuição da população de bactérias, uma vez que a mortalidade se torna maior que a multiplicação dos rizóbios (HUNGRIA et al., 2000; WATKIN; O'HARA; GLENN, 2003). Este efeito, entretanto, é variável conforme as espécies de leguminosas e também entre as espécies e estirpes de rizóbio (CHAGAS JÚNIOR, 2007).

Os demais nutrientes também afetam a FBN por limitar o crescimento e o desenvolvimento da planta e, por isso, é fundamental que as exigências nutricionais da cultura ao longo de todo o seu ciclo de vida sejam supridas.

2.4.1.3 Umidade do solo e estresse osmótico

A deficiência hídrica durante o ciclo do feijoeiro possui efeito negativo em diversas fases do processo de nodulação (RAMOS et al., 1995), além de afetar a sobrevivência do rizóbio no solo (MARY et al., 1994; LEUNG; BOTTOMLEY, 1994). Variações osmóticas associadas aos períodos de déficit hídrico resultam em perdas das populações de rizóbio no solo ou diminuição do seu crescimento (SAXENA; REWARI, 1992). Uma vez formados os nódulos, o déficit hídrico pode levar a alterações morfológicas e fisiológicas. Apesar de a literatura apresentar diversos estudos que comprovam a ocorrência de mudanças na estrutura nodular causadas por alto grau de salinidade no solo, há poucas evidências de pesquisas relacionadas aos efeitos negativos da seca na estrutura nodular das leguminosas (RAMOS et al., 2003). As estirpes de rizóbio toleram o

estresse osmótico de forma diferente: algumas são inibidas por concentrações salinas de 100 mM, enquanto outras toleram até 500 mM de NaCl (GRAHAM, 1992; STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999). Serraj e Sinclair (1998) chegaram à conclusão que raízes noduladas de soja, feijoeiro e alfafa, sob estresse de 100 mM de NaCl, tiveram inibido o crescimento de nódulos e a atividade da nitrogenase, concluindo que o efeito do NaCl foi maior no feijoeiro que na soja ou na alfafa, pois houve maior acúmulo de sais nos nódulos das raízes desta leguminosa.

Muitos estudos mostram as leguminosas e a iniciação nodular sendo mais afetadas pelo estresse osmótico e hídrico do que a estirpe. Além disso, os efeitos do estresse hídrico na produtividade das plantas sob condições simbióticas irão depender do estágio fenológico da leguminosa. Cabriales e Castellanos (1993) observaram que se o período de estresse acontece ao longo do período reprodutivo das plantas, a produtividade é mais afetada do que durante o período vegetativo. Com relação à formação de nódulos, se o período de estresse ocorrer na fase vegetativa, haverá uma recuperação total do número de nódulos após o fornecimento de água às plantas havendo, inclusive, aumento da nodulação em relação à testemunha. Porém, se este acontecer ao longo da fase reprodutiva, ocorrerá diminuição na nodulação, sem esperanças de recuperação com o suprimento posterior de água. No feijoeiro, há diferenças entre cultivares quanto à tolerância ao estresse hídrico (RAMOS et al., 1995) e, portanto, esta variabilidade pode ser utilizada em programas de melhoramento.

Pouca aeração resultante de solos inundados pode também afetar drasticamente o feijoeiro e o processo simbiótico. No entanto, a simbiose entre leguminosas e rizóbios nativos pode ser estabelecida mesmo em solos com seca prolongada ou condições de inundação por um período superior a 5 meses (TORO, 1996; MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

2.4.1.4 Temperatura

A temperatura é um fator ambiental importante na simbiose rizóbio - leguminosas, podendo afetar a sobrevivência da bactéria no solo, o processo de infecção, a formação dos nódulos e a atividade da FBN em regiões tropicais (ZHRAN, 1999; HUNGRIA; VARGAS, 2000). Além disso, quando se considera o rizóbio no inoculante, altas temperaturas afetam a sua sobrevivência no veículo, tanto durante o transporte quanto no armazenamento (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999). Contudo, a literatura dispõe de poucas informações sobre este fator, mesmo sendo uma das principais limitações do processo da fixação simbiótica de nitrogênio nos trópicos, onde encontramos solos que apresentam temperatura da ordem de 40 °C em algumas horas do dia (VARGAS; HUNGRIA, 1997; MEDEIROS et al., 2007).

A temperatura crítica para a FBN varia entre 30 °C para trevo e ervilha, e na faixa de 35 a 40 °C para soja, amendoim e caupi. O funcionamento dos nódulos de feijoeiro encontra seu ótimo entre 25 e 30 °C e é limitada por temperaturas do solo entre 30 e 33 °C. Em temperaturas superiores a 40 °C, os plasmídeos que carregam os genes simbióticos podem ser perdidos (VARGAS; HUNGRIA, 1997). Porém, em baixas temperaturas, pode haver a redução do número de nódulos e prejudicar a fixação de nitrogênio em leguminosas de clima tropical (PADMANABHAN et al., 1990). Por esta razão, o feijoeiro é considerado um hospedeiro bastante sensível, havendo variações entre as diferentes espécies de *Phaseolus* e entre as espécies de rizóbio que nodulam este gênero quanto à tolerância a estresse térmico.

Raposeiras et al. (2002) avaliaram o efeito da temperatura elevada sobre a capacidade fixadora de nitrogênio e a estrutura genética do plasmídeo de duas espécies de *Rhizobium*. Os resultados mostraram que a temperatura elevada aumentou a variabilidade no desempenho natural entre as estirpes isoladas que

foram testadas, especialmente da espécie *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*. Os perfis plasmidiais das colônias derivadas das estirpes de *R. tropici*, antes e após a exposição à temperatura elevada, apresentaram-se idênticos entre si e em relação à estirpe original, indicando que as estirpes de *R. tropici* são mais estáveis e demonstraram menor interferência pela ação da temperatura que as estirpes de *R. leguminosarum*.

O uso do sistema de plantio direto pode se tornar uma alternativa favorável à inoculação, pois as temperaturas do solo são de 5 a 10 °C inferiores às encontradas no plantio convencional (HUNGRIA; VARGAS; ARAÚJO, 1997), favorecendo a sobrevivência do rizóbio, a nodulação e a eficiência da fixação biológica de nitrogênio.

2.4.1.5 Tratamento de sementes

Quando se utiliza o tratamento de sementes, há a necessidade de se verificar a compatibilidade deste com a inoculação com rizóbio, uma vez que os produtos utilizados podem ser prejudiciais ao estabelecimento da estirpe e comprometer a fixação biológica de nitrogênio. Porém, estudos mostram dificuldade de se generalizar nesta área, devido à grande variação dos resultados em experimentos de campo, diante das diferentes condições ambientais e da tolerância das estirpes de rizóbio aos mais diversos produtos. Os fungicidas são os maiores responsáveis pela incompatibilidade com a inoculação, seguidos pelos herbicidas e, em última instância, os inseticidas (DE-POLLI; SOUTO; FRANCO, 1986).

De acordo com Cassini e Franco (2006), as sementes inoculadas não devem ser pré ou pós-tratadas com defensivos agrícolas que tendam a reduzir a viabilidade dos rizóbios inoculados. De fato, Yueh e Hensley (1993) recomendam que seja considerado que a concentração de rizóbio introduzido

pela inoculação é freqüentemente prejudicada pelos diversos pesticidas utilizados na implantação e manejo da cultura. No caso da necessidade de utilização de fungicidas não-compatíveis, recomenda-se verificar a sua compatibilidade com o rizóbio e aplicá-lo uma semana após a emergência em pulverização.

No caso do feijoeiro, entretanto, o tratamento de sementes com fungicidas específicos é o controle químico mais eficiente, pois, na sua quase totalidade, os patógenos da cultura são transmitidos via semente, interna ou externamente. O tratamento de sementes proporciona proteção inicial contra patógenos presentes no solo, elimina aqueles associados às sementes e evita a disseminação e a entrada de novos agentes patológicos na área de plantio. O tratamento de sementes é um processo de baixo custo e, além do controle inicial dos fungos, garante melhor estande e uniformidade de germinação (PAULA JÚNIOR, 2008).

Araújo et al. (2007), utilizando a cv. Carioca, estudaram a associação de tratamento de sementes (fungicida sistêmico a base de carbendazin, 0,5 g por kg de semente) e a inoculação. O fungicida não afetou a nodulação, o crescimento e a produção de grãos das plantas inoculadas, mas houve tendência de o tratamento com fungicida reduzir o rendimento de grãos quando não se fez a inoculação.

Entretanto, devido ao grande número de produtos e formulações de fungicidas para o feijoeiro e à rapidez com que novos produtos são lançados no mercado, há necessidade de se avaliar os produtos comerciais mais utilizados, procurando melhor orientar os produtores.

2.4.2 Influência dos fatores bióticos na fixação biológica de nitrogênio

2.4.2.1 Efeitos do macrossimbionte

Pereira e Braidotti (2001) consideraram que os melhoristas poderiam produzir cultivares de feijão responsivo à inoculação com bactérias do gênero *Rhizobium*, com potencial para aumentar a fixação de N e a produtividade de grãos. De fato, os programas de melhoramento genético do feijoeiro na América Latina vêm realizando nos últimos anos diversos trabalhos visando obter cultivares altamente responsivas à FBN. Alguns resultados positivos têm sido alcançados ao se favorecer a simbiose através da escolha de genótipos mais adequados (CECCATTO et al., 1998). Contudo, várias cultivares ainda estão sendo avaliadas em campo com relação à capacidade de fixação de nitrogênio.

A promiscuidade do feijoeiro é um importante fator intrínseco que afeta o processo de fixação biológica de nitrogênio, já que há uma gama de espécies de rizóbios que promove nodulação nessa leguminosa. No Brasil, tem sido relatada simbiose com *Rhizobium tropici*, *R. etli*, *R. leguminosarum* e *R. giardinii*, e com outras bactérias dos gêneros *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium* (MOSTASSO et al., 2002; GRANGE; HUNGRIA, 2004).

Apesar da importância da estirpe, outro fator que se deve levar em conta no mecanismo da nodulação é o genótipo da planta (NUTMAN, 1967). Existe grande variabilidade entre cultivares, assim como também entre genótipos selvagens, quanto ao número de nódulos, massa nodular, atividade da nitrogenase e nitrogênio acumulado (FRANCO et al., 1995), precocidade da nodulação e aumento da massa ou tamanho nodular (HERRIDGE; DANSO, 1995). A eficiência do hospedeiro pode ser expressa por centenas de aspectos bioquímicos e moleculares. Um dos fatores de avaliação para a verificação de eficiência da FBN é a expressão de proteínas do nódulo radicular, chamadas nodulinas (KAMMEN, 1984). Algumas destas proteínas são diretamente responsáveis por processos-chave do metabolismo do nódulo (VERMA; LEGOCKI; AUGER, 1981) e são consideradas como parâmetro de diferenciação de cultivares no que diz respeito à fixação biológica de nitrogênio.

A grande variabilidade de cultivares é uma ótima característica para a cultura do feijoeiro em estudos de melhoramento genético, no que tange a obtenção de melhores respostas na capacidade simbiótica entre as plantas e as estirpes de rizóbio, e permite que as possibilidades de sucesso da inoculação dessa leguminosa sejam ampliadas.

2.4.2.2 Efeitos do microssimbionte

A característica intrínseca da bactéria fixadora de nitrogênio é de suma importância para o sucesso da inoculação. Assim, estirpes nativas geneticamente estáveis, adaptadas às condições do solo e a genótipos de feijoeiro, demonstram diferenças em promover benefícios na simbiose de diferentes cultivares (FERNANDES; FERNANDES, 2000). Na maioria das bactérias do gênero *Rhizobium*, um dos fatores intrínsecos que produzem irregularidades na resposta do feijoeiro à inoculação, é a instabilidade genética do simbiote. Essa instabilidade genética é decorrente de frequências elevadas de rearranjos genômicos e/ou deleções plasmidiais, devido aos genes que controlam a nodulação, a especificidade hospedeira e a fixação de nitrogênio estarem localizados num plasmídio grande, chamado plasmídio simbiótico-*pSym*” (BANFALVI et al., 1981; HOOYKAAS et al., 1981; RAPOSEIRAS et al., 2002).

Outro fator importante são as interações entre as estirpes empregadas nos inoculantes com os microrganismos do solo, que podem originar efeitos negativos, comprometendo a sobrevivência, o estabelecimento e as propriedades simbióticas dessas estirpes de rizóbios no campo (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999; MOSTASSO et al., 2002; HASSAN; WAFAA; DESSOUKY, 2004). Portanto, a presença de grande número de antagonistas, predadores de nódulos, bacteriófagos e, principalmente, alta densidade

populacional de bactérias nativas altamente competitivas presentes no solo, constitui uma barreira para que a FBN ocorra com sua máxima eficiência. Thies, Singleton e Bohlool (1991) sugerem que se deve inocular os rizóbios na semente em número cem vezes maior do que o número de rizóbios nativos no solo, para que as estirpes inoculadas superem a formação de nódulos em detrimento daquelas indígenas. O efeito principal está na alteração do tamanho e composição da população microbiana, o qual pode resultar em uma vantagem numérica para certas estirpes ou grupos de rizóbio, podendo levar a alteração na ocupação nodular. No feijoeiro, a baixa ocupação nodular pelas estirpes inoculadas é associada à existência de uma população nativa em grande quantidade, apesar de ineficiente na maioria das vezes, mas bem adaptada às condições edáficas locais. Pelo fato de serem altamente adaptáveis, as estirpes nativas possuem uma vantagem numérica em relação ao rizóbio inoculado, que pode gerar maior competitividade pela ocupação nodular. Dessa forma, são muito importantes os estudos de levantamento da diversidade das populações de rizóbio presentes nos diferentes tipos de solo, constituindo etapa primordial na busca de inoculantes mais eficientes e competitivos.

Na produção dos inoculantes para o feijoeiro, no Brasil, embora seja incluída a estirpe SEMIA 4080 (=PRF 81), isolada no Estado do Paraná e caracterizada por ter alta capacidade de competição contra estirpes nativas e alta eficiência de fixação simbiótica de nitrogênio (HUNGRIA et al., 2000), é provável que algum dos fatores apresentados anteriormente, ou a combinação deles, esteja interferindo no desempenho dessa estirpe em condições de campo, tornando o inoculante instável na sua resposta em campo.

Para que o processo de fixação biológica de nitrogênio seja bem sucedido, é necessário que se promova a seleção de estirpes nativas adaptadas às condições edafoclimáticas. Tal seleção visa à obtenção de um inoculante competitivo, capaz de se estabelecer mais rapidamente no solo e tolerar melhor

estresses ambientais como temperatura, salinidade e acidez (SILVA; SILVA; FIGUEIREDO, 2002).

2.4.3 Influência das técnicas de inoculação

Tão importante quanto boas estirpes e inoculantes de alta qualidade, é a aplicação correta da técnica de inoculação. Grande parte das falhas eventualmente detectadas no processo da inoculação se deve ao uso inadequado do produto, muitas vezes causadas pela ausência ou ineficiência da comunicação entre pesquisa e extensão rural. Desta forma, a maneira correta do uso do produto nem sempre chega ao agricultor ocorrendo, muitas vezes, uma mistura deficiente do inoculante com as sementes a inoculação com muita antecedência ao plantio, semeadura em solo seco, subdosagem do inoculante e outros erros que podem comprometer o sucesso do processo da inoculação.

Novas técnicas de inoculação estão sendo desenvolvidas, visando facilitar a aplicação do produto, pois o método tradicional, da mistura de um inoculante em pó com as sementes, encontra muita resistência por parte do agricultor. Assim, hoje já está validado pela pesquisa o uso de inoculante líquido no sulco, embora exija uma dosagem maior que a normal. Há também o uso de inoculante em pulverização, aplicando-se o produto nos estágios iniciais da planta, com os bicos voltados para o solo, tendo apresentado alguns resultados promissores em alguns ensaios, embora ainda não seja uma tecnologia recomendada pela pesquisa.

Para proceder à inoculação das sementes com rizóbio basta misturar as sementes com o inoculante de rizóbio para o feijão. O inoculante se encontra dentro de embalagens contendo a bactéria em material turfoso, sendo considerado atualmente o mais recomendado pelos pesquisadores, pois é rico em matéria orgânica, resultante da decomposição de vegetais, sendo, portanto, uma

boa fonte de nutrientes para a bactéria (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001). O manuseio dos inoculantes sempre exige cautela, por se tratar de organismos vivos e sensíveis ao calor. Assim, é recomendável que se proceda a inoculação à sombra, nas horas mais frescas do dia, utilizando uma solução açucarada a 10% como adesivo, ou outros produtos como goma arábica a 20%. Efetua-se uma mistura de 200 a 300 ml desta solução ao inoculante (500 g) até formar uma pasta homogênea. Em seguida, mistura-se esta pasta a 50 kg de sementes de feijão até que fiquem plenamente recobertas com uma camada uniforme de inoculante. Posteriormente, as sementes inoculadas devem ser deixadas secando à sombra, em local fresco e arejado, realizando a semeadura até, no máximo, dois dias após o procedimento. No caso de utilização de tratamento de sementes e micronutrientes, deve-se tratar primeiro as sementes com estes produtos, deixar secar e posteriormente proceder à inoculação. Também há preocupação em se observar a compatibilidade do produto com o inoculante antes da sua utilização (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2003).

De qualquer forma, é importante que a técnica de inoculação, com todas suas limitações e possibilidades, seja transmitida corretamente ao agricultor, seja pela assistência técnica ou pelas empresas produtoras do insumo, pois sua boa relação custo/benefício é notória. Para se ter uma ideia, a quantidade utilizada do inoculante (200 gramas para 50 quilos de sementes), necessária para a implantação de um hectare da cultura, com custo aproximado de R\$ 3,00 para uma dose de 250 gramas, é um valor muito pequeno no custo de produção da cultura, não onerando o produtor rural (BRASIL, 2010). Vale destacar que, as doses de inoculantes, com o avanço das técnicas de produção de bactérias, estão sendo recomendadas em quantidades cada vez menores, devido à maior concentração de bactérias no inoculante que, outrora, era da ordem de 10^8 e,

atualmente, já se produzem inoculantes com concentrações da ordem de 10^9 células viáveis por grama de inoculante.

2.5 Comportamento diferencial de cultivares de feijoeiro-comum em relação à FBN

Vieira et al. (2005), estudando as cultivares Carioca, Pérola e Ouro Negro e mais quatro linhagens elite do programa de melhoramento do feijoeiro da Universidade Federal de Lavras, submetidas aos tratamentos: fósforo e potássio (PK) + N (fonte uréia, 20 kg ha⁻¹ na semeadura e 30kg ha⁻¹ em cobertura); PK + inoculação das sementes com rizóbio (estirpes SEMIA 4077 + SEMIA 4080 de *Rizobium tropici*); somente inoculação das sementes; e testemunha (sem adubação e sem inoculação), não constataram comportamento diferencial dos genótipos.

Por outro lado, cultivares comerciais já foram utilizadas na Colômbia como genitoras em programas de melhoramento visando maior FBN (MCFERSON, 1983), o que não ocorre no Brasil, onde poucas cultivares foram identificadas como portadoras de elevada eficiência na FBN, como Rio Tibagi (HUNGRIA; NEVES, 1987) e Ouro Negro (BLISS, 1993). Esta última cultivar também é relatada como de excelente eficiência simbiótica por Straliotto (2002), juntamente com cultivares do grupo carioca e a antiga cv. Negro Argel, de grãos pretos.

Um estudo realizado por Araújo, Munhoz e Hungria (1996), no qual foram utilizadas sete cultivares - uma com grãos amarelos (EMGOPA-201), três do tipo comercial carioca (ESAL-580, Carioca e Carioca-80), uma do tipo mulatinho (IPA-7) e duas do tipo comercial preto (IAPAR-20 e Rio Tibagi) - revelou que houve diferença de resposta à inoculação com duas estirpes de *Rhizobium* (SEMIA 4064 e SEMIA 4077), sendo que as cultivares com grãos de

coloração bege ou amarela apresentaram potencial de nodulação maior nas raízes secundárias do que as de coloração preta.

Pesquisas demonstraram que genótipos de ciclo mais longo e crescimento indeterminado apresentam melhor fixação de N quando bem nodulados e submetidos às condições ambientais adequadas (DUQUE et al., 1985). Genótipos que nodulam mais rapidamente após a germinação das sementes também fixam mais N (KIPE-NOLT; VARGAS; GILLER, 1993).

Vargas et al. (1993), ao estudarem a resposta da cultura inoculada com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* à suplementação com nitrogênio, verificaram que os aumentos de produção variaram com a cultivar utilizada. Da mesma forma, Lemos et al. (2003) observaram diferenças no incremento da produtividade de grãos dependendo da cultivar, quando se utilizou a estirpe CM 255.

Estas informações são relevantes e indicam que as cultivares atualmente em uso e cultivares recém-lançadas ou em fase de lançamento devem ser avaliadas quanto à FBN (VIEIRA et al., 2005).

2.6 Estirpes de *Rhizobium*

Inicialmente a simbiose com o feijoeiro era considerada bastante restrita, sendo relatada apenas com um grupo de bactérias, *Rhizobium phaseoli* (FRED; BALDWIN; MCCOY, 1932), reclassificado posteriormente como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984), sendo que algumas destas bactérias eram obtidas no exterior e testadas pelas instituições de pesquisa no Brasil. Contudo, a evolução dos estudos taxonômicos e o avanço das metodologias de biologia molecular revelaram diferentes agrupamentos de isolados com características simbióticas e adaptação ecológica distintas, inclusive envolvendo isolados obtidos nas regiões de clima tropical, revelando-

se a inadequação das estirpes tradicionalmente recomendadas para as condições de cultivo brasileiras. Assim, descobriu-se que o feijoeiro pode ser bastante promíscuo em suas associações simbióticas e, até 1997, outras quatro espécies foram descritas: *R. tropici* (MARTINEZ-ROMERO et al., 1991), *R. etli* bv. *phaseoli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTINEZ-ROMERO, 1993), *R. gallicum* bvs *gallicum* e *phaseoli* e *R. giardini* bvs. *giardini* e *phaseoli* (AMARGER; MACHERET; LAGUERRE, 1997). Atualmente, outras espécies/biovars de *Rhizobium* e de outros gêneros foram isolados de nódulos de feijoeiro, tais como *R. mongolense*, *R. etli* bv. *mimosae*, *R. yangligense*, *Sinorhizobium fredii*, *S. americanum*, *Azorhizobium doebereinae*, *Mesorhizobium loti* e *M. huakuii* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Sob condições artificiais, o feijoeiro ainda pode ser inoculado por *S. meliloti* e *S. fredii* e por uma grande quantidade de estirpes isoladas de leguminosas florestais (HUNGRIA et al., 1997).

Vários esforços continuam sendo feitos no sentido de se conhecer melhor a diversidade dos microrganismos que nodulam as raízes e fixam N no feijoeiro (CHUEIRE et al., 2003; MELLONI et al., 2006; SOARES et al., 2006; STOCCO et al., 2008). Contudo, a resposta à fixação biológica de nitrogênio no campo tem-se mostrado instável (MOSTASSO et al., 2002; HAFEEZ et al., 2005; SOARES et al., 2006). Com o objetivo de melhorar a resposta do processo de fixação biológica de nitrogênio, diversas abordagens estão sendo feitas, avaliando as estirpes isoladamente (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003; SOARES et al., 2006) ou em mistura de estirpes (HASSAN; WAFAA; DESSOUKY, 2004; HAFEEZ et al., 2005; RAPOSEIRAS et al., 2006). Muitos pesquisadores têm realizado estudos de competição e/ou de eficiência agrônômica com novas estirpes de *Rhizobium* no feijoeiro, em locais diferentes, e encontraram estirpes com produtividade semelhante à CIAT 899, utilizada em inoculante comercial (RAPOSEIRAS et al., 2006; SOARES et al., 2006).

O microssimbionte exerce grande influência na eficiência da FBN. O inoculante brasileiro, para o feijoeiro, durante muito tempo, foi produzido utilizando-se bactérias das espécies *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli e *Rhizobium etli*. Algumas destas eram obtidas no exterior e testadas por instituições de pesquisa no Brasil (STRALIOTTO, 2002). Atualmente, sabe-se que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. phaseoli e *R. etli* estão sujeitas a elevado grau de instabilidade genética (FLORES et al., 1988; SOBERÓN-CHAVES et al., 1986), podendo perder sua eficiência simbiótica com certa facilidade.

Atualmente, as estirpes recomendadas como inoculantes comerciais de feijoeiro no Brasil contém duas estirpes de *R. tropici*: CIAT 899 (= BR 322 = SEMIA 4077) e PRF 81 (=BR 520 = SEMIA 4080). A estirpe PRF 81 foi isolada de um solo do Paraná (HUNGRIA et al., 2000) e caracterizada como pertencente à espécie *Rhizobium tropici* (CHUEIRE et al., 2003).

Foi observado que estirpes da espécie *R. tropici* são mais resistentes a temperaturas elevadas que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. phaseoli (ARAÚJO; STRALIOTTO; FRANCO, 1993; GOULART; BALDANI, 1993; OLIVEIRA et al., 1998; RAPOSEIRAS et al., 1998). Verificou-se maior competitividade de estirpes daquela espécie na nodulação do feijoeiro sob condições elevadas de acidez (VARGAS; GRAHAM, 1989; WOLFF et al., 1991).

Em experimentos em vasos, a estirpe CIAT 899 mostrou-se mais competitiva em condições de baixo pH (STREIT et al., 1995) e altas temperaturas (OLIVEIRA; GRAHAM, 1990). Em campo, os resultados são variáveis, tendo apresentado baixa competitividade em solos do Havaí (THIES; BOHLOOL; SINGLETON, 1992) e em solos ácidos da Colômbia (WOLFF et al., 1991), e alta competitividade em solo de baixa fertilidade no Brasil (VLASSAK; VANDERLEYDEN; FRANCO, 1996).

Rufini et al. (2011), estudando o efeito de diferentes condições de pH do solo sobre a eficiência da simbiose das estirpes CIAT 899 e quatro outras, isoladas de um solo da Amazônia, verificou que a acidez do solo não interfere na capacidade de nodulação desta estirpe, confirmando resultados encontrados por Graham et al. (1994).

Na Universidade Federal de Lavras, estirpes de rizóbio obtidas em diferentes sistemas de uso de terra (SUT), no estado de Rondônia, demonstraram alta eficiência em vasos de Leonard (PEREIRA, 2000) e, posteriormente, experimentos de campo comprovaram alta eficiência agronômica de algumas destas estirpes em solos da região de Formiga (NOGUEIRA, 2005), Perdões (SOARES et al., 2006) e Lavras (FERREIRA et al., 2009) no estado de Minas Gerais.

Na região de Formiga, com a cv. Pérola, Nogueira (2005) testou as estirpes BR 322 (CIAT 899) de *R. tropici*, UFLA 02-100 de *R. etli*, UFLA 02-86 de *R. etli* bv. phaseoli e UFLA 02-127 de *R. leguminosarum* bv. phaseoli, mais duas testemunhas (sem N mineral e sem inoculação e outra com 80 Kg ha⁻¹ de N). Observou que a inoculação com as estirpes UFLA 02-100 e UFLA 02-127 contribuiu de forma significativa para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro, com economia do fertilizante nitrogenado.

Em Perdões, Soares et al. (2006) estudaram o comportamento das mesmas estirpes mais a estirpe UFLA 02-68 de *R. etli* bv. mimosae, além das testemunhas absoluta e nitrogenada (70 kg ha⁻¹ de N). Concluíram que a inoculação com as estirpes UFLA 02-86, UFLA 02-100 e UFLA 02 127 contribuiu significativamente para o aumento do rendimento e para o acúmulo de N nos grãos da cv. Talismã, mas não diferiram da estirpe CIAT 899.

Em Lavras, Ferreira et al. (2009), testando no campo as estirpes BR 322 (CIAT 899), UFLA 02-100, UFLA 02-86, UFLA 02-127 e UFLA 02-68 inoculadas em sementes da cv. Talismã, verificaram que a estirpe UFLA 02-68

superou as demais, inclusive a CIAT 899, e promoveu rendimento de grãos semelhante ao da testemunha com 80 Kg ha⁻¹ de N. Na mesma localidade, em casa de vegetação, em vasos de Leonard, Ferreira (2008) verificou que as estirpes de *Rhizobium sp* UFLA 04-173, UFLA 02-127, CIAT 899 e mais outras cinco estirpes superaram a testemunha nitrogenada em relação ao teor de N na parte aérea, que situou-se acima da faixa de suficiência indicada por Ambrosano et al. (1997) para o feijoeiro-comum. A estirpe UFLA 04-173, juntamente com outras duas estirpes, também apresentou maior número de nódulos e maior massa seca de nódulos, valores semelhantes aos encontrados nas plantas inoculadas com CIAT 899.

2.7 Disponibilidade de N x nodulação e fixação simbiótica no feijoeiro

Vários estudos indicam a possibilidade de substituição da adubação nitrogenada pela fixação biológica de nitrogênio (MENDES et al., 1994; LEMOS et al., 2003; ROMANINI JÚNIOR et al., 2007). Tanto a presença como a ausência de N afetará a FBN de várias formas (PEREIRA, 1982). Pequenas quantidades de N aplicadas ao solo permitem aumento no crescimento de nódulos e maior FBN, enquanto níveis muito baixos de nitrato no solo podem ser limitantes à atividade simbiótica (ROSOLEM, 1987).

A adição de elevados teores de N afeta inicialmente o número e a massa de nódulos, mas segundo Ruschel e Ruschel (1975) e Ruschel e Saito (1977), parece não inibir o desenvolvimento do nódulo e a FBN. De maneira geral, entretanto, aplicações de doses elevadas de N, principalmente na semeadura, têm ação negativa sobre a nodulação e a FBN (ANDRADE et al., 1998; FERREIRA; ANDRADE; ARAÚJO, 2004; CASSINI; FRANCO, 2006).

Na literatura há grande variabilidade de resultados quando se associa inoculação e adubação nitrogenada, provavelmente em função das diferentes

condições experimentais e do grande número de fatores atuantes na resposta, ora com resultados positivos, ora sem efeito significativo.

Ferreira et al. (2000) afirmam que a inoculação de estirpes eficientes de *Rhizobium* em cultivar nodulante de feijoeiro, ou o cultivo deste em solos com população nativa eficiente, pode possibilitar a não utilização de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro, sem afetar a produtividade. Com a fixação biológica do nitrogênio atmosférico é possível se obter até 2500 kg ha⁻¹ de rendimento de grãos de feijão na ausência de adubação nitrogenada (SANTOS, 2009 apud STRALIOTTO et al., 2002).

Moraes et al. (2010), estudando dez linhagens de feijoeiro consideradas tolerantes ao déficit hídrico e sete estirpes nativas isoladas dos solos de municípios do estado do Espírito Santo, concluíram que, com a utilização de estirpes inoculadas ou mesmo nativas, de alta eficiência simbiótica e compatibilidade, é possível suplementar ou até mesmo substituir a adubação nitrogenada em cobertura, sem riscos de comprometimento da produtividade.

Arf et al. (1991), estudando doses e modos de aplicação de N, associados ou não à inoculação de sementes com *R. leguminosarum* bv. phaseoli, verificaram efeito da inoculação sobre os componentes do rendimento do feijoeiro, mas não sobre a produtividade de grãos e qualidade de sementes. De acordo com Carvalho (1994), N e Mo, associados ou não com inoculação das sementes (*R. leguminosarum* bv. phaseoli), não afetaram a produção final. Porém, Valadão et al. (2009), verificaram que a adubação nitrogenada reduziu o crescimento dos nódulos, apesar do rendimento de grãos obtido pela inoculação de sementes ter sido compatível com aquele resultante da adubação com N. Da mesma forma, Silva et al. (2009) verificaram que a adubação nitrogenada reduziu, de forma linear, a nodulação do feijoeiro. Bassan et al. (2001), utilizando a cv. Pérola e a estirpe SEMIA 4077 de *R. tropici*, conduziram um fatorial 2x3x4 envolvendo inoculação (presença e ausência), molibdênio

75 g ha⁻¹ (ausência, via sulco e via foliar) e N cobertura (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹) e apenas encontraram efeitos significativos das doses de N. Andrade et al. (2001), com a cv. Carioca-MG, não observaram diferenças de rendimento de grãos entre a testemunha absoluta (1160 kg ha⁻¹) e o tratamento apenas inoculado (1282 kg ha⁻¹); a inoculação + N cobertura foi intermediário (1723 kg ha⁻¹) e N semeadura + N cobertura foi o melhor tratamento (2241 kg ha⁻¹).

Ao contrário, Ruschel, Saito e Tulmann-Neto (1979) observaram que nos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada (100 kg ha⁻¹), a produção de grãos do feijoeiro aumentou em 2 a 2,5 vezes, respectivamente, quando o parcelamento foi realizado aos 20 e 30 dias após a semeadura. Horizonte (1984) verificou que a adubação nitrogenada associada à inoculação das sementes foi capaz de promover aumentos na massa seca da planta e na produção do feijoeiro. Vargas et al. (1993) obtiveram resposta da cultura inoculada com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* à suplementação com N, sendo que os aumentos de produção variaram em função da dose e cultivar utilizada. Vieira et al. (2005) verificaram que, dependendo da safra, inoculação + PK na semeadura podem ter o mesmo efeito que N + PK na semeadura.

Romanini Júnior et al. (2007) estudaram ausência e presença de inoculação (estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* CENA CM 255 + CM 01 em 2002 e CM 255 + CM 225 em 2003) de sementes das cvs. Carioca Eté e Pérola combinadas com N mineral na semeadura (0 ou 10 kg ha⁻¹ de N, fonte ureia) e em cobertura (0, 25, 50 e 75 kg ha⁻¹ de N, fonte uréia). Concluíram que, na média dos dois anos de estudo, a inoculação proporcionou rendimento 17% significativamente maior que a não inoculação das sementes, que a adubação de semeadura teve efeito apenas em 2003 e que as doses de N em cobertura resultaram em acréscimo linear do rendimento dos grãos nos dois anos de estudo.

Pelegrin et al. (2009) associaram, na cv. Pérola, inoculação das sementes (*Rhizobium tropici* estirpe CIAT 899) com 20 kg ha⁻¹ de N mineral, fonte uréia, na semeadura e constataram que este tratamento possibilitou rendimento de grãos de 3.339 kg ha⁻¹, equivalente ao da aplicação de até 160 kg ha⁻¹ de N, entre semeadura e cobertura (3.762 kg ha⁻¹); a inoculação sem aplicação de N mineral teve comportamento intermediário (3.131 kg ha⁻¹) entre a testemunha absoluta (2.967 kg ha⁻¹) e os tratamentos que envolveram inoculação + N mineral.

Segundo Franco et al. (1995), a inoculação é indicada como única fonte de N para cultivares de feijão que apresentam boa nodulação e para níveis de produtividade de até 1.500 kg ha⁻¹. Para níveis de produtividade superiores deve-se utilizar adubação com N mineral em cobertura.

No feijoeiro-comum de hábito determinado, um rápido declínio nas taxas de fixação tem sido observado na fase de enchimento de grãos (CASSINI; FRANCO, 2006). De acordo com Silva, Tsai e Bonetti (1993), é possível que a adubação nitrogenada em cobertura possa compensar o rápido declínio da atividade fotossintética e da fixação do N, garantindo, assim, ganhos significativos de produtividade de feijão em simbiose eficiente com estirpes de rizóbio em solos com baixa fertilidade.

2.8 Rizóbio do inoculante x microrganismos nativos

A baixa competitividade do rizóbio do feijoeiro com microrganismos nativos do solo resulta em baixíssima eficiência da FBN na espécie (DENARDIN, 1991). De acordo com Lupwayi, Rice e Clayton (2005), competitividade é a capacidade de uma ou mais estirpes de rizóbio em crescer, sobreviver e colonizar os sítios de nodulação em detrimento dos outros rizóbios. Os sítios de nodulação são os locais pelos quais as bactérias infectam as raízes das leguminosas, que em geral são os pêlos radiculares, e então começam a

formar o cordão de infecção. Assim, em determinadas situações, não há vantagens em se inocular as sementes de feijão, devido à ocorrência generalizada de rizóbios nativos nos solos brasileiros (CASSINI; FRANCO, 2006). As bactérias oriundas destes solos possuem geralmente maior adaptabilidade às condições edáficas frente às estirpes selecionadas, principalmente quando o solo tende a apresentar limitações como baixo teor de matéria orgânica e altos níveis de metais pesados, podendo-se selecionar organismos altamente adaptados.

Para que uma estirpe de rizóbio possa ser recomendada para inoculação, é preciso que possua, dentre outros atributos, eficiência na fixação de N e capacidade de se estabelecer no solo e competir com os microrganismos ali presentes (ARAÚJO et al., 2007). Existe dificuldade no estabelecimento de estirpes eficientes no solo devido à alta promiscuidade do feijoeiro em relação ao microsimbionte (BARBERI, 2007); neste sentido, Mercante et al. (1992) relataram que a falta de resposta do feijoeiro à inoculação é, muitas vezes, devido à presença de bactérias nativas no solo mais agressivas que aquelas inoculadas, que nodulam o feijoeiro mesmo em áreas nas quais a cultura nunca havia sido implantada. Tal fato foi confirmado por Bassan et al. (2001) quando observaram que na ausência de inoculação de sementes o número de vagens e de sementes por planta foram 19 e 20% maiores, respectivamente, que na presença de inoculação, ocorrendo também aumentos na massa de 100 sementes e na produtividade. Como já mencionado, a presença de bactérias nativas no solo se torna um fator limitante para o desempenho da estirpe introduzida, por haver competição entre elas pelos sítios de infecção nodular.

Assim, para a manutenção de elevadas produções com as atuais cultivares de feijoeiro-comum, o inoculante deverá vencer a sua principal barreira, que é a competitividade com as estirpes nativas, que, naturalmente, têm baixo potencial de FBN (CASSINI; FRANCO, 2006) e grande adaptação aos

solos onde habitam. De acordo com Triplett e Sadowsky (1992), entretanto, a superioridade das estirpes estabelecidas no solo, de um modo geral, resulta de uma questão numérica e não de maior competitividade dessas estirpes.

Considerando ainda que diversos fatores bióticos e abióticos possam prejudicar a concentração de rizóbio introduzida pela inoculação, é interessante testar a introdução de maiores concentrações ou maiores doses de inoculante no caso da inoculação de sementes de feijoeiro-comum. Investigação neste sentido foi iniciada por Araújo et al. (2007) que compararam, na cv. Carioca, o emprego da dose recomendada de inoculante comercial (8 g kg^{-1} de semente) com o emprego de duas doses (16 g kg^{-1} de semente), na presença e ausência de tratamento de sementes com fungicida. Quando se realizou o tratamento de sementes, não houve diferenças entre doses, mas na ausência do tratamento, diferentemente do esperado, uma dose (8 g kg^{-1}) foi o tratamento que se destacou. Este resultado sugere que o assunto precisa ser mais bem estudado.

REFERÊNCIAS

- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 47, n. 4, p. 996-1006, Oct. 1997.
- AMBROSANO, E. J. et al. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. Van et al. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação ABC, 1997. cap. 19, p. 187-199.
- ANDRADE, D. S.; MURPHY, P. J.; GILLER, K. E. The diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 8, p. 4025-4034, Aug. 2002.
- ANDRADE, M. J. B. et al. Influência do nitrogênio, rizóbio e molibdênio sobre o crescimento, nodulação radicular e teores de nutrientes no feijoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 45, n. 257, p. 65-79, 1998.
- ANDRADE, M. J. B. et al. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenada e molíbdica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 934-940, jul./ago., 2001.
- ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G.; ALMEIDA, D. L. Growth and yield of common bean cultivars at two soil phosphorus levels under biological nitrogen fixation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 809-817, abr. 2000.
- ARAÚJO, F. F. de; MUNHOZ, R. E. V.; HUNGRIA, A. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 435-443, nov. 1996.

ARAÚJO, F. F. et al. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, 2007.

ARAÚJO, J. L. S.; STRALIOTTO, R.; FRANCO, A. A. Seleção de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para fixação biológica de nitrogênio em condições de temperaturas elevadas. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1993. p. 136.

ARF, O. et al. Efeito da inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Carioca 80. **Científica**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 29-38, 1991.

BANFALVI, Z. et al. Location of nodulation and nitrogen fixation genes on a high molecular weight plasmid of *R. meliloti*. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 184, n. 2, p. 318-325, 1981.

BARBERI, A. **Diversidade e eficiência de bactérias que nodulam feijoeiro de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia Ocidental**. 2007. 121p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

BARRADAS, C. A.; HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro (I): precocidade para nodulação e fixação do nitrogênio. **Turrialba**, San José, v. 39, n. 2, p. 236-242, 1989.

BASSAN, D. A. Z. et al. 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**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 76-83, 2001.

BLISS, F. A. Breeding common bean for improvement of biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p.71-79, 1993.

BODDEY, R. M. et al. The ^{15}N -isotope dilution technique applied to the estimation of biological nitrogen fixation associated with *Paspalum notatum* cv. Batatais in the field. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 15, n. 3, p. 25-32, 1983.

BOTTOMLEY, P. Ecology of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, In: STACEY, G.; BURRIS, R. H. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. New York: Chapman & Hall, 1991. p. 292-347.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 12 de nov. 2010. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 nov. 2010. Disponível em:
<http://www.fiscolex.com.br/doc_13261309_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_12_DE_NOVEMBRO_DE_2010.aspx>. Acesso em: 25 mar. 2011.

CABRIALES, J. J.; CASTELLANOS, J. Z. Effects of water stress on N fixation and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Hague, v. 152, n. 1, p. 151-155, 1993.

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Importância dos micronutrientes na fixação biológica do N_2 . **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 98, p. 6-9, jul. 2002.

CARVALHO, E. G. **Efeito do nitrogênio, molibdênio e inoculação das sementes em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) na região de Selvíria-MS**. Ilha Solteira: FEIS/UNESP, 1994 51p. Monografia (Graduação em Engenharia) – Universidade Estadual de São Paulo, Ilha Solteira, 1994.

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. atual. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 143-170.

CECCATTO, V. M. et al. Effects of host plant origin on noduling activities and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Hague, v. 204, n. 1, p. 79-87, 1998.

CHAGAS JÚNIOR, A. F. **Características agronômicas e ecológicas de rizóbios isolados de solos ácidos e de baixa fertilidade da Amazônia**. 2007. 158p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade federal do Amazonas, Manaus, 2007.

CHAGAS, J. M. et al. Feijão. In: RIBEIRO, A.C. et al. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999. p. 306-307.

CHUEIRE, L. M. O. et al. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p. 833-840, set. 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo levantamento**. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos_09.12.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2011.

DANSO, S. K. A. Methods of estimating biological nitrogen fixation. In: SALI, H. S.; KEYA, S. O. (Ed.). **Biological nitrogen fixation in Africa**. Nairobi: Mircen, 1985. p. 224-244.

DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. M. Micronutrientes. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. cap. 8, p. 327-354.

DENARDIN, N. D. **Seleção de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* tolerantes a fatores de acidez e resistentes a antibióticos**. 1991. 89f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1991.

DE-POLLI, H.; SOUTO, S. M.; FRANCO, A. A. **Compatibilidade de agrotóxicos com *Rhizobium spp* e a simbiose das leguminosas**. Seropédica: Embrapa, 1986, 75p., (Documentos, 3).

DUQUE, F. F. et al. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of the N₂ fixation using 15N. **Plant and Soil**, The Hague, v. 88, n. 3, p. 333-43, 1985.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo de feijão-caupi**. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://sistemaproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/referencias.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M. Seleção inicial e caracterização parcial de rizóbios de tabuleiros costeiros quando associados ao guandu. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p. 321-327, 2000.

FERREIRA, A. C. B.; ANDRADE, M. J. B.; ARAÚJO, G. A. A. Nutrição e adubação do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 25, n. 223, p. 61-72, 2004.

FERREIRA, A. N. et al. Estirpes de *rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 507-512, jul./set. 2000.

FERREIRA, C. M. et al. Aspectos econômicos. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Coord.) **Feijão**. Viçosa, MG: UFV, 2006, p. 19-40.

FERREIRA, P. A. A. **Eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijoeiro e sua tolerância a acidez e alumínio “in vitro”**. 2008. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FERREIRA, P. A. A. et al. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, Sana Maria, v. 39, n.7, p. 2210-2212, out. 2009.

FLORES, M. et al. Genomic instability in *Rhizobium phaseoli*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 170, n. 3, p. 1191-1196, Mar. 1988.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Banco de FAOSTAT. Rome, 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em 03/2011.

FRANCO, A. A. Nutritional restrains for tropical grain legume symbiosis. In: VINCENT, J. M. et al. (Ed.) **Exploiting the legume-*Rhizobium* in tropical agriculture**. Hawaii: University of Hawaii, 1977. p. 75-96.

FRANCO, A. A.; DAY, J. M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soil of Brazil. **Turrialba**, San José, v.30, n.1, p. 99-105, 1980.

FRANCO, M.C. et al. Nodulation in divergent common bean accessions. I. Selection of parental types for genetic analysis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. **Programa and Abstracts...** Viçosa, MG: JARD, 1995. p. 147.

FRED, E. B.; BALDWIN, I. L.; MCCOY, E. **Root nodule bacteria of leguminous plants**. Madison: The University of Wisconsin, 1932. 343p.

GOULART, L. S.; BALDANI, J. I. Efeito do choque térmico na expressão de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium tropici*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1993. p. 133.

GRAHAM, P. H. et al. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR 1899. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 40, n. 3, p. 198-207, Mar. 1994.

GRAHAM, P. H. Stress tolerance in Rhizobium and Bradyrhizobium and nodulation under adverse soil conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 475-484, June 1992.

GRANGE, L.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia in two Brazilian ecosystem. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1389-1398, Sept. 2004.

HAFEEZ, F. Y. et al. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* isolated from agriculture soils in Faisalabad. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 142-147, Sept. 2005.

HASSAN, M.; WAFAA, M. A.; DESSOUKY, A. Performance of *Phaseolus* bean rhizobia in soils from the major production sites in the Nile Delta. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 327, n. 5, p. 445-453, May 2004.

HERRIDGE, D. F.; DANSO, S. K. A. Enhancing crop legume N₂ fixation through selection and breeding. **Plant and Soil**, The Hague, v. 174, n. 1/2, p. 51-82, 1995.

HOOYKAAS, P. J. P. et al. Sym plasmid of *Rhizobium trifolii* expressed in different rhizobial species and *Agrobacterium tumefaciens*. **Nature**, London, v. 291, p. 351-353, May 1981.

HORIENTE, E. C. **Efeitos da aplicação de micronutrientes e nitrogênio mineral sobre a fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1984. 39p. Monografia (Graduação em Agonomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1984.

HUNGATE, B. A. et al. CO₂ elicits long-term decline in nitrogen fixation. **Science**, Washington, v. 304, n. 5675, p. 1291, May 2004.

HUNGRIA, M. et al. **Importância do sistema de semeadura na população microbiana do solo**. Londrina: Embrapa-Soja, 1997. (Comunicado Técnico, 56).

HUNGRIA, M. et al. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 11/12, p.1515-1528, Oct. 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Benefits of inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 39, n. 2, p. 88-93, Dec. 2003.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48p. (Circular técnica).

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen fixation and transport in *P. vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Hague., v. 103, n. 1, p. 111-121, 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p.151-164, Mar. 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Biologia dos solos de cerrados**. Planaltina: Embrapa, 1997. p. 187-294.

JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. D. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: Williams and Wilkins, 1984. v. 1, p. 234-244.

KAMMEN, A. van. Suggested nomenclature for plant genes involved in nodulation and symbiosis. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 2, n. 2, p. 43-45, 1984.

KIPE-NOLT, J. A.; VARGAS, H.; GILLER, K. E. Nitrogen fixation in breeding lines of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Hague, v. 152, n. 1, p. 103-106, 1993.

LEMOS, L. B. et al. Inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada em genótipos de feijoeiro. **Agronomia**, Itaguai, v. 37, n. 1, p. 27-32, 2003.

LEUNG, K.; BOTTOMLEY, P. J. Growth and nodulation characteristics of subclover (*Trifolium subterraneum* L.) and *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* at different soil water potentials. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 7, p. 805-812, July 1994.

LOVATO, P. E.; PEREIRA, J. C.; VIDOR, C. Flutuação populacional de *Rhizobium phaseoli* em solos com e sem calagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 9, n. 1, p. 9-12, jan. 1985.

LUPWAYI, N. Z.; RICE, W. A.; CLAYTON, G. W. Rhizobial inoculants for legume crops. **Journal of Crop Improvement**, Binghamton, v. 15, n. 2, p.289-321, 2005.

MARTINEZ-ROMERO, E. et al. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 41, n. 3, p. 417-426, July 1991.

MARY, P. et al. Differences among *Rhizobium meliloti* and *Bradyrhizobium japonicum* strains in tolerance to desiccation and storage at different relative humidities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 9, p. 1125-1132, Sept. 1994.

MCFERSON, J. R. **Genetic and breeding studies of dinitrogen fixation in common beans (*P. vulgaris* L.)**. 1983. 146p. These (Doctorado) – University of Wisconsin, Madison, 1983.

MEDEIROS, E. V. et al. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 7, n. 2, p. 59-65, jan./dez. 2007.

MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 235-246, mar. 2006.

MENDES, I. C. et al. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 18, p. 421-425, 1995.

MENDES, L. C. et al. Eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 421-425, 1994.

MERCANTE, F. M. et al. **A inoculação do feijoeiro-comum com rizóbio**. Seropédica: Embrapa-CNPBS, 1992. 8p. (Comunicado Técnico, 10).

MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A. Expressão dos genes *nod* de *Rhizobium tropici*, *R. etli*, e *R. leguminosarum* bv. *Phaseoli* e estabelecimento da nodução do feijoeiro na presença de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p. 301-310, mar. 2000.

MOHR, R. M. et al. Plant-available nitrogen supply as affected by method and timing of alfalfa termination. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, n. 4, p. 622-630, 1999.

MORAES, W. B. et al. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em Genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **Idesia**, Arica, v. 28, n. 1, p. 61-68, abr. 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626p.

MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

MOSTASSO, L. et al. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 73, n. 2/3, p. 121-132, 2002.

NOGUEIRA, C. O. G. **Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas que nodulam o feijoeiro-comum em Formiga-MG**. 2005. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

NUTMAN, P. S. Varietal differences in the nodulation subterranean clover. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 18, n. 2, p. 381-425, 1967.

OLIVEIRA, C. A. et al. Efeito da temperatura sobre a fixação de N₂ do feijoeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu, 1998.

Resumos... Caxambu: UFLA, 1998. p. 181.

OLIVEIRA, L. A.; GRAHAM, P. H. Evaluation of strain competitiveness in + - *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* using a nod fix natural mutant. **Archives in Microbiology**, Berlin, v. 153, n. 4, p. 305-310, Mar. 1990.

PADMANABHAN, S.; HIRTZ, R. D.; BROUGHTON, W. J. Rhizobia in tropical legumes: Cultural characteristics of Bradyrhizobium and Rhizobium sp. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 23-28, 1990.

PAULA JÚNIOR., T. J. (Coord.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. Viçosa, MG: Epamig-CTZM, 2008. 180 p. (Documentos, 42).

PELEGRIN, R. et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 219-226, fev. 2009.

PEREIRA, A. A.; BRAIDOTTI, W. Comparação de métodos de melhoramento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para o incremento da fixação simbiótica de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 1, p. 15-21, 2001.

PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbio em diferentes sistemas de uso da terra da Amazônia**. 2000. 93 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

PEREIRA, P. A. A. BLISS, F. A. Nitrogen fixation and plant growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at different level of phosphorus availability. **Plant and Soil**, The Hague, v. 104, n. 1, p. 79-84, 1987.

PEREIRA, P. A. A. Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 90, p. 41-46, 1982.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo: Ceres, 1991. 343p.
RAMOS, M. L. G. et al. Effect of water stress on nitrogen fixation and nodule structure of common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 339-347, mar. 2003.

RAMOS, M. L. G. et al. of water stress on nitrogen-fixation of two cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: TIKONOVICH, I. A.; PROVOROV, N. A.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation: fundamentals and applications**. Dordrecht: Kluwer, 1995. p. 728.

RAPOSEIRAS, R. et al. Rhizobium strains, competitiveness on bean nodulation in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n.3, p. 439-447, mar. 2006.

RAPOSEIRAS, R. et al. Variability of isolated colonies in bean nodulating *Rhizobium* strains before and after exposure to high temperature. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 149-154, abr. 2002.

RENNIE, R. J. Comparison of N balance and ¹⁵N isotope dilution to quantify N₂ fixation in field grown legumes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, p. 785-790, 1984.

RIBEIRO, A. C. et al. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999.

ROMANINI JÚNIOR, A. et al. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 74-82, Oct./Dec. 2007.

ROSOLEM, C.A. Nutrição e adubação do feijoeiro. Piracicaba: **Potafós**, 1987. 91p. (Boletim Técnico, 8).

RUFINI, M. et al. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro-comum em diferentes valores de pH. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 1, p. 81-88, Jan. 2011.

RUSCHEL, A. P.; SAITO, S. M. T. Efeito da inoculação de *Rhizobium*, nitrogênio e matéria orgânica na fixação simbiótica de nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 21-24, jan. 1977.

RUSCHEL, A. P.; SAITO, S. M. T.; TULMANN-NETO, A. Eficiência da inoculação de *Rhizobium* em *Phaseolus vulgaris* L.: I. Efeitos de fontes de nitrogênio e cultivares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 13-17, Jan. 1979.

RUSCHEL, A.P.; RUSCHEL, R. Avaliação da fixação simbiótica de nitrogênio em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 10, n.1, p. 11-17, Jan. 1975.

SAITO, S. M. T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 7, p. 999-1006, jul. 1982.

SANTOS, T. E. B. **Comunidade microbiana do solo e produtividade do feijoeiro, com e sem inoculação com rizóbio, associado a fontes e épocas de aplicação de nitrogênio**. 2009. 98p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

SAXENA, A. K.; REWARI, R. B. Differential responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Rhizobium* combinations to saline soil conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 13, n. 1, p. 31-34, 1992.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P. W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 43, n. 2, p. 374-377, Apr. 1993.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. Soybean cultivar variability for nodule formation and growth under drought. **Plant and Soil**, The Hague, v. 202, n. 1, p. 159-166, 1998.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. reimp. Viçosa, MG: UFV, 2006. 235p.

SILVA, E. F. et al. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009.

SILVA, H. A. S. S. et al. Inoculação de rizóbios em plantas de *Arachis pintoi*, cultivar Amarelo, cultivar Belmonte e acesso BRA-031534, propagados vegetativamente. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 23., 2006, Bonito. **Anais...** Bonito: Embrapa, 2006. 1 CD-ROM.

SILVA, P. M.; TSAI, S. M.; BONETTI, R. Response to inoculation and N fertilization for increased yield and biological nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, The Hague, v. 152, n. 1, p. 123-130, 1993.

SILVA, V. N.; SILVA, L. E. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Atuação de rizóbios com rizobactéria promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 3, p.10-16, jul. 2002.

SIQUEIRA, J. O. et al. **Microorganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 1994. p. 47-50 (Documentos, 45).

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG) (II): feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 803-811, set./out. 2006.

SOBERÓN-CHAVES, G. et al. Genetic rearrangements of a *Rhizobium phaseoli* symbiotic plasmid. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v. 167, n. 2, p. 487-491, Aug. 1986.

STOCCO, P. et al. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1107-1120, maio 2008.

STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Brasília: Embrapa, 2002. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicações/artigos/fbnl_inocula_feijoeiro.html>. Acesso em: 9 maio 2011.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N. G. **Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 51 p. (Documentos, 94).

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M. G.; MERCANTE, F. M. Fixação simbiótica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. **Produção de feijoeiro-comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz, Feijão, 2002. p. 122-153.

STREETER, J. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. **Plant Science**, Ottawa, v. 7, p. 1-23, 1988.

STREIT, W. et al. Competition for nodule occupancy on *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici* strains can be efficiently monitored in a ultisol during early stages of growth using a constitutive GUS gene fusion. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 8, p. 1075-1081, Aug. 1995.

THIES, J. E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. Environmental effects on competition for nodule occupancy between introduced and indigenous rhizobia and among introduced strains. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 493-500, Jun. 1992.

THIES, J. E.; SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, n. 1, p. 19-28, Jan. 1991.

TORO, N. Nodulation competitiveness in Rhizobium-legume symbiosis. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 12, n. 2, p. 157-162, 1996.

TRIPLETT, E. W.; SADOWSKI, M. J. Genetics of competition for nodulation of legumes. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 46, p. 399-428, 1992.

TSAI, S.M. et al. Host variability in nitrogen fixation on common bean (*Phaseolus vulgaris*) intercropped with maize. **Plant and Soil**, The Hague, v. 52, p. 93-102, 1993.

VALADÃO, F. C. A. et al. Inoculação das sementes e adubações nitrogenada e mólfbdica do feijoeiro-comum, em Rolim de Moura, RO. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 4, p. 741-748, 2009.

VARGAS, A. A. T.; GRAHAM, P. H. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. **Plant and Soil**, The Hague, v. 117, n. 2, p. 195-200, July 1989.

VARGAS, M. A. T. et al. Resposta do feijoeiro à inoculação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, em condições de cerrado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1993. p. 126.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrado**. Planaltina: Embrapa CPAC, 1997. 524p.

VERMA, D. P. S.; LEGOCKI, R. P.; AUGER, S. Expression of nodule-specific host genes in soybean. In: GIBSON, A. H.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Current perspectives in nitrogen fixation**. Canberra: Australian Academy of Science, 1981. p. 205-209.

VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. atual. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 115-142.
VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Coord.). **Feijão: aspectos e cultura no Estado de Minas**. Viçosa, MG: UFV, 1998. p. 19-53.

VIEIRA, N. M. B. et al. Comportamento dos genótipos de feijoeiro em relação à adubação com nitrogênio mineral e inoculação com rizóbio. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 57-61, mar. 2005.

VLASSAK, K.; VANDERLEYDEN, J.; FRANCO, A. A. Competition and persistence of *Rhizobium tropici* and *Rhizobium etli* in a tropical soil during successive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultures. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 1/2, p. 61-68, 1996.

WATKIN, E. L. J.; O'HARA, G. W.; GLENN, A. R. Physiological responses to acid stress of an acid-soil tolerant and an acid-soil sensitive strain of *Rhizobium leguminosarum* biovar trifolii. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 35, n. 4, p. 621-624, Abr. 2003.

WOLFF, A. B. et al. Competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* strains in relation to environmental stress and plant defense mechanisms. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 12, n. 3, p. 170-176, 1991.

YUEH, L. Y.; HENSLEY, D. L. Pesticide effect on acetylene reduction and nodulation by soybean and lima bean. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.118, n. 1, p. 73-76, 1993.

ZAHARAN, N. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology and Molecular Reviews**, Reading, v. 63, n. 4, p. 968-989, Dec. 1999.

CAPÍTULO 2

RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-COMUM À INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM ESTIRPES DE RIZÓBIO EM LAVRAS - MG

RESUMO

Com o objetivo de verificar se cultivares de feijoeiro-comum respondem igualmente à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio, foi conduzido um experimento de campo no inverno-primavera de 2010 em Lavras-MG. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com três repetições e esquema fatorial 6 x 3, envolvendo seis cultivares (Radiante, Ouro Vermelho, Majestoso, Bolinha, Supremo e Talismã) e três tipos de inoculação (sementes inoculadas com as estirpes CIAT 899 de *Rhizobium tropici* ou UFLA 04-173 de *Rhizobium sp.*, mais uma testemunha com sementes não inoculadas). A área total da parcela foi composta por 6 linhas de 4m de comprimento, espaçadas de 0,50m. No preparo dos inoculantes, as estirpes foram inoculadas em erlenmeyer contendo meio semi-sólido YM esterilizado; após 4 dias de crescimento, na fase log, o material foi transferido para outro erlenmeyer contendo turfa esterilizada em autoclave por 20 minutos; a mistura inoculante, na proporção 3:1 turfa:cultura, foi empregada na base de 10 g por kg de semente e a qualidade do inoculante foi monitorada por meio de contagem, sendo observado o número mínimo legal de células viáveis (em torno de 10^9 células de *Rhizobium* por grama de inoculante). Na floração (estádio R6 do ciclo do feijoeiro) foram amostradas 10 plantas para avaliação do número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea e teor e acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea. Na colheita (estádio R9), em 2 linhas da parcela foram avaliados o rendimento de grãos e seus componentes primários (número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos) e teor e acúmulo de N nos grãos. Verificou-se que as cultivares Supremo e Majestoso apresentam maior nodulação que as demais e que estas diferenças não se manifestam no crescimento e no teor e acúmulo de N nas plantas. As cultivares diferem quanto aos componentes do rendimento e rendimento de grãos, sendo que as cvs. Supremo, Majestoso, Talismã e Ouro Vermelho apresentam maior produtividade. A inoculação das sementes com rizóbio eleva o número de vagens por planta na cv. Ouro Vermelho, mas na cv. Majestoso este efeito é observado apenas quando se utiliza a estirpe CIAT 899.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio. Nodulação. *Rhizobium sp.*

ABSTRACT

Aiming to verify whether common bean cultivars equally respond to the inoculation of seeds with *Rhizobium*, a field experiment was conducted in the winter-spring crop of 2010 in Lavras-MG. The experimental had a randomized block design, with three replications and a factorial 6 x 3, involving six cultivars (Radiante, Ouro Vermelho, Majestoso, Bolinha, Supremo e Talismã), and three levels of inoculation (inoculation with strains CIAT 899 of *Rhizobium tropici* or UFLA 04-173 of *Rhizobium* sp. and a control without inoculation). Each plot had 6 rows of 4 m length, spaced by 0.50 m. In the inoculum preparation, strains were inoculated in Erlenmeyer flasks containing semi-solid sterile YM medium; after 4 days of growth in log phase, the material was transferred to another Erlenmeyer containing autoclaved peat for 20 minutes; the resulting mixture (inoculum), in the proportion of 3:1 peat: culture, was employed on the basis of 10 g per kg of seed and the inoculant quality was monitored through counting, observing the legal minimum number of viable cells (about 10^9 cells of *Rhizobium* by gram of inoculant. At flowering (R6 stage of the common bean cycle) 10 plants were sampled to evaluate the number of nodules, nodules dry mass, shoots dry weight, content and accumulation of nitrogen (N) in shoots. At harvest (R9 stage), in 2 rows of the plot, were evaluated the grain yield and its primary components (100 grains weight, number of pods per plant, number of grains per pod) and the content and N accumulation in grains. It's verified that cvs. Supremo and Majestoso have greater nodulation than the others, but these differences are not manifested in growth and content and N accumulation. Cultivars differ in the yield and its components, and the cvs. Supremo, Majestoso, Talismã and Ouro Vermelho show higher productivity. Seed inoculation increases the number of pods in cv. Ouro Vermelho, but in Majestoso this effect was only observed when using the CIAT 899.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Nitrogen fixation. Nodulation. *Rhizobium* sp.

1 INTRODUÇÃO

A inoculação de sementes de feijoeiro com estirpes capazes de fixar nitrogênio atmosférico e disponibilizar este nutriente às plantas se mostra viável na suplementação ou mesmo na substituição da adubação nitrogenada na cultura, uma vez que a fixação biológica de nitrogênio realizada pelas bactérias do gênero *Rhizobium* no feijoeiro fornece quantidades significativas deste nutriente à planta (MENDES et al., 1994; LEMOS et al., 2003; ROMANINI JÚNIOR et al., 2007). Resultados experimentais apresentaram ampla variação no potencial de fixação do feijoeiro-comum no campo, com valores variando desde 4 até 165 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Contudo, para que o potencial da simbiose rizóbio-leguminosa seja maximizado, é fundamental que se selecione os genótipos de feijoeiro mais responsivos à fixação biológica de nitrogênio, assim como estirpes de rizóbio mais eficientes na captura e disponibilização deste nutriente para a planta, e então, é necessário que se realize testes de compatibilidade entre macro e microssimbionte, já que foram observadas respostas diferenciais de cultivares de feijão dependendo da estirpe utilizada (VARGAS et al., 1993; VIEIRA et al., 2005; NOGUEIRA, 2005; SOARES et al., 2006).

Alguns trabalhos, como os de Vieira et al. (2005), não registraram comportamento diferencial de genótipos de feijoeiro-comum quando inoculados com rizóbio. Esses autores, estudando as cultivares Carioca, Pérola e Ouro Negro e mais quatro linhagens elite do Programa de Melhoramento do Feijoeiro da Universidade Federal de Lavras, submetidas à adubação PK, PK + N, PK + inoculação ou somente inoculação (estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 de *Rizobium tropici*), observaram que as cultivares e linhagens apresentaram mesmo comportamento.

Há muito se sabe da importância do genótipo da planta no mecanismo da

nodulação, além da importância da estirpe (NUTMAN, 1967). Existe expressiva variabilidade entre cultivares, assim como entre genótipos selvagens de *P. vulgaris* L. quanto ao número de nódulos, massa nodular, atividade da nitrogenase e nitrogênio acumulado (FRANCO et al., 1995), precocidade da nodulação e aumento da massa ou tamanho nodular (HERRIDGE; DANSO, 1995).

Cultivares comerciais já foram utilizadas na Colômbia como genitoras em programas de melhoramento visando maior FBN (MCFERSON, 1983), o que não ocorre no Brasil, onde poucas cultivares foram identificadas como portadoras de elevada FBN, como Rio Tibagi (HUNGRIA; NEVES, 1987) e Ouro Negro (BLISS, 1993). Esta última cultivar também é relatada como de excelente eficiência simbiótica por Straliozzo (2002), juntamente com cultivares do grupo carioca e a antiga cv. Negro Argel, de grãos pretos.

Pesquisas demonstraram que genótipos de ciclo mais longo e crescimento indeterminado apresentam melhor fixação de N quando bem nodulados e submetidos às condições ambientais adequadas (DUQUE et al., 1985). Genótipos que nodulam mais rapidamente após a germinação das sementes também fixam mais N (KIPE-NOLT; VARGAS; GILLER, 1993).

Vargas et al. (1993), ao estudarem a resposta da cultura inoculada com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* à suplementação com nitrogênio, verificaram que os aumentos de produção variaram com a cultivar utilizada.

Estas informações são relevantes e indicam que as cultivares atualmente em uso e cultivares recém-lançadas ou em fase de lançamento devem ser avaliadas quanto à FBN (VIEIRA et al., 2005).

Inicialmente a simbiose com o feijoeiro era considerada bastante restrita, sendo relatada apenas com um grupo de bactérias, *Rhizobium phaseoli* (FRED; BALDWIN; MCCOY, 1932), reclassificado posteriormente como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984). Contudo, o avanço das

metodologias de biologia molecular e a coleta de rizóbios em vários locais do mundo indicaram que esta leguminosa pode ser bastante promíscua em suas associações simbióticas e, até 1997, outras quatro espécies foram descritas: *R. tropici* (MARTINEZ-ROMERO et al., 1991), *R. etli* bv *phaseoli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTINEZ-ROMERO, 1993), *R. gallicum* bvs *gallicum* e *phaseoli* e *R. giardini* bvs *giardini* e *phaseoli* (AMARGER; MACHERET; LAGUERRE, 1997). Atualmente, outras espécies/biovars de *Rhizobium* e de outros gêneros foram isolados de nódulos de feijoeiro, tais como *R. mongolense*, *R. etli* bv *mimosae*, *R. yangligense*, *Sinorhizobium fredii*, *S. americanum*, *Azorhizobium doebereinae*, *Mesorhizobium loti* e *M. huakui* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Vários esforços continuam sendo feitos no sentido de se conhecer melhor a diversidade dos microrganismos que nodulam as raízes e fixam N no feijoeiro (CHUEIRE et al., 2003; MELLONI et al., 2006; SOARES et al., 2006; STOCCO et al., 2008).

O microsimbionte exerce grande influência na eficiência da FBN. O inoculante brasileiro, para o feijoeiro, durante muito tempo, foi produzido utilizando-se as espécies *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium etli*. Algumas destas bactérias eram obtidas no exterior e testadas por instituições de pesquisa no Brasil (STRALIOTTO, 2002). Atualmente, sabe-se que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e *R. etli* estão sujeitas a elevado grau de instabilidade genética (FLORES et al., 1988; SOBERÓN-CHAVES et al., 1986), podendo perder sua eficiência simbiótica com certa facilidade.

Atualmente, as estirpes recomendadas como inoculantes comerciais de feijoeiro no Brasil contém duas estirpes de *R. tropici*: CIAT 899 (= BR 322 = SEMIA 4077) e PRF 81 (=BR 520 = SEMIA 4080). Foi observado que estirpes da espécie *R. tropici* são mais resistentes a temperaturas elevadas que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (ARAÚJO; STRALIOTTO; FRANCO, 1993;

GOULART; BALDANI, 1993; OLIVEIRA et al., 1998; RAPOSEIRAS et al., 1998). Verificou-se maior competitividade de estirpes desta espécie na nodulação do feijoeiro sob condições elevadas de acidez (VARGAS; GRAHAM, 1989; WOLFF et al., 1991).

Em experimentos em vasos, a estirpe CIAT 899 mostrou-se mais competitiva em condições de baixo pH (STREIT et al., 1995) e altas temperaturas (OLIVEIRA; GRAHAM, 1990). Em campo, os resultados são variáveis, tendo apresentado baixa competitividade em solos do Havaí (THIES; BOHLOOL; SINGLETON, 1992) e em solos ácidos da Colômbia (WOLFF et al., 1991), e alta competitividade em solo de baixa fertilidade no Brasil (VLASSAK; VANDERLEYDEN; FRANCO, 1996; VLASSAK et al., 1996).

A estirpe PRF 81 foi isolada de solo do Paraná (HUNGRIA et al., 2000) e caracterizada como pertencente à espécie *Rhizobium tropici* (CHUEIRE et al., 2003).

Na Universidade Federal de Lavras, estirpes de rizóbio obtidas de diferentes sistemas de uso de terra (SUT), no estado de Rondônia, demonstraram alta eficiência em vasos de Leonard (PEREIRA, 2000) e, posteriormente, experimentos de campo comprovaram alta eficiência agrônômica de algumas destas estirpes em solos da região de Formiga (NOGUEIRA, 2005), Perdões (SOARES et al., 2006) e Lavras (FERREIRA et al., 2009) no estado de Minas Gerais.

Na região de Formiga, com a cv. Pérola, NOGUEIRA (2005) testou as estirpes BR 322 (CIAT 899) de *R. tropici*, UFLA 02-100 de *R. etli*, UFLA 02-86 de *R. etli* bv. *phaseoli* e UFLA 02-127 de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, mais duas testemunhas (sem N mineral e sem inoculação e outra com 80 kg ha⁻¹ de N). Observou que a inoculação com as estirpes UFLA 02-100 e UFLA 02-127 contribuiu de forma significativa para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro, com economia do fertilizante nitrogenado.

Em Perdões, Soares et al. (2006) estudaram o comportamento das mesmas estirpes mais a estirpe UFLA 02-68 de *R. etli* bv. *mimosae*, além das testemunhas absoluta e nitrogenada (70 kg ha⁻¹ de N). Concluíram que a inoculação com as estirpes UFLA 02-86, UFLA 02-100 e UFLA 02 127 contribuiu significativamente para o aumento do rendimento e para o acúmulo de N nos grãos da cv. Talismã, mas não diferiram da estirpe CIAT 899.

Em Lavras, Ferreira et al. (2009), testando no campo as estirpes BR 322 (CIAT 899), UFLA 02-100, UFLA 02-86, UFLA 02-127 e UFLA 02-68 inoculadas em sementes da cv. Talismã, verificaram que a estirpe UFLA 02-68 superou as demais, inclusive a CIAT 899, e promoveu rendimento de grãos semelhante ao da testemunha com 80 kg ha⁻¹ de N. Na mesma localidade, em casa de vegetação, em vasos de Leonard, Ferreira (2008) verificou que a estirpe UFLA 02-127, assim como a estirpe CIAT 899 e mais outras cinco estirpes superaram a testemunha nitrogenada em relação ao teor de N na parte aérea, que situou-se acima da faixa de suficiência indicada por Ambrosano et al. (1997) para o feijoeiro-comum.

Objetivou-se com o trabalho verificar, em solo típico da região sul de Minas Gerais, se cultivares de feijoeiro-comum respondem igualmente à inoculação das sementes com rizóbio, investigar o comportamento de novas cultivares de feijoeiro quando submetidas à inoculação e detectar se existe diferença na nodulação e eficiência entre estirpes de rizóbio inoculadas no feijoeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento foi conduzido a campo na safra do inverno-primavera de 2010 em Lavras, Sul de Minas Gerais, onde esta semeadura é realizada no fim de julho ou início de agosto por produtores que dispõem de irrigação (TEIXEIRA, 2004). Esta safra facilita o manejo fitossanitário devido à menor incidência de pragas, doenças e plantas daninhas, mas tem o inconveniente de ser colhida em outubro ou novembro, período em que as chuvas são mais constantes na região e podem prejudicar a colheita (ANDRADE; CARVALHO; VIEIRA, 2006).

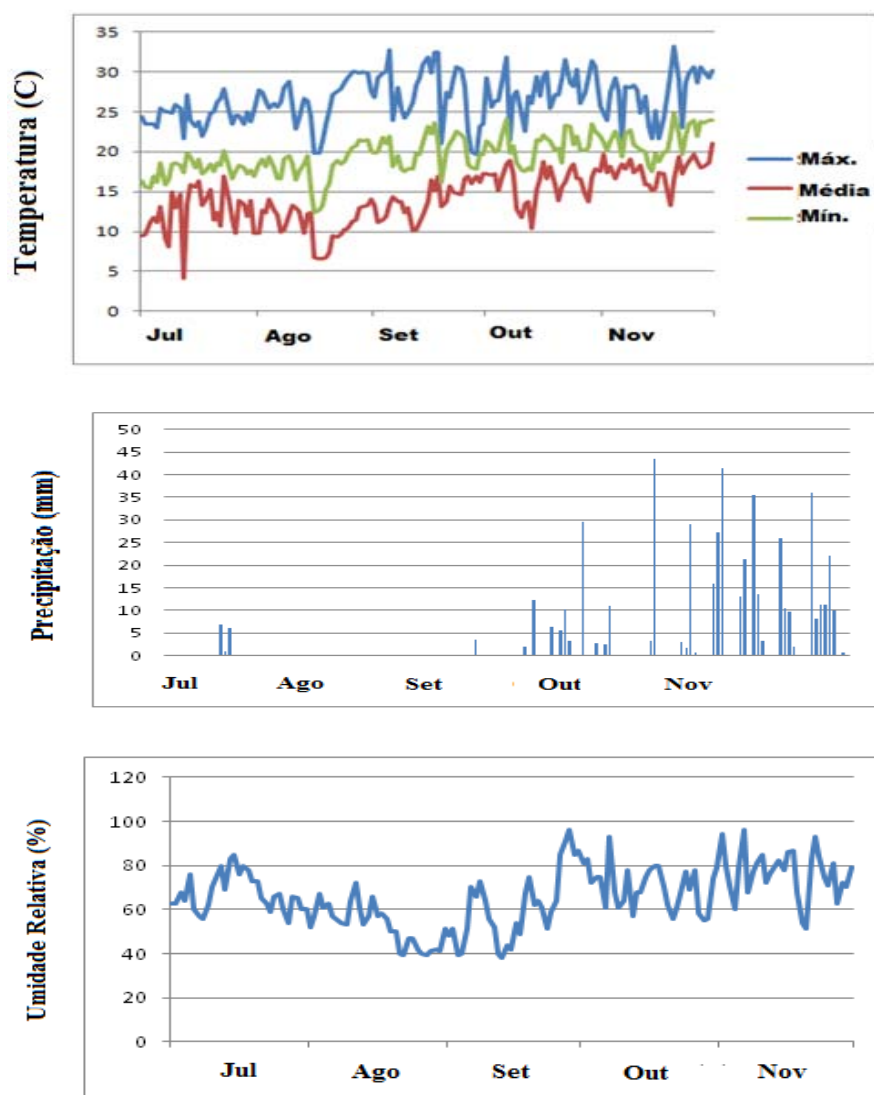
O experimento foi implantado em sistema convencional em área cedida pelo Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em um Latossolo Vermelho distroférico típico de textura argilosa (EMBRAPA, 1999), cuja análise química de amostra retirada na camada de 0 a 20 cm forneceu os resultados apresentados na Tabela 1. Por vários anos consecutivos a área vinha recebendo rotação com milho e feijão não inoculado.

Lavras situa-se a 21°14' de latitude S, 45°00' de longitude W e 920 m de altitude. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, temperado úmido, com inverno seco e verão quente e chuvoso (VIANELLO; ALVES, 1991). As ocorrências diárias de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial foram registradas durante o período de condução do experimento pela Estação Climatológica Principal de Lavras, situada no campus da UFLA e são apresentadas na Figura 1.

Tabela 1 Resultados da análise química de amostra de um Latossolo Vermelho distroférico típico de textura argilosa pertencente ao local de instalação do experimento. Departamento de Agricultura – DAG, UFLA. Lavras-MG, 2010

| Característica* | Valores |
|--|---------|
| pH (H ₂ O) | 5,4 |
| P disp (mg dm ⁻³) | 1,2 |
| K (mg dm ⁻³) | 62 |
| Ca (cmol _c dm ⁻³) | 1,2 |
| Mg (cmol _c dm ⁻³) | 0,4 |
| Al (cmol _c dm ⁻³) | 0,5 |
| H+Al (cmol _c dm ⁻³) | 4,0 |
| SB (cmol _c dm ⁻³) | 1,8 |
| MO (dag.kg ⁻¹) | 2,6 |
| V (%) | 30,6 |

*Análises realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA e interpretação de acordo com Ribeiro et al. (1999)



Figural Variações diárias de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial no período de julho a novembro de 2010 (dados fornecidos pela Estação Climatológica Principal de Lavras - MG, situada no “campus” da UFLA, em convênio com o Instituto Nacional de Meteorologia – INMET)

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com três repetições, sendo os tratamentos dispostos no esquema fatorial 6 x 3, envolvendo seis níveis do fator cultivar e três níveis do fator inoculação: sementes inoculadas com as estirpes CIAT 899 (ou BR 322) de *Rhizobium tropici* e UFLA 04-173 de *Rhizobium sp.*, e ausência de inoculação. Cada unidade experimental (parcela) foi composta por 6 linhas de 4 m de comprimento e espaçamento de 0,5 metros entre linhas, totalizando 12 m². A densidade de semeadura foi de 17 sementes por metro, na profundidade de 3 a 4 cm. A semeadura foi efetuada imediatamente após a inoculação. As linhas 1 e 6 foram consideradas bordaduras, as linhas 2 e 3 utilizadas para as amostragens na floração e as linhas 4 e 5 utilizadas para a colheita e respectivas avaliações.

As cultivares empregadas pertencem a diferentes grupos comerciais e algumas de suas características são apresentadas na Tabela 2. A cv. Radiante, com grãos rajados, tem grande chance de aceitação no mercado internacional, e no Brasil, tem bom valor comercial agregado em Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e no Sul de Minas Gerais. A cultivar Ouro Vermelho, devido o seu grande potencial produtivo e excelente qualidade comercial, constitui uma nova opção para os produtores de feijão vermelho do Estado de Minas Gerais (CARNEIRO et al., 2005). As cvs. Majestoso e Talismã são recomendações oficiais de feijão carioca para esta unidade da Federação (CULTIVAR, 2002). A cv. Bolinha é de uso comum em Minas Gerais, onde alcança boa cotação de preços. A cv. Supremo, de grãos pretos, foi indicada em 2004 para as safras das águas e outono/inverno em Goiás e Distrito Federal e para as safras das águas e seca no Paraná e Santa Catarina.

Tabela 2 Principais características das cultivares utilizadas no experimento em Lavras, MG*

| Cultivar | Grupo Comercial | Cor do Grão | Hábito de Crescimento | Massa de 100 grãos (g) | Ciclo (dias) |
|------------------------|------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| BRS Radiante | Outros | rajado | Tipo I | 44-45 | 80 |
| Ouro Vermelho | Outros | vermelho | Tipo II | 25 | 80-90 |
| BRSMG Majestoso | Carioca | carioca | Tipo III | 30 | 80-90 |
| Bolinha | Outros | amarelo | Tipo II | 22-27 | 85 |
| BRS Supremo | Preto | preto | Tipo II | 24,6 | 90 |
| BRSMG Talismã | Carioca | carioca | Tipo III | 26-27 | 90 |

* Faria et al. (2002), Lanna, Silva e Barrigossi (2005), Ramalho e Abreu (2006), Abreu et al. (2007), Paula Júnior et al. (2008)

A estirpe CIAT 899 (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991) é uma das estirpes aprovadas pelo MAPA para a fabricação de inoculantes comerciais de sementes de feijão. A estirpe UFLA 04-173, inicialmente atribuída à espécie *Mesorhizobium loti* (FERREIRA, 2008), foi posteriormente caracterizada como *Rhizobium sp.* (FERREIRA et al., 2011). Os inoculantes foram preparados no Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. As estirpes foram inoculadas em um erlenmeyer contendo meio semissólido YM (VINCENT, 1970) esterilizado. Após 4 dias de crescimento, na fase log, o material foi transferido para outro erlenmeyer contendo turfa esterilizada em autoclave por 20 minutos. A mistura resultante (inoculante), na proporção 3:1 turfa:cultura, foi empregada na base de 10 g por kg de semente. A qualidade do inoculante foi monitorada por meio de contagem, sendo que o número mínimo legal de células viáveis (em torno de 10^9 células de *Rhizobium* por grama de inoculante na semeadura) foi observado (BRASIL, 2010).

Todas as parcelas receberam idêntica adubação nitrogenada, fosfatada e potássica na semeadura, na base de 20 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 20 kg ha⁻¹ de K₂O, utilizando-se como fontes a ureia, o superfosfato triplo e o cloreto de potássio, respectivamente. Não foi realizada a adubação nitrogenada em cobertura.

Os tratos culturais foram os normalmente dispensados à cultura na região. As plantas daninhas foram controladas por meio de capinas manuais sempre que necessário. Houve ataque do coleóptero *Lagria villosa*, efetuando-se o controle com Deltametrina, um inseticida do grupo dos piretróides, aos 64 DAE (dias após emergência), na dose de 450 mL do ingrediente ativo em 222 L ha⁻¹ de calda. Também foi aplicada isca formicida para o controle de formigas cortadeiras aos 7 DAE. Não houve necessidade de outros tratamentos fitossanitários. O ensaio recebeu irrigação complementar por aspersão convencional.

Por ocasião da plena floração, no estágio R6 do ciclo do feijoeiro (50% das plantas com pelo menos 1 flor aberta) (FERNANDEZ; GEPTS; LÓPEZ, 1985), que ocorreu aos 50 DAE, foi retirada em cada parcela, com o auxílio de enxada e tesoura de poda para separar o sistema radicular da parte aérea da planta, uma amostra de 10 plantas (linhas 2 e 3), para determinação do número e massa seca de nódulos, bem como da massa seca da parte aérea e teor e acúmulo de N na parte aérea. As amostras de parte aérea foram acondicionadas em sacos de papel, após a coleta no campo e, depois de devidamente identificadas, foram colocadas para secar em casa de vegetação e, posteriormente, em estufa com circulação de ar à temperatura de 60-70 °C, até peso constante. Já as amostras do sistema radicular foram acondicionadas em sacos plásticos, também devidamente identificados, e armazenadas em câmara fria à temperatura de 6 °C. Momentos antes da contagem de nódulos, as raízes foram devidamente lavadas em água corrente para se retirar o excesso de solo, sobre uma peneira, para se

evitar qualquer perda de nódulos acidentalmente destacados pelo fluxo de água. Imediatamente após a contagem dos nódulos, estes foram armazenados em pequenos frascos e colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 60-70 °C. Após a secagem dos nódulos, estes foram submetidos à pesagem em balança de precisão, sendo que, para cada amostra, foi determinada sua respectiva massa seca de nódulos.

Devido à diferença de duração dos ciclos das cultivares estudadas, as colheitas (estádio R9) foram feitas aos 76, 81, 85 e 95 DAE, respeitando o ponto de maturação de cada cultivar. Foram determinados (linhas 4 e 5) o estande final (plantas por hectare), o rendimento de grãos (kg ha^{-1}) e seus componentes primários (número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos, em gramas), além do teor e acúmulo de N nos grãos. O estande final foi obtido por contagem de todas as plantas presentes nas linhas 4 e 5. Os componentes do rendimento foram determinados em amostra de 10 plantas, enquanto o rendimento de grãos foi obtido a partir da massa total de grãos produzidos na parcela útil (linhas 4 e 5), incluindo a citada amostra de 10 plantas. O teor de umidade inicial nos grãos foi determinado em Medidor de Umidade Gehaka G600, no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA, corrigindo-se o rendimento em função da umidade do grão para 13%. O teor (%) de N, tanto na parte aérea como nos grãos, foi determinado no Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, pelo método semi-microkjedhal (nitrogênio total), de acordo com Sarruge e Haag (1979). Para tanto, amostras de parte aérea e de grãos foram submetidas à moagem (Triturador Oster, da Gehaka, velocidade de 24.000 rpm), no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA. O N acumulado ($\text{mg}/10$ plantas), tanto nos grãos como na parte aérea, foi calculado multiplicando-se a massa seca pela percentagem de N, e dividindo-se por 100.

Todos os dados foram submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade de variâncias, utilizando-se o software R (R Development Core Team, 2008), e sempre que necessário, os dados foram transformados em $(x)^{0,5}$, exceto número e matéria seca de nódulos, transformados em $(x+0,5)^{0,5}$ e teor de nitrogênio em folhas e grãos, transformados em $\arcseno(x/100)^{0,5}$. Após estes procedimentos, os dados foram submetidos à análise de variância (PIMENTEL-GOMES, 2009), utilizando-se o software de análise estatística Sisvar[®] (FERREIRA, 2000). Nos casos de efeito significativo de tratamentos, a comparação das médias foi feita pelo teste de Scott e Knott (1974), no nível de 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características avaliadas por ocasião da floração

A análise de variância (Tabela 3) revelou que houve influência das cultivares sobre o número de nódulos e a massa seca de nódulos, evidenciando a importância da característica intrínseca do macrossimbionte na nodulação de estirpes. Não houve efeito significativo dos tratamentos de inoculação e nem da interação entre os dois fatores.

Tabela 3 Resumo da análise de variância (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos a: número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). Lavras/MG, 2010

| Fonte de Variação | GL ₁ | Pr > Fc | | | | |
|---------------------------|-----------------|---------|---------|--------|--------|--------|
| | | NN | MSN | MSPA | TNPA | ANPA |
| Bloco | 2 | 0,1893 | 0,1544 | 0,1141 | 0,6244 | 0,2954 |
| Cultivar (C) | 5 | 0,0284* | 0,0208* | 0,1341 | 0,2726 | 0,2229 |
| Inoculação (I) | 2 | 0,6906 | 0,7636 | 0,3868 | 0,7747 | 0,8958 |
| C*I | 10 | 0,3089 | 0,9444 | 0,5335 | 0,5281 | 0,2845 |
| Erro | 34 | - | - | - | - | - |
| CV (%)₂ | - | 36,15 | 13,41 | 16,31 | 29,11 | 31,49 |

* Significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

1. Número de graus de liberdade.

2. Coeficiente de variação.

As cultivares Supremo, Ouro Vermelho e Majestoso mostraram-se boas noduladoras, pois apresentaram valores mais altos para número de nódulos e para massa seca de nódulos, exceto a cultivar Ouro Vermelho que, para esta última característica, permaneceu no grupo que obteve resultados inferiores,

provavelmente pelo tamanho reduzido dos nódulos formados (Tabela 4). Grande número de nódulos formados é um indicativo de boa eficiência simbiótica, porém, há de se considerar que esta variável não pode ser analisada isoladamente, pois muitas vezes, há a formação de muitos nódulos de tamanho reduzido, o que resulta em diminuir a eficiência da FBN (DÖBEREINER, 1966).

Tabela 4 Valores médios do número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Lavras/MG, 2010

| Cultivares | NN | MSN | MSPA | TNPA | ANPA |
|----------------------|----------------|----------------|---------------|------|----------------|
| | (n°/10plantas) | (mg/10plantas) | (g/10plantas) | (%) | (mg/10plantas) |
| Talismã | 160 b | 170 b | 23,45 | 2,03 | 480 |
| Supremo | 286 a | 410 a | 25,65 | 1,55 | 370 |
| Radiante | 115 b | 110 b | 25,99 | 1,34 | 390 |
| Bolinha | 163 b | 120 b | 27,29 | 2,17 | 600 |
| Ouro Vermelho | 263 a | 200 b | 31,81 | 1,82 | 560 |
| Majestoso | 309 a | 340 a | 33,88 | 1,73 | 570 |
| Inoculação | | | | | |
| Ausente | 216 | 240 | 27,75 | 1,77 | 500 |
| CIAT 899 | 236 | 200 | 30,79 | 1,72 | 520 |
| UFLA 04-173 | 196 | 240 | 25,90 | 1,84 | 460 |
| Média | 216 | 230 | 28,01 | 1,77 | 490 |

Dentro de cada fator, médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

Analisando a formação de nódulos em cultivares de feijão, Araújo, Munhoz e Hungria (1996) relataram que a cultivar Carioca Precoce obteve desempenho simbiótico superior às cultivares EMGOPA-201, Carioca-80, ESAL-580, IPA-7, IAPAR-20 e Rio Tibagi. Lemos et al. (2003), também

utilizando a cultivar Carioca, encontrou resultados de eficiência da fixação biológica de nitrogênio superiores às cvs. IAC Carioca Pyatã, IAC Carioca Aruã, IAC Carioca, IAPAR 14, IAC Maravilha, IAC Una, Rio Tibagi, IAPAR 65, Ônix, e linhagens – AN 512672 (CNPAF) e México 309. Comportamento diferencial de cultivares quanto à nodulação também tem sido observado por outros autores. O tratamento não inoculado apresentou número de nódulos semelhante aos tratamentos inoculados (Tabela 4). Este resultado indica a presença de grande população de rizóbios nativos no solo, os quais podem ter limitado o estabelecimento e a eficiência das estirpes inoculadas (SILVA et al., 2009; KANEKO et al., 2010).

A inoculação também não influenciou os resultados de massa seca de nódulos obtidos, o que também certamente está associado à nodulação expressiva dos rizóbios nativos. Binotti (2009), Ferreira et al. (2009), Pelegrin et al. (2009) e Souza (2010) também não observaram efeito significativo da inoculação com rizóbio sobre a massa seca de nódulos.

A literatura revela alguns resultados de maior nodulação na presença da inoculação em relação à sua ausência, como foi relatado por Venturini et al. (2003), em plantas de feijão, variedade TPS Nobre, e Santos (2009), com a cultivar Pérola. No presente estudo, as parcelas que não receberam inoculação apresentaram valores equivalentes as das inoculadas. O número de nódulos advindos da ausência de inoculação indica que o solo possui uma comunidade rizobiana nativa altamente adaptável às condições de nodulação das raízes do feijoeiro. Fullin et al. (1999) e Vieira et al. (2005) relataram igualmente a existência de rizóbios nativos em solos, nodulando feijoeiros.

Da mesma forma que no presente trabalho, Ferreira et al. (2009) não observaram efeito significativo da inoculação de rizóbios na nodulação da cultivar Talismã. Binotti (2009), estudando o feijoeiro de inverno, em sucessão a milho + *Brachiaria*, em plantio direto, não encontrou efeito significativo da

inoculação com *R. tropici* nas sementes sobre o número de nódulos entre as plantas de feijão. Romanini Júnior et al. (2007) e Kaneko et al. (2010) observaram, da mesma forma, a presença de nódulos no feijoeiro comum cultivados em SPD, em sucessão ao milho e, não constataram significância do número de nódulos entre inoculação com rizóbio e sua ausência.

Os resultados de matéria seca da parte aérea não diferiram significativamente em função dos fatores analisados (Tabela 4), mesmo havendo uma variação de 23,45 g.10 plantas⁻¹ na cv. Talismã e até 33,88 g.10 plantas⁻¹ na cv. Majestoso. O mesmo ocorreu com os tipos de inoculação, os quais apresentaram valores de matéria seca de parte aérea semelhantes, sendo que a inoculação com a estirpe CIAT 899 apresentou valores um pouco maiores, concordando com os resultados de Santos (2009). Estes resultados novamente evidenciam a eficiência das bactérias nativas do solo, as quais disponibilizaram N para o feijoeiro de uma forma tão eficaz quanto as estirpes inoculadas. O N tem grande relevância na produção de matéria seca da parte aérea, por se tratar de um componente da clorofila e, portanto, influencia o processo fotossintético, propiciando o crescimento vegetativo do feijoeiro (SILVEIRA; DAMASCENO, 1993). Ferreira et al. (2000), Ferreira et al. (2009) e Kaneko et al. (2010) também verificaram presença de estirpes nativas no solo, onde seus ensaios foram alocados e, da mesma forma, não verificaram diferenças significativas no acúmulo de matéria seca com a inoculação de *R. tropici*. Não houve influência dos fatores cultivar e inoculação, e nem da interação entre estes fatores, sobre o teor foliar de N (Tabela 4). Isso significa que todas as cultivares tiveram o mesmo comportamento, apresentando teores foliares de N equivalentes. Do mesmo modo, o tratamento não inoculado promoveu teores foliares de N equivalentes aos dos tratamentos inoculados, devido à atividade das bactérias nativas. Vários autores na literatura, da mesma forma, não verificaram interferência da inoculação nos teores de N nas folhas do feijoeiro (BASSAN et

al., 2001; LEMOS et al., 2003; ROMANINI JÚNIOR et al., 2007; SILVA et al., 2009 e KANEKO et al., 2010). Araújo et al. (2007), entretanto, observaram maior concentração de N nas folhas do feijoeiro no tratamento inoculado, em relação à testemunha sem inoculação e adubação mineral e ao tratamento não inoculado adubado em cobertura com 45 kg ha⁻¹ de N. Arf et al. (2004) afirmaram que a resposta dessa variável é relacionada à diversos fatores como teor de N disponível no solo (proveniente da mineralização da matéria orgânica), temperatura, fixação simbiótica de N e cultivar utilizada, entre outros.

Deve-se salientar que em todos os tratamentos os teores de N foliar não se encontraram dentro da faixa considerada adequada no período do florescimento do feijoeiro, 30-50 g kg⁻¹ e 3%, por Ambrosano et al. (1996) e Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), respectivamente. Esses níveis de suficiência de N na parte aérea do feijoeiro são observados em solos com maior grau de fertilidade ou com populações de rizóbios nativos abundantes e de alta eficiência simbiótica (ALMEIDA et al., 2000; SORATTO; CARVALHO; ARF, 2006; FARINELLI et al., 2006). No presente trabalho, todos os tratamentos receberam apenas a aplicação de 20 kg ha⁻¹ de N na semeadura e, possivelmente, a fixação simbiótica, embora tenha ocorrido, não foi suficiente para resultar em teores foliares adequados de N. Tal fato invoca a questão da necessidade de se proceder à aplicação de N em cobertura, principalmente em solos menos férteis e com baixo teor de matéria orgânica. Em Minas Gerais recomendam-se, além da adubação de semeadura (20-40 kg ha⁻¹ de N), 20 a 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura no estágio V4 do ciclo cultural (RIBEIRO et al., 1999). Neste período, é importante que se tenha grande disponibilidade de N no solo devido à alta demanda deste nutriente pela planta, pois, em poucos dias, haverá a formação de flores, e então, ocorrerá o enchimento dos grãos. Portanto, se faz necessário que se aplique o N em local e época adequados (CARVALHO et al., 2001). Já para Hungria, Vargas e Araújo (1997) e Novo, Tanaka e Mascarenhas (1999), apenas

a nodulação das raízes já é o suficiente para atender as necessidades das plantas, devendo-se evitar a adubação nitrogenada, pois a mesma inibe a formação dos nódulos, afetando negativamente a FBN, a produção de biomassa e o rendimento de grãos. De acordo com Franco (1995), a inoculação é recomendada como única fonte de N apenas para aquelas cultivares que apresentam boa nodulação e para produtividades de no máximo 1.500 kg ha⁻¹.

A inoculação de sementes não influenciou na quantidade de N acumulado na parte aérea (Tabela 4). Araújo et al. (2007) citam que a evidência dos nódulos nas plantas é um indicativo de bom desempenho da simbiose entre o macro e o microssimbionte. No seu estudo, foi possível observar maior quantidade de N acumulada e maior número de nódulos nos tratamentos que receberam a inoculação das sementes de feijão, do que nos tratamentos que não receberam o inoculante, sugerindo a ausência ou ineficiência de estirpes nativas no solo. No presente trabalho, no qual não se observaram tais resultados, a competição das estirpes nativas do solo provavelmente limitou a eficiência das estirpes CIAT 899 e UFLA 04-173 inoculadas (Tabela 4). Ferreira et al. (2009) também não observaram efeitos significativos da inoculação das sementes com rizóbios no acúmulo de N na parte aérea do feijoeiro comum.

3.2 Características avaliadas por ocasião da colheita

A análise de variância evidencia que as cultivares influenciaram significativamente o número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 grãos, acúmulo de nitrogênio nos grãos e rendimento de grãos. Houve também efeito significativo do fator inoculação sobre as características estande final e número de vagens por planta. A interação cultivares*inoculação foi significativa apenas em relação ao número de vagens por planta (Tabela 5).

Tabela 5 Resumo da análise de variância (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos a estande final (EST), número de vagens por planta (VAG), número de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor de N nos grãos (TNG) e acúmulo de N nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN). Lavras/MG, 2010

| Fonte de Variação | GL ₁ | Pr > Fc | | | | | | |
|---------------------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|--------|----------|----------|
| | | EST | VAG | GRA | P100 | TNG | ANG | REN |
| Bloco | 2 | 0,0009** | 0,9779 | 0,1353 | 0,1679 | 0,7726 | 0,1334 | 0,0543 |
| Cultivar (C) | 5 | 0,1332 | 0,0138* | 0,0000** | 0,0000** | 0,3328 | 0,0082** | 0,0033** |
| Inoculação (I) | 2 | 0,0071** | 0,0057** | 0,4266 | 0,2895 | 0,9222 | 0,8711 | 0,9439 |
| C*I | 10 | 0,2997 | 0,0602* | 0,2376 | 0,4245 | 0,3136 | 0,4615 | 0,2491 |
| Erro | 34 | - | - | - | - | - | - | - |
| CV (%)₂ | - | 9,24 | 16,47 | 9,35 | 3,33 | 20,88 | 29,06 | 20,47 |

** Significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

* Significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F;

1. Número de graus de liberdade.

2. Coeficiente de variação.

O estande final de plantas foi influenciado apenas pela fonte de variação inoculação (Tabela 5). De acordo com Kaneko et al. (2010), o estabelecimento da população de plantas é estritamente dependente das reservas da semente, da barreira formada pela camada de solo que as cobre, da umidade do solo e da ausência de ataque de patógenos e pragas de solo nas primeiras fases de estabelecimento da cultura.

Mesmo apresentando diferença significativa, verifica-se que os valores médios do estande final situam-se na faixa recomendada de população ideal do feijoeiro, de acordo com Dourado Neto e Fancelli (2000). A maior população final de plantas foi verificada no tratamento controle (Tabela 6), o único que não recebeu inoculante, e esta diferença está atribuída ao processo de se utilizarem medidas plásticas com volumes idênticos para a obtenção do número desejado

de sementes na semeadura. Com este procedimento, a densidade efetiva das sementes inoculadas, que possuíam maior volume pela aderência do inoculante ao seu tegumento, foi menor (Tabela 6).

Tabela 6 Valores médios referentes a características relacionadas à colheita de grãos de feijão-comum - estande final de plantas (EST), número grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. DAG-UFLA, Lavras/MG. 2010

| Cultivares | EST | GRA | P100 | TNG | ANG | REN |
|----------------------|-----------------------------|-------------------|---------|------|------------|------------------------|
| | (mil pl. ha ⁻¹) | (n°) | (g) | (%) | (mg/10pl.) | (kg ha ⁻¹) |
| Talismã | 257 | 4,29 b | 21,65 d | 3,06 | 11,13 a | 954 a |
| Supremo | 253 | 5,24 a | 19,85 e | 2,63 | 11,04 a | 979 a |
| Radiante | 276 | 2,45 d | 33,70 a | 2,18 | 6,13 b | 728 b |
| Bolinha | 246 | 3,38 c | 26,88 b | 2,34 | 5,66 b | 590 b |
| Ouro Vermelho | 233 | 5,25 a | 23,17 d | 2,77 | 14,58 a | 1351a |
| Majestoso | 219 | 4,90 ^a | 24,88 c | 2,79 | 12,36 a | 1071a |
| Inoculação | | | | | | |
| Ausente | 274 a | 4,05 | 24,77 | 2,57 | 10,00 | 941 |
| CIAT 899 | 240 b | 4,36 | 24,74 | 2,61 | 10,00 | 961 |
| UFLA 04-173 | 227 b | 4,35 | 25,55 | 2,70 | 10,46 | 952 |
| Médias | 247 | 4,83 | 25,02 | 2,62 | 10,15 | 952 |

Dentro de cada fator, médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade.

Ao se desdobrar a interação cultivares*inoculação para o número de vagens por planta (Tabela 7), percebe-se que as cvs. Talismã, Supremo, Radiante e Bolinha tiveram o mesmo comportamento com ou sem inoculação. A ausência de inoculação, portanto, não reduziu o número de vagens por planta dessas cultivares, o que indica que, para elas, as bactérias nativas do solo foram eficientes na determinação dessa característica. A cultivar Ouro Vermelho, no

entanto, produziu entre 66 e 91% mais vagens quando inoculada, não havendo diferença significativa entre os inoculantes testados. Para a cv. Majestoso, o maior número de vagens por planta foi proporcionado pela estirpe comercial CIAT 899, a qual apresenta grande promiscuidade de nodulação, ou seja, além de possuir a capacidade de nodular feijão, é capaz de formar nódulos também em outras leguminosas (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991).

Tabela 7 Números médios de vagens por planta, em função de cultivares e inoculação. Lavras/MG, 2010

| Cultivares | Inoculação | | |
|----------------------|------------|---------------------|-------------|
| | Ausente | CIAT 899 (unid.) | UFLA 04-173 |
| Talismã | 3,20Aa | 4,27Ba | 6,00Aa |
| Supremo | 5,93Aa | 3,60Ba | 5,73Aa |
| Radiante | 4,60Aa | 4,00Ba | 4,97Aa |
| Bolinha | 2,33Aa | 3,05Ba | 4,87Aa |
| Ouro Vermelho | 4,20Ab | 8,03Aa | 6,97Aa |
| Majestoso | 3,20Ab | 7,03Aa | 4,90Ab |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade.

No tratamento controle, não houve diferença significativa para o número de vagens por planta entre as cultivares (Tabela 7) e fato semelhante ocorreu quando se utilizou a estirpe UFLA 04-173, ainda que com maior número de vagens por planta que a anterior. Para a cv. Ouro Vermelho, a estirpe CIAT 899 não diferenciou da UFLA 04-173, ambas sendo superiores ao tratamento controle. Já para a cv. Majestoso, a inoculação com CIAT 899 promoveu maior número de vagens por planta que o controle e a inoculação com UFLA 04-173. Este comportamento é o responsável pela interação significativa, já que na ausência de inoculação e com o uso da estirpe UFLA 04-173 não houve

diferenças significativas entre as cultivares; no caso de uso da estirpe CIAT 899, as cultivares Ouro Vermelho e Majestoso apresentaram maior número de vagens por planta do que as demais. Ferreira et al. (2000), no que se refere ao número de vagens por planta, não detectaram efeitos significativos da inoculação, sendo que maiores valores foram observados no tratamento não inoculado e adubado com N (semeadura + cobertura). Os resultados obtidos no presente estudo confirmam que as características intrínsecas da planta hospedeira e da bactéria fixadora de nitrogênio são de grande relevância para o sucesso da inoculação (MORAES et al., 2003). Dessa forma, bactérias nativas geneticamente estáveis, adaptadas ao solo e aos genótipos de feijoeiro, apresentam variações e influenciam nos resultados de simbiose de diferentes cultivares (CARVALHO; STAMFORD, 1999; FERNANDES; FERNANDES, 2000).

O número de grãos por vagem somente foi influenciado pelas cultivares em estudo (Tabelas 5 e 6). De acordo com Ferreira et al. (2000), esta é uma característica de alta herdabilidade genética e, portanto, intimamente relacionada com a cultivar utilizada. BINOTTI (2009) não verificou diferenças significativas para o número de grãos por vagem, quando se inoculou o *R. tropici* nas sementes de feijoeiro da cultivar Pérola. No presente estudo, as cvs. Supremo, Majestoso e Ouro Vermelho permaneceram no grupo que obteve maiores valores para esta característica. Os piores resultados foram atribuídos às cultivares de grãos maiores, no caso, as cvs. Bolinha e Radiante, com 3,38 e 2,45 grãos por vagem em média, respectivamente; ambas apresentaram maiores valores de massa de 100 grãos, porém foram inferiores nos resultados de rendimento de grãos, provavelmente pela baixa contribuição de número de grãos por vagem. Apesar de o número de grãos por vagem ser uma característica de alta herdabilidade genética, algumas pesquisas revelam que uma nutrição adequada em N aumenta o número de óvulos fertilizados por vagem. Assim, a escolha de uma estirpe mais eficiente na fixação e disponibilização de N para a planta pode

proporcionar acréscimos em produtividade através do aumento do número de grãos por vagem.

A massa de 100 grãos também se mostrou influenciada apenas pelas cultivares, sendo que o fator inoculação não foi capaz de promover diferenças significativas. Ferreira et al. (2000) e Kaneko et al. (2010) também não verificaram diferença significativa na massa de 100 grãos das cultivares IAC Carioca, Eté e Pérola, respectivamente, com a inoculação de sementes. Essa é uma das características que apresenta variação em relação às alterações no meio de cultivo. Assim, por exemplo, em condições adversas com baixa disponibilidade de N, o feijoeiro terá preferência em formar poucos grãos nas vagens ao invés de vários grãos mal formados (SORATTO et al., 2005). Arf et al. (2008), entretanto, citam que a massa dos grãos está mais intimamente relacionado com os caracteres genéticos da cultivar utilizada. No presente trabalho, os menores valores foram apresentados pela cv. Supremo e os maiores, pela cultivar Radiante (Tabela 6). Assim como a cv. Supremo, a representante do grupo carioca – Majestoso e a cv. Ouro Vermelho, também com inferior P100, apresentaram maiores rendimentos. As cvs. Radiante e Bolinha, ainda que tenham apresentado os maiores valores da massa de cem grãos, foram as que mais sofreram redução no número de grãos por vagem e de vagens por planta, com rendimentos proporcionais (Tabela 6). Tal fato ilustra bem a capacidade de compensação existente entre os componentes do rendimento do feijoeiro, registrada por vários autores, em muitas situações (COSTA; SHIBATA; COLIN, 1983; ADAMS, 1967; FRONZA, 1994; TEIXEIRA et al., 2000).

Não houve influência dos fatores cultivares e inoculação sobre o teor de N nos grãos. Apesar de todas as cultivares permanecerem em um mesmo grupo, a cv. Talismã apresentou o teor mais alto de nitrogênio nos grãos, no valor de 3,06%. Essa característica é importante, pois indica a condição nutricional que a planta obteve nos estádios concernentes à maturação, sendo que, no período da

floração e enchimento de grãos, há intensa translocação de N das folhas para as partes reprodutivas.

Houve variação de resposta entre cultivares para a característica acúmulo de nitrogênio nos grãos. As cvs. Radiante e Bolinha apresentaram os piores resultados desta característica, com valores muito baixos. As demais cultivares permaneceram em um grupo superior, apresentando valores 100% superiores, ou mais, em relação a ambas. O acúmulo de N nos grãos é função do rendimento e do teor de N nos grãos. Pela similaridade dos agrupamentos das cultivares, pelo teste Scott-Knott, o acúmulo de N no presente estudo, parece estar mais relacionado ao rendimento de grãos.

Ressalta-se que, mesmo considerando as condições experimentais (adubação com P e K, espaçamento, número de plantas por parcela e irrigação complementar), os rendimentos de grãos encontrados para cada cultivar neste trabalho, em alguns casos maiores do que a produtividade média do Brasil, foi inferior a outros encontrados na literatura (FERREIRA et al., 2000; LEMOS et al., 2003; NASCIMENTO; ARF; SILVA, 2004; SANTINI et al., 2006). Soares et al. (2006) também obtiveram produtividades inferiores em seu estudo com a cultivar Talismã (422 a 1.041 kg ha⁻¹), com tratamentos envolvendo inoculação e adubação de cobertura com N. Já Mostasso et al. (2002) verificaram resultados superiores de rendimento de grãos (1.612 a 2.600 kg.ha⁻¹), em estudo com efeito significativo da inoculação. Porém, há de se considerar as diferenças nas adubações de base realizadas entre os dois trabalhos. As adubações com fósforo e potássio usadas por Mostasso et al. (2002) foram superiores às usadas no presente ensaio e além disso, o ensaio recebeu micronutrientes e calcário na correção do solo.

Os maiores rendimentos de grãos foram obtidos pelas cultivares Ouro Vermelho e Majestoso (1.351 e 1.107 kg ha⁻¹) e, as cvs. Bolinha e Radiante obtiveram os menores valores, 590 e 728 kg ha⁻¹, respectivamente.

A produtividade do feijoeiro não foi afetada pela inoculação das sementes, evidenciando que as estirpes nativas deste solo são altamente eficientes na fixação biológica de nitrogênio (Tabela 6). Bassan et al. (2001) e Binotti (2009) também encontraram resultados semelhantes, não havendo efeito da inoculação com *R. tropici* na produtividade do feijoeiro. Araújo et al. (2007) e Romanini Júnior et al. (2007) já verificaram diferentes respostas, quando observaram que a inoculação de sementes de feijoeiro com rizóbio contribuiu significativamente para o aumento na produtividade.

4 CONCLUSÕES

1. As cultivares de feijoeiro diferem quanto à nodulação, mas estas diferenças não se manifestaram no crescimento vegetativo, teor e acúmulo de N nas plantas.
2. As cultivares de feijoeiro diferem quanto ao rendimento de grãos e seus componentes primários. Maiores rendimentos foram obtidos pelas cultivares Supremo, Majestoso, Talismã e Ouro Vermelho.
3. A inoculação não afetou a nodulação, o crescimento vegetativo e o teor e acúmulo de N nas plantas, porém, houve influência desta sobre a formação de vagens, sendo este efeito dependente das cultivares utilizadas.
4. As cultivares Ouro Vermelho e Majestoso produzem mais vagens quando inoculadas com a estirpe CIAT 899.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B. et al. BRSMG majestoso: another common bean cultivar of carioca grain type for the state of Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 7, n. 4, p. 403-405, dez. 2007.
- ADAMS, M. W. Basis of yield component compensation in crop plants with special reference to the field bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Science**, Madison, v. 7, n. 5, p. 505-510, 1967.
- ALMEIDA, C. et al. Uréia em cobertura e via foliar em feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p.293-298, abr./jun. 2000.
- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 47, n. 4, p. 996-1006, Oct. 1997.
- AMBROSANO, E. J. et al. Feijão. In: RAIJ, B. Van et al. (Ed.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1996. p. 194- 195 (Boletim Técnico 100).
- AMBROSANO, E. J. et al. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. Van et al. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação ABC, 1997. cap. 19. p. 187-199.
- ANDRADE, M. J. B., CARVALHO, A. J.; VIEIRA, N. M. B. Exigências edafoclimáticas. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.) **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 67-86.
- ARAÚJO, F. F.; MUNHOZ, R. E. V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculados com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n. 6, p. 435-443, jun.1996.

ARAÚJO, J. L. S.; STRALIOTTO, R.; FRANCO, A. A. Seleção de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para fixação biológica de nitrogênio em condições de temperaturas elevadas. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1993. p. 136.

ARAÚJO, F. F. et al. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, 2007.

ARF, O. et al. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 131-138, fev. 2004.

ARF, O. et al. Mecanismos de abertura do sulco e adubação nitrogenada no cultivo do feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 499-506, 2008.

BASSAN, D. A. Z. et al. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijoeiro de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 76-83, 2001.

BINOTTI, F. F. S. **Manejo do nitrogênio no feijoeiro de inverno em sucessão a milho e *Brachiaria* em sistema de plantio direto**. 2009. 178 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

BLISS, F. A. Breeding common bean for improvement of biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p.71-79, Mar. 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 12 de nov. 2010. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 nov. 2010. Disponível em:
<http://www.fiscolex.com.br/doc_13261309_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_12_DE_NOVEMBRO_DE_2010.aspx>. Acesso em: 25 mar. 2011.

CARNEIRO, J. E. S. et al. Ouro vermelho: nova cultivar de feijão vermelho para Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISAS EM FEIJÃO, 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. Disponível em:
<<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/conafe2005-0208.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2011.

CARVALHO, F. G.; STAMFORD, N. P. Fixação do N₂ em leucena (*Leucaena leucocephala*) em solo da região semiárida brasileira submetido à salinização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, n. 2, p. 237-243, abr. 1999.

CARVALHO, M. A. C. et al. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 617-624, maio 2001.

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.) **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 143-170.

CHUEIRE, L. M. O. et al. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p. 833-840, set./out. 2003.

COSTA, J. G. C.; SHIBATA, J. K.; COLIN, S. M. Plasticidade no feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 159-167, fev. 1983.

CULTIVAR de feijão Talismã. Sete Lagoas: UFLA, UFV, EMBRAPA, EPAMIG, 2002. Folder.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, London, v. 210, n. 5038, p. 850-852, May 1966.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385 p.

DUQUE, F. F. et al. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of the N₂ fixation using 15N. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 88, n. 3, p. 333-343, Oct. 1985.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, 1999. 412 p.

FARIA, L. C. et al. **BRS Radiante**: nova cultivar precoce de feijoeiro comum com tipo de grão rajado. Santo Antonio do Goiás: Embrapa Arroz Feijão, 2002. (Comunicado Técnico, 45).

FARINELLI, R. et al. Adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro, em plantio direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 307-312, fev. 2006.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M. Seleção inicial e caracterização parcial de rizóbios de tabuleiros costeiros quando associados ao guandu. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p. 321-327, mar. 2000.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. Etapas de desarrollo en plant de frijol. In: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F.; SCHOONHOVEN, A. (Ed.). **Frijol: investigación y producción**. Colombia: CIAT, 1985. p. 61-78.

FERREIRA, A. N. et al. Estirpes de rhizobium tropici na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 507-512, jul./set. 2000.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, P. A. A. **Eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijoeiro e sua tolerância a acidez e alumínio “in vitro”**. 2008. 50 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FERREIRA, P. A. A. et al. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from Amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, 2011. No prelo.

FERREIRA, P. A. A. et al. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2210-2212, out. 2009.

FLORES, M. et al. Genomic instability in *Rhizobium phaseoli*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 170, n. 3, p. 1191-1196, Mar. 1988.

FRANCO, A. A. Nutrição nitrogenada na cultura do feijoeiro. **Informe Agronômico**. Piracicaba, n. 70, p. 4-5, 1995.

FRANCO, M. C. et al.. Nodulation in divergent common bean accessions. I. Selection of parental types for genetic analysis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. **Programa and Abstracts...** Viçosa, MG: JARD, 1995. p. 147.

FRED, E. B.; BALDWIN, I. L.; MCCOY, E. **Root nodule bacteria of leguminous plants**. Madison: The University of Wisconsin, 1932. 343 p.

FRONZA, V. Resposta de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) de porte ereto a espaçamentos entre linhas e níveis de adubação. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 41, n. 235, p. 317-326, 1994.

FULLIN, E. A. et al. Nitrogênio e molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1145-1149, jul. 1999.

GOULART, L. S.; BALDANI, J. I. Efeito do choque térmico na expressão de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium tropici*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1993. p. 133.

HAFEEZ, F. Y. et al. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* isolated from agriculture soils in Faisalabad. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 142-147, Sept. 2005.

HERRIDGE, D. F.; DANSO, S. K. A. Enhancing crop legume N₂ fixation through selection and breeding. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 174, n. 1/2, p. 51-82, July 1995.

HUNGRIA, M. et al. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 11/12, p. 1515-1528, Oct. 2000.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen fixation and transport in *P. vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 103, n. 1, p. 111-121, Mar. 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos cerrados**. Brasília: Embrapa Cerrado, 1997. cap.5. p. 187-258.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, S. R. Fixação biológica de nitrogênio. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Biologia dos solos do cerrado**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. p. 189-295.

JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. D. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: W. and Wilkins, 1984. v. 1. p. 234-244.

KANEKO, F. H. et al. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p.125-133, 2010.

KIPE-NOLT, J. A.; VARGAS, H.; GILLER, K. E. Nitrogen fixation in breeding lines of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 103-106, Mar. 1993.

LANNA, A. C.; SILVA, O. F.; BARRIGOSI, J. A. F. **Impactos ambiental e econômico da cultivar de feijão BRS valente**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz, Feijão, 2005. (Comunicado Técnico, 107).

LEMOS, L. B. et al. Inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada em genótipos de feijoeiro. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 26-31, 2003.

LOPES, A. S. et al. **Sistema plantio direto**: bases para o manejo da fertilidade do solo. São Paulo: ANDA, 2004. 110 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARTINEZ-ROMERO, E. et al. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal**

Systematic and Evolutionary Microbiology, Reading, v. 41, n. 3, p. 417-426, July 1991.

MCFERSON, J. R. **Genetic and breeding studies of dinitrogen fixation in common beans (*P. vulgaris* L.)**. 1983. 146p. These (Doctorado) – University of Wisconsin, Madison, 1983.

MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.30, n. 2, p.235-246, mar./abr. 2006.

MENDES, L. C. et al. Eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 421-425, 1994.

MORAES, W. B. et al. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em Genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **Idesia**, Arica, v. 28, n. 1, p. 61-68, abr. 2010.

MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOSTASSO, L. et al. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 73, n.2-3, p. 121-132, Jan. 2002.

NASCIMENTO, M. S.; ARF, O.; SILVA, M. G. Resposta do feijoeiro à aplicação de nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar. **Acta Scientiarum: agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 153-159, 2004.

NOGUEIRA, C. O. G. **Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas que nodulam o feijoeiro-comum em**

Formiga-MG. 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

NOVO, M. C. S. S. de.; TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A.
Nitrogênio e potássio na fixação simbiótica de N₂ por soja cultivada no inverno.
Scientia Agricola, Piracicaba, v. 56, n. 1, p.143-156, 1999.

NUTMAN, P. S. Varietal differences in the nodulation subterranean clover.
Australian Journal of Agricultural Research, Victoria, v. 18, n. 2, p. 381-425,
1967.

OLIVEIRA, C. A. et al. Efeito da temperatura sobre a fixação de N₂ do feijoeiro.
In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO
DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.;
SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO
BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu, 1998.
Resumos... Caxambu: UFLA, 1998. p. 181.

PAULA JÚNIOR, T. J. (Coord.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009.** Viçosa, MG: Epamig-CTZM, 2008 180 p. (Documentos, 42).

PELEGRIN, R. et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 219-226, fev. 2009.

PEREIRA, E. G. **Diversidade de rizóbio em diferentes sistemas de uso da terra da Amazônia.** 2000. 93 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 15. ed. Piracicaba: Fealq, 2009. 451p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2008. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 15 nov. 2010.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. Viçosa, MG: UFV, 2006, p. 415-36.

RAPOSEIRAS, R. et al. Variabilidade de colônias isoladas de estirpes de *Rhizobium* efetivas na nodulação do feijoeiro, antes e após exposição à temperatura elevada. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu. **Resumos...** Caxambu:UFLA, 1998. p. 208.

RIBEIRO, A. C. et al. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999.

ROMANINI JÚNIOR, A. et al. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 74-82, Oct./Dec. 2007.

SANTINI, A. L. et al. Adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro em plantio convencional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1079-1085, 2006.

SANTOS, T. E. B. **Comunidade microbiana do solo e produtividade do feijoeiro, com e sem inoculação com rizóbio, associado a fontes e épocas de aplicação de nitrogênio**. 2009. 98p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1979. 27 p.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P. W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 43, n. 2, p. 374-377, Apr. 1993.

SILVA, E. F. et al. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009.

SILVEIRA, P. M.; DAMASCENO, M. A. Doses e parcelamento de K e de N na cultura do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p.1269-1276, nov. 1993.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG) (II): feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 803-811, set./out. 2006.

SOBERÓN-CHAVES, G. et al. Genetic rearrangements of a *Rhizobium phaseoli* symbiotic plasmid. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v. 167, n. 2, p. 487-491, Aug. 1986.

SORATTO, R. P. et al. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 211-218, 2005.

SORATTO, R. P.; CARVALHO, M. A. C.; ARF, O. Fertilidade do solo e nutrição de plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 1, p. 259-265, jan. 2006.

SOUZA, E. D. **Efeito de fontes, doses e épocas da adubação nitrogenada sobre os componentes de produção e a produtividade do feijoeiro irrigado em plantio direto**. 2006. 26f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2006.

SOUZA, E. F. C. **Adubação nitrogenada e inoculação com rizóbio no feijoeiro em sucessão ao milho consorciado com braquiárias no sistema plantio direto**. 2010. 50f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

STOCCO, P. et al. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1107-1120, maio 2008.

STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Brasília: Embrapa, 2002. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicações/artigos/fbnl_inocula_feijoeiro.html>. Acesso em: 9 maio 2011.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M. G.; MERCANTE, F. M. Fixação simbiótica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. **Produção de feijoeiro-comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz, Feijão, 2002. p. 122-153.

STREIT, W. et al. Competition for nodule occupancy on *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici* strains can be efficiently monitored in a ultisol during early stages of growth using a constitutive GUS gene fusion. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 8, p. 1075-1081, Aug. 1995.

TEIXEIRA, C. M. **Diferentes palhadas e doses de nitrogênio no plantio direto do feijoeiro**. 2004. 89p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

TEIXEIRA, I. R. et al. Resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pérola) a diferentes densidades de semeadura e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 399-408, abr. 2000.

THIES, J. E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. Environmental effects on competition for nodule occupancy between introduced and indigenous rhizobia and among introduced strains. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 493-500, Jun. 1992.

VARGAS, A. A. T.; GRAHAM, P. H. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. **Plant and Soil**, The Hague, v. 117, n. 2, p. 195-200, July 1989.

VARGAS, M. A. T. et al. Resposta do feijoeiro à inoculação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, em condições de cerrado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1993. p. 126.

VENTURINI, S. F. et al. Uso de vermicomposto na cultura do feijoeiro. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n.1, p. 257-261, Jan. 2003.

VIANELLO, R. L.; ALVES, A. R. **Meteorologia básica e aplicações**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 449p.

VIEIRA, N. M. B. et al. Comportamento dos genótipos de feijoeiro em relação à adubação com nitrogênio mineral e inoculação com rizóbio. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 57-61, mar. 2005.

VINCENT, J. M. **A manual for the practica study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. (International Biological Programme Hanbook, 15).

VLASSAK, K.; VANDERLEYDEN, J.; FRANCO, A. A. Competition and persistence of *Rhizobium tropici* and *Rhizobium etli* in a tropical soil during

successive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultures. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 1/2, p. 61-68, 1996.

WOLFF, A. B. et al. Competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* strains in relation to environmental stress and plant defense mechanisms. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 12, n. 3, p. 170-176, 1991.

CAPÍTULO 3

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO-COMUM À
INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM ESTIRPES DE RIZÓBIO EM
UBERABA E PATOS DE MINAS - MG**

RESUMO

Com o objetivo de verificar a resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio, foram conduzidos dois experimentos de campo no inverno-primavera de 2010, em Patos de Minas e Uberaba, MG. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, com três repetições e esquema fatorial 8 x 3, envolvendo oito cultivares (União, Madrepérola, Supremo, Radiante, Bolinha, Ouro Negro, Ouro Vermelho e Majestoso) e três tipos de inoculação (sementes inoculadas com as estirpes CIAT 899 de *Rhizobium tropici* ou UFLA 04-173 de *Rhizobium sp.*, mais uma testemunha com sementes não inoculadas). A área total da parcela foi composta por 6 linhas de 4m de comprimento, espaçadas de 0,50m. No preparo dos inoculantes, as estirpes foram inoculadas em erlenmeyer contendo meio semi-sólido YM esterilizado; após 4 dias de crescimento, na fase log, o material foi transferido para outro erlenmeyer contendo turfa esterilizada em autoclave por 20 minutos; a mistura inoculante, na proporção 3:1 turfa:cultura, foi empregada na base de 10 g por kg de semente e a qualidade do inoculante foi monitorada por meio de contagem, sendo observado o número mínimo legal de células viáveis (em torno de 10^9 células de *Rhizobium* por grama de inoculante). Na floração (estádio R6 do ciclo do feijoeiro) foram amostradas 10 plantas para avaliação do número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea e teor e acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea. Na colheita (estádio R9), em 2 linhas da parcela foram avaliados o rendimento de grãos e seus componentes primários (número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos) e teor e acúmulo de N nos grãos. As cultivares Madrepérola, Ouro Negro e Ouro Vermelho apresentam mais nódulos e maior massa seca de parte aérea; em Patos, as mesmas cultivares têm maior produtividade, mas em Uberaba, apenas Ouro Negro situa-se entre as mais produtivas. Em Uberaba há maior matéria seca de nódulos e de parte aérea, mas o ambiente mais favorável em Patos resulta em maiores valores de rendimento e componentes. A inoculação favorece a matéria seca de parte aérea nos dois locais. Em Patos, a estirpe UFLA 04-173 apresenta mais nódulos que CIAT 899 e testemunha sem inoculação. Nas duas localidades, o teor de N na parte aérea não difere entre os tratamentos inoculados e não inoculado, exceto nas cultivares Madrepérola, Ouro Negro e União, onde a inoculação com UFLA 04-173 é inferior àquela com CIAT 899 e à testemunha. Considerando o teor de N na parte aérea, Bolinha responde à inoculação com ambas as estirpes, enquanto Madrepérola responde à inoculação apenas com CIAT 899. Em Patos, a inoculação não influencia o teor de N e o rendimento de grãos. Em Uberaba,

CIAT 899 supera UFLA 04-173 e o tratamento sem inoculação. Em ambas as localidades, a estirpe CIAT 899 também mostra superioridade quanto a número de vagens por planta e massa de cem grãos.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio. Nodulação. *Rhizobium* sp.

ABSTRACT

Aiming to verify whether common bean cultivars equally respond to the inoculation of seeds with *Rhizobium*, two field experiments were conducted in the winter-spring crop of 2010, in Patos de Minas and Uberaba, MG. The experiment had a randomized block design, with three replications and a factorial 8 x 3, involving eight cultivars (União, Madrepérola, Supremo, Radiante, Bolinha, Ouro Negro, Ouro Vermelho e Majestoso) and three levels of inoculation (inoculation with strains CIAT 899 of *Rhizobium tropici* or UFLA 04-173 of *Rhizobium* sp. and a control without inoculation). Each plot had 6 rows of 4 m length, spaced by 0.50 m. In the inoculum preparation, strains were inoculated in Erlenmeyer flasks containing semi-solid sterile YM medium; after 4 days of growth in log phase, the material was transferred to another Erlenmeyer containing autoclaved peat for 20 minutes; the resulting mixture (inoculum), in the proportion of 3:1 peat: culture, was employed on the basis of 10 g per kg of seed and the inoculant quality was monitored through counting, observing the legal minimum number of viable cells (about 10^9 cells of *Rhizobium* by gram of inoculant. At flowering (R6 stage of the common bean cycle) 10 plants were sampled to evaluate the number of nodules, nodules dry mass, shoots dry weight, content and accumulation of nitrogen in shoots. At harvest (R9 stage), in two rows of each plot, were evaluated the grain yield and its primary components (100 grains weight, number of pods per plant, number of grains per pod) and the content and N accumulation in grains. The cultivars Madrepérola, Ouro Negro and Ouro Vermelho have the highest number of nodules and higher dry mass than the others; in Patos, the same cultivars are between those of higher productivity, but in Uberaba, only cv. Ouro Negro is among the most productive. In Uberaba there is the greater nodules dry weight and higher shoots dry matter, but the most favorable environment in Patos results in higher values for grain yield and its components. The inoculation favoured the shoot dry matter in both places. In Patos, UFLA 04-173 shows a higher number of nodules than the CIAT 899 and the non-inoculated treatment. In both places, the N content in shoots does not differ between inoculated and uninoculated cultivars treatments except in Madrepérola, Ouro Negro e União, in which inoculation with UFLA 04-173 is lower than CIAT 899 and the uninoculated treatment. Considering the N content in shoots, the cv. Bolinha responds to inoculation with both strains, while the cv. Madrepérola responds to inoculation only with CIAT 899. In Patos, inoculation does not influence the N content nor grain yield. In Uberaba, the CIAT 899 overcomes the UFLA 04-173 and the treatment without inoculation. In both locations, the CIAT 899 also shows superiority in number of pods per plant and weight of one hundred grains.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*. Nitrogen fixation. Nodulation. *Rhizobium sp.*

1 INTRODUÇÃO

Estudos comprovam ser possível o aproveitamento da cultura do feijoeiro pela fixação biológica de nitrogênio (HUNGRIA et al., 2000; MOSTASSO et al., 2002; SOARES et al., 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A inoculação de sementes de feijoeiro, através de estirpes de rizóbio fixadores de nitrogênio atmosférico, é capaz de disponibilizar este nutriente às plantas de forma à suplementar ou até mesmo substituir a adubação nitrogenada na cultura, uma vez que este processo fornece ao feijoeiro quantidades significativas deste nutriente à planta (MENDES et al., 1994; LEMOS et al., 2003; ROMANINI JÚNIOR et al., 2007). Porém, ainda se faz necessário aprimorar o manejo dos fatores envolvidos na simbiose rizóbio-leguminosa, estabelecendo boas práticas de inoculação, visando, assim, aumentar sua eficiência. A seleção de estirpes com esta finalidade é fundamental, identificando aquelas com as características mais desejáveis como, mais eficientes no processo de fixação de nitrogênio, maior adaptação a diversas condições (altas temperatura, acidez do solo, baixos teores de nutrientes principalmente), estabilidade genética e compatibilidade com as cultivares comumente utilizadas.

Ainda, para que o potencial da simbiose rizóbio-leguminosa seja maximizado, é também fundamental que se selecione os genótipos de feijoeiro mais responsivos à fixação biológica de nitrogênio e, então, é necessário que se realize testes de compatibilidade entre macro e microssimbionte, já que foram observadas respostas diferenciais de cultivares de feijão dependendo da estirpe utilizada (VARGAS et al., 1993; VIEIRA et al., 2005; NOGUEIRA, 2005; SOARES et al., 2006).

Alguns trabalhos, como os de Vieira et al. (2005), não registraram comportamento diferencial de genótipos de feijoeiro-comum quando inoculados

com rizóbio. Esses autores, estudando as cultivares Carioca, Pérola e Ouro Negro e mais quatro linhagens elite do Programa de Melhoramento do Feijoeiro da Universidade Federal de Lavras, submetidas à adubação PK, PK + N, PK + inoculação ou somente inoculação (estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 de *Rizobium tropici*), observaram que as cultivares e linhagens apresentaram mesmo comportamento.

Existe grande variabilidade entre cultivares, assim como entre genótipos selvagens de *P. vulgaris* L. quanto ao número de nódulos, massa nodular, atividade da nitrogenase e nitrogênio acumulado (FRANCO et al., 1995), precocidade da nodulação e aumento da massa ou tamanho nodular (HERRIDGE; DANSO, 1995).

Cultivares comerciais já foram utilizadas na Colômbia como genitoras em programas de melhoramento visando maior FBN (MCFERSON, 1983), o que não ocorre no Brasil, onde poucas cultivares foram identificadas como portadoras de elevada FBN, como Rio Tibagi (HUNGRIA; NEVES, 1987) e Ouro Negro (BLISS, 1993). Esta última cultivar também é relatada como de excelente eficiência simbiótica por Stralio (2002), juntamente com cultivares do grupo carioca e a antiga cv. Negro Argel, de grãos pretos.

Vargas et al. (1993), ao estudarem a resposta da cultura inoculada com *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli à suplementação com nitrogênio, verificaram que os aumentos de produção variaram com a cultivar utilizada.

Estas informações são relevantes e indicam que as cultivares atualmente em uso e cultivares recém-lançadas ou em fase de lançamento devem ser avaliadas quanto à FBN (VIEIRA et al., 2005).

Até o início da década de 90, o feijoeiro era conhecido como uma planta bastante restrita com relação à simbiose com microrganismos, sendo reconhecido apenas um grupo de bactérias que nodulavam esta leguminosa, a espécie *Rhizobium phaseoli* (FRED; BALDWIN; MCCOY, 1932),

reclassificado posteriormente como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984). Entretanto, o avanço das metodologias de biologia molecular e a coleta de rizóbios em vários locais do mundo indicaram que esta leguminosa pode ser bastante promíscua em suas associações simbióticas e, até 1997, outras quatro espécies foram descritas: *R. tropici* (MARTINEZ-ROMERO et al., 1991), *R. etli* bv *phaseoli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTINEZ-ROMERO, 1993), *R. gallicum* bvs *gallicum* e *phaseoli* e *R. giardini* bvs *giardini* e *phaseoli* (AMARGER; MACHERET; LAGUERRE, 1997). Atualmente, outras espécies/biovars de *Rhizobium* e de outros gêneros foram isolados de nódulos de feijoeiro, tais como *R. mongolense*, *R. etli* bv *mimosae*, *R. yangligense*, *Sinorhizobium fredii*, *S. americanum*, *Azorhizobium doebereinae*, *Mesorhizobium loti* e *M. huakuii* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Vários esforços continuam sendo feitos no sentido de se conhecer melhor a diversidade dos microrganismos que nodulam as raízes e fixam N no feijoeiro (CHUEIRE et al., 2003; MELLONI et al., 2006; SOARES et al., 2006; STOCCO et al., 2008).

O microssimbionte exerce grande influência na eficiência da FBN. O inoculante brasileiro, para o feijoeiro, durante muito tempo, foi produzido utilizando-se as espécies *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium etli*. Algumas destas bactérias eram obtidas no exterior e testadas por instituições de pesquisa no Brasil (STRALIOTTO, 2002). Atualmente, sabe-se que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e *R. etli* estão sujeitas a elevado grau de instabilidade genética (FLORES et al., 1988; SOBERÓN-CHAVES et al., 1986), podendo perder sua eficiência simbiótica com certa facilidade.

Atualmente, as estirpes recomendadas como inoculantes comerciais de feijoeiro no Brasil contém duas estirpes de *R. tropici*: CIAT 899 (= BR 322 = SEMIA 4077) e PRF 81 (=BR 520 = SEMIA 4080). Foi observado que estirpes da espécie *R. tropici* são mais resistentes a temperaturas elevadas que as

estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (ARAÚJO; STRALIOTTO; FRANCO, 1993; GOULART; BALDANI, 1993; OLIVEIRA et al., 1998; RAPOSEIRAS et al., 1998). Verificou-se maior competitividade de estirpes desta espécie na nodulação do feijoeiro sob condições elevadas de acidez (VARGAS; GRAHAM, 1989; WOLFF et al., 1991).

A estirpe CIAT 899 mostrou-se mais competitiva em condições de baixo pH (STREIT et al., 1995) e altas temperaturas (OLIVEIRA; GRAHAM, 1990), quando se realizou o ensaio em vasos. Em campo, os resultados variam, tendo apresentado baixa competitividade em solos do Havaí (THIES; BOHLOOL; SINGLETON, 1992) e em solos ácidos da Colômbia (WOLFF et al., 1991), e alta competitividade em solo de baixa fertilidade no Brasil (VLASSAK; VANDERLEYDEN; FRANCO, 1996).

Estudos realizados em vasos de Leonard, na Universidade Federal de Lavras, com estirpes de rizóbio obtidas no estado de Rondônia, mostraram-se altamente eficientes (PEREIRA, 2000) e, posteriormente, comprovaram alta eficiência agrônômica de algumas destas estirpes em no campo, em solos da região de Formiga (NOGUEIRA, 2005), Perdões (SOARES et al., 2006) e Lavras (FERREIRA et al., 2009) no estado de Minas Gerais.

Estudando a cv. Pérola, Nogueira (2005) testou as estirpes BR 322 (CIAT 899) de *R. tropici*, UFLA 02-100 de *R. etli*, UFLA 02-86 de *R. etli* bv. *phaseoli* e UFLA 02-127 de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, mais duas testemunhas (sem N mineral e sem inoculação e outra com 80 kg ha⁻¹ de N). A inoculação com as estirpes UFLA 02-100 e UFLA 02-127 contribuiu de forma significativa para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro, com economia do fertilizante nitrogenado.

Resultados obtidos por Soares et al. (2006) em Perdões, estudando o comportamento das mesmas estirpes mais a estirpe UFLA 02-68 de *R. etli* bv. *mimosae*, além das testemunhas absoluta e nitrogenada (70 kg ha⁻¹ de N) na

cultivar Talismã, mostram que a inoculação com as estirpes UFLA 02-86, UFLA 02-100 e UFLA 02 127 contribuiu significativamente para o aumento do rendimento e para o acúmulo de N nos grãos do feijoeiro, porém, com resultados semelhantes aos da estirpe CIAT 899.

Ferreira et al. (2009), na cidade de Lavras, testando no campo as estirpes BR 322 (CIAT 899), UFLA 02-100, UFLA 02-86, UFLA 02-127 e UFLA 02-68 inoculadas em sementes da cv. Talismã, verificaram que a estirpe UFLA 02-68 superou as demais, inclusive a CIAT 899, e promoveu rendimento de grãos semelhante ao da testemunha com 80 kg ha⁻¹ de N. Na mesma localidade, em casa de vegetação, em vasos de Leonard, Ferreira (2008) verificou que a estirpe UFLA 02-127, assim como a estirpe CIAT 899 e mais outras cinco estirpes superaram a testemunha nitrogenada em relação ao teor de N na parte aérea, que situou-se acima da faixa de suficiência indicada por Ambrosano et al. (1997) para o feijoeiro-comum.

Objetivou-se com este trabalho verificar, em solo típico da região de Patos de Minas e Uberaba, se cultivares de feijoeiro-comum respondem igualmente à inoculação das sementes com rizóbio, investigar o comportamento de novas cultivares de feijoeiro quando submetidas à inoculação e detectar se existe diferença na nodulação e eficiência entre estirpes de rizóbio inoculadas no feijoeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos a campo na safra do inverno-primavera de 2010 no Triângulo Mineiro e na região do Alto Paranaíba. O cultivo do feijoeiro, com semeadura no fim de julho ou início de agosto é uma boa opção nestas regiões para produtores que dispõem de irrigação (TEIXEIRA, 2004), pois facilita o manejo fitossanitário devido a menor incidência de pragas, doenças e plantas daninhas no período, tendo, porém, o inconveniente de se colher em outubro/novembro, período em que as chuvas são mais constantes e aumenta a incidência de patógenos e plantas invasoras na lavoura.

No Triângulo Mineiro, o experimento foi conduzido em Uberaba, sob sistema de plantio direto com palhada de milho, em área experimental da FAZU (Faculdades Associadas de Uberaba), a 760 metros de altitude, latitude de 19°43'48" S e longitude de 47°57'56" W, em um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (Tabela 8). O clima de Uberaba, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw, tropical quente úmido, com inverno frio (15/16 °C) e seco. A precipitação média anual é de 1.474 mm e a temperatura média diária é de 22,6 °C. As ocorrências diárias de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial, durante o período de condução dos experimentos, estão registradas na Figura 1.

No Alto Paranaíba, o experimento foi conduzido em Patos de Minas, na Fazenda Experimental Sertãozinho, da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), com altitude em torno de 833 metros, latitude 18°40'18" S e longitude 46°29'27" W. O sistema de manejo do solo foi o convencional e o preparo do solo constou de uma aração e duas gradagens. A área havia recebido anteriormente a cultura do trigo. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é CWA (tropical em altitudes elevadas, úmido com verão quente e seco e inverno frio). O solo onde se instalou o ensaio é um

Latossolo Vermelho Eutroférico de textura franca (Tabela 1) e os valores médios mensais de temperatura (máxima, média e mínima) e diários de precipitação pluvial, durante o período de condução dos experimentos, estão registrados na Figura 2.

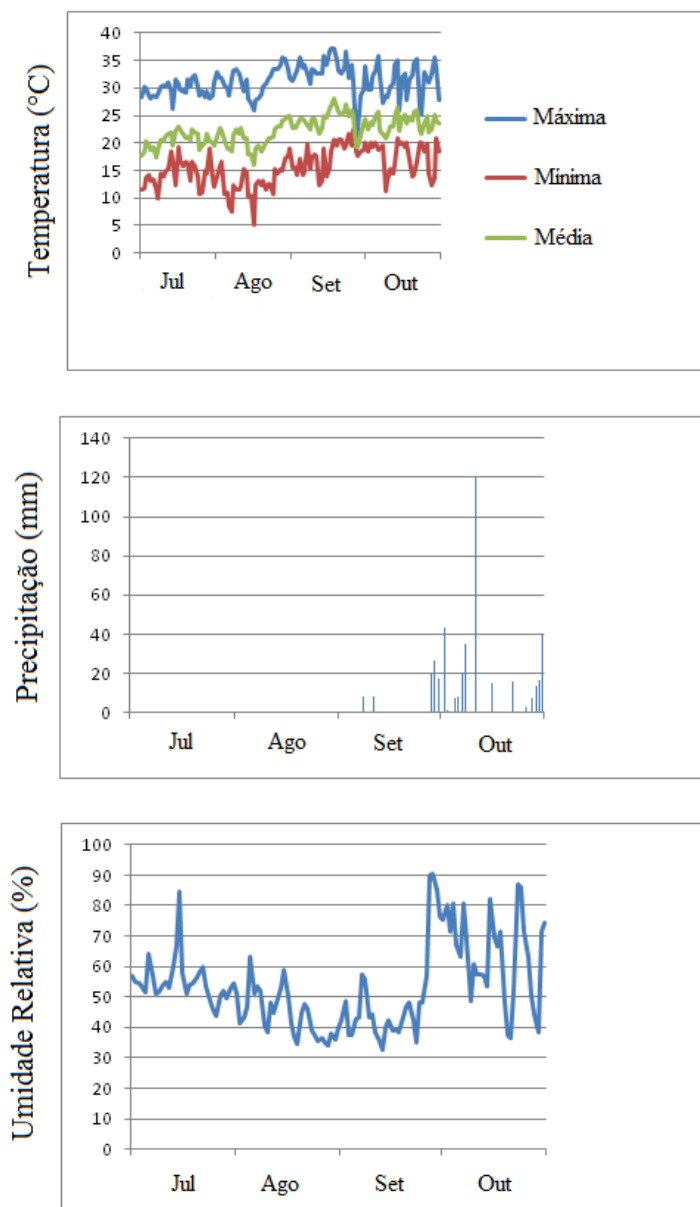


Figura 1 Variações diárias de temperatura (máxima, média e mínima), precipitação pluvial e umidade relativa no período de julho a outubro de 2010, Uberaba, MG (dados fornecidos pela Estação Climatológica da EPAMIG, Uberaba-MG)

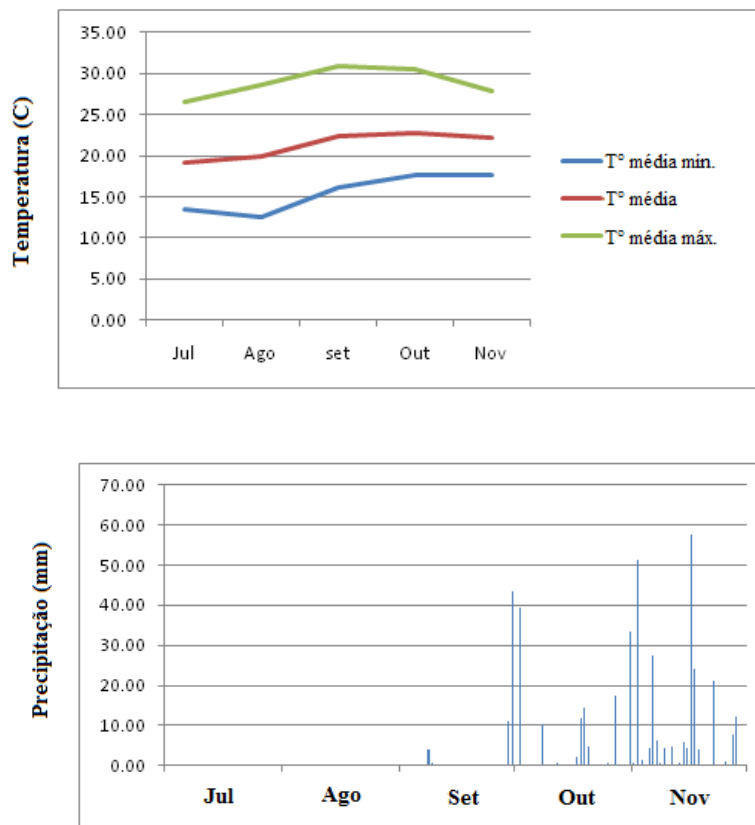


Figura 2 Variação mensal das médias de temperaturas (máxima, média e mínima) e precipitação pluvial diária no período de julho a novembro de 2010, Patos de Minas, MG, 2011. (Dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET)

Tabela 1 Resultados da análise química de amostras de material dos solos utilizados (camada 0 a 20 cm), Patos de Minas e Uberaba, MG, 2010

| Característica | Valores | |
|---|---------|----------------|
| | Uberaba | Patos de Minas |
| pH (H ₂ O) | 5,8 | 5,7 |
| P disp.(mg dm ⁻³) | 4,0 | 29,0 |
| P rem.(mg dm ⁻³) | 15,6 | 11,9 |
| K (mg dm ⁻³) | 48,0 | 73,0 |
| Ca (cmol _c dm ⁻³) | 1,8 | 1,8 |
| Mg (cmol _c dm ⁻³) | 0,6 | 0,8 |
| Al (cmol _c dm ⁻³) | 0,1 | 0,1 |
| H+Al(cmol _c dm ⁻³) | 2,6 | 5,6 |

*Análises realizadas pelo Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA

Em ambas as localidades o delineamento experimental foi blocos ao acaso, com três repetições, com os tratamentos dispostos no esquema fatorial 8 x 3, envolvendo oito cultivares de feijoeiro (BRS MG União, BRS MG Madrepérola, Supremo, Radiante, Bolinha, Ouro Negro, Ouro Vermelho e Majestoso), conforme a Tabela 2, e três tratamentos de inoculação: sementes inoculadas com a estirpe CIAT 899 de *Rhizobium tropici*, sementes inoculadas com a estirpe UFLA 04-173 de *Rhizobium sp* e sementes não inoculadas. A semeadura foi manual, e ocorreu nos dias 08/07 e 09/07/2010, respectivamente, em Patos de Minas e Uberaba.

As cvs. (cultivares) utilizadas pertencem a diferentes grupos comerciais (Tabela 2). A parceria entre Epamig (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), UFLA (Universidade Federal de Lavras), UFV (Universidade Federal de Viçosa) e EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), foi responsável pelo lançamento das cultivares BRSMG União, do grupo Jalo e BRSMG Madrepérola, do grupo carioca. A BRSMG Madrepérola tem grãos de coloração mais clara e possui maior tempo de vida

pós-colheita, o que permite maior eficiência no armazenamento e maior tempo para comercializar o produto. Já a BRSMG União, além de cor mais clara, possui grãos maiores e é resistente a algumas pragas e ao oídio (*Erysiphe poligony*). A cv. BRSMG Radiante, com grãos rajados, possui chance de aceitação no mercado internacional e, no Brasil, possui bom valor comercial agregado em Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Sul de Minas Gerais (FARIA et al., 2002). A cv. Bolinha é de uso comum em Minas Gerais, onde alcança boa cotação de preços. A cultivar Ouro Vermelho, devido ao seu potencial produtivo e excelente qualidade comercial, constitui nova opção para os produtores de feijão vermelho do Estado de Minas Gerais (CARNEIRO et al., 2005). A BRSMG Majestoso é uma cultivar de grãos carioca recomendada oficialmente para o Estado. A cv. Ouro Negro é recomendada para os Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. A cv. Supremo foi indicada em 2004 para as safras das águas e outono/inverno em Goiás e Distrito Federal e para as safras das águas e seca no Paraná e Santa Catarina (NASCENTE et al., 2006).

Tabela 2 Principais características das cultivares utilizadas em Uberaba e Patos de Minas, MG*

| Cultivar | Grupo Comercial | Cor do Grão | Hábito de Crescimento | Massa de 100 grãos (g) | Ciclo (dias) |
|---------------------------|------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| BRS Radiante | Outros | rajado | Tipo I | 44-45 | 80 |
| Ouro Vermelho | Outros | vermelho | Tipo III | 25 | 80-90 |
| BRS MG Majestoso | Carioca | carioca | Tipo III | 30 | 80-90 |
| Bolinha | Outros | amarelo | Tipo II | 22-27 | 85 |
| Ouro Negro | Preto | preto | Tipo III | 25-27 | 80-100 |
| BRS Supremo | Preto | preto | Tipo II | 24,6 | 90 |
| BRS MG UNIÃO | Manteigão | jalo | Tipo III | 40 | 77 |
| BRS MG Madrepérola | Carioca | carioca | Tipo III | 24-25 | 80 |

* Faria et al. (2002), Lanna, Silva e Barrigossi (2005), Ramalho e Abreu (2006), Abreu et al. (2007), Paula Júnior et al. (2008), Alves et al. (2009)

A estirpe CIAT 899 (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991) é uma das estirpes aprovadas pelo MAPA para a fabricação de inoculantes comerciais de sementes de feijão. A estirpe UFLA 04-173, inicialmente atribuída à espécie *Mesorhizobium loti* (FERREIRA et al., 2009), foi posteriormente caracterizada como *Rhizobium sp.* (FERREIRA et al., 2011). Os inoculantes foram preparados no Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. As estirpes foram inoculadas em um erlenmeyer contendo meio semissólido YM (VINCENT, 1970) esterilizado. Após quatro dias de crescimento, na fase log, o material foi transferido para outro erlenmeyer contendo turfa esterilizada em autoclave por 20 minutos. A mistura resultante (inoculante), na proporção 3:1 turfa: cultura, foi empregada na base de 10 g por kg de semente. A qualidade do inoculante foi monitorada por meio de contagem, sendo que o número mínimo legal de células viáveis (em torno de 10^9 células de *Rhizobium* por grama de inoculante na semeadura) foi observado (BRASIL, 2010).

Cada unidade experimental (parcela) foi composta por 6 linhas de 4 m de comprimento e espaçamento de 0,5 metros entre linhas, totalizando 12 m². A densidade de semeadura foi de 17 sementes por metro, na profundidade de 3 a 4 cm. A semeadura foi efetuada imediatamente após a inoculação. As linhas 1 e 6 foram consideradas bordaduras, as linhas 2 e 3 utilizadas para as amostragens na floração e as linhas 4 e 5 utilizadas para a colheita e respectivas avaliações.

Em Patos de Minas, todas as parcelas receberam idêntica adubação nitrogenada, fosfatada e potássica, na base de 20 kg ha⁻¹ de N, 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 20 kg ha⁻¹ de K₂O, utilizando-se como fontes a ureia, o superfosfato triplo e o cloreto de potássio, respectivamente. Já em Uberaba, as parcelas foram adubadas utilizando-se 345 kg ha⁻¹ de formulado NPK (00-30-15) e 45 kg ha⁻¹ de ureia, sendo esta, aplicada manualmente. Em ambos os experimentos não foi realizada a adubação nitrogenada em cobertura.

Os tratos culturais foram os normalmente dispensados à cultura na região. As plantas daninhas foram controladas por meio de capinas manuais sempre que necessário. Os ensaios nos dois locais receberam irrigação complementar, sendo por aspersão convencional em Patos de Minas, e por meio de um pivô central em Uberaba.

Por ocasião da plena floração, no estágio R6 do ciclo do feijoeiro (50% das plantas com pelo menos 1 flor aberta) (FERNANDEZ; GEPTS; LÓPEZ, 1985), em cada parcela foi retirada uma amostra de 10 plantas (linhas 2 e 3), com o auxílio de enxadão e tesoura de poda para separar o sistema radicular da parte aérea da planta, para determinação do número e massa seca de nódulos, bem como da massa seca da parte aérea, teor e acúmulo de N na parte aérea. As amostras de parte aérea foram acondicionadas em sacos de papel, após a coleta no campo e, depois de devidamente identificadas, foram colocadas para secar em casa de vegetação e, posteriormente, em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 60-70 °C, até peso constante. Já as amostras do sistema radicular, foram acondicionadas em sacos plásticos, também devidamente identificados, e armazenadas em câmara fria à temperatura de 6 °C. Momentos antes da contagem de nódulos, as raízes foram devidamente lavadas em água corrente para se retirar o excesso de solo, sobre uma peneira, para se evitar qualquer perda de nódulos acidentalmente destacados pelo fluxo de água. Imediatamente após a contagem, os nódulos foram armazenados em pequenos frascos e colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 60-70 °C. Após a secagem dos nódulos, estes foram submetidos à pesagem em balança de precisão onde, em cada amostra, foi determinada a respectiva massa seca de nódulos. As coletas da floração em Patos de Minas e Uberaba ocorreram aos 47 DAE em ambas as localidades.

A colheita, no estágio R9, ocorreu aos 89 e 90 DAE, em Patos de Minas e Uberaba, respectivamente. Foram determinados (linhas 4 e 5) o estande final, o

rendimento de grãos e seus componentes primários (número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos em gramas), além do teor e acúmulo de N nos grãos. O estande final foi obtido por contagem e expresso em número de plantas por hectare. Os componentes do rendimento foram determinados em amostra de 10 plantas, enquanto o rendimento de grãos foi obtido a partir da massa total de grãos produzidos na área útil (linhas 4 e 5), incluindo a citada amostra de 10 plantas. O teor de umidade inicial nos grãos foi determinado em Medidor de Umidade Gehaka G600, no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA e o rendimento foram corrigidos em função da umidade dos grãos para 13%. O teor (%) de N, tanto na parte aérea como nos grãos, foi determinado no laboratório de microbiologia do solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, pelo método semi-microkjedhal (nitrogênio total), de acordo com Sarruge e Haag (1979). Para tanto, amostras de parte aérea e de grãos foram submetidas à moagem (Triturador Oster, da Gehaka, velocidade de 24.000 rpm), no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA e foi expresso em porcentagem (%). O N acumulado, tanto nos grãos como na parte aérea, foi calculado multiplicando-se a massa seca pela porcentagem de N, e dividindo-se por 100.

Todos os dados foram previamente submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade de variâncias, utilizando-se o software R (R Development Core Team, 2008) e, sempre que necessário, os dados foram transformados em $(x)^{0,5}$, exceto número e matéria seca de nódulos, transformados em $(x+0,5)^{0,5}$ e teor de nitrogênio em folhas e grãos, transformados em $\arcseno(x/100)^{0,5}$. Após estes procedimentos, os dados foram submetidos à análise de variância (PIMENTEL-GOMES, 2009), utilizando-se o software de análise estatística Sisvar[®] (FERREIRA, 2000). Nos casos de efeito significativo de tratamentos, a

comparação das médias foi feita pelo teste de Scott-Knott (1974), no nível de 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características avaliadas por ocasião da floração

A análise de variância conjunta (Tabela 3) revelou efeito significativo de locais sobre matéria seca de nódulos (MSN) e de locais e inoculação sobre matéria seca de parte aérea (MSPA). As cultivares tiveram influência sobre todas as características, exceto MSN. Ainda foram significativas as interações local x inoculação sobre o número de nódulos (NN) e cultivar x inoculação sobre o teor (TNPA) e acúmulo de N na parte aérea (ANPA).

Tabela 3 Resumo da análise de variância conjunta (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos ao número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Fonte de Variação | Pr > Fc | | | | | |
|---------------------------|-----------------|----------|----------|----------|---------|----------|
| | GL ₁ | NN | MSN | MSPA | TNPA | ANPA |
| Bloco (Local) | 4 | 0,0027** | 0,0953 | 0,0001** | 0,3495 | 0,0298* |
| Local (L) | 1 | 0,9353 | 0,0000** | 0,0000** | 0,0689 | 0,0858 |
| Cultivar (C) | 7 | 0,0000** | 0,1130 | 0,0097** | 0,0352* | 0,0000** |
| Inoculação (I) | 2 | 0,0966 | 0,7096 | 0,0145* | 0,8203 | 0,2024 |
| L*C | 7 | 0,7607 | 0,8325 | 0,4919 | 0,6040 | 0,3962 |
| L*I | 2 | 0,0401* | 0,3007 | 0,7225 | 0,2691 | 0,0979 |
| C*I | 14 | 0,7486 | 0,7240 | 0,6636 | 0,0406* | 0,0388* |
| L*C*I | 14 | 0,5457 | 0,6309 | 0,3995 | 0,6656 | 0,3586 |
| Erro | 92 | - | - | - | - | - |
| CV (%)₂ | - | 45,08 | 14,54 | 15,56 | 11,18 | 11,27 |

** Significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

* Significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F;

1. Número de graus de liberdade.

2. Coeficiente de variação.

As cultivares utilizadas diferiram quanto à quantidade de nódulos produzidos, sendo que com a cv. Madrepérola se obteve maior sucesso, juntamente com as cvs. Ouro Negro e Ouro Vermelho, que permaneceram no mesmo grupo (Tabela 4). As cvs. Majestoso e Supremo, que haviam expressado maiores valores desta característica em Lavras (Cap. 2 deste estudo), apresentaram valores mais baixos de número de nódulos e permaneceram no grupo com valores inferiores, juntamente com as cvs. União, Radiante e Bolinha. No geral, foi grande o número de nódulos formados, o que é um indicativo de boa eficiência simbiótica; porém, há de se considerar que esta variável não pode ser analisada isoladamente, pois muitas vezes, há a formação de muitos nódulos de tamanho reduzido, o que resulta em redução da eficiência da fixação biológica de nitrogênio. Portanto, a matéria seca de nódulos é também um parâmetro muito importante na avaliação do desempenho da simbiose (DÖBEREINER, 1966).

Tabela 4 Valores médios referentes a número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca de parte aérea (MSPA) e teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Cultivares | NN | MSN | MSPA | TNPA | ANPA |
|----------------------|----------------|----------------|---------------|--------|----------------|
| | (n°/10plantas) | (mg/10plantas) | (g/10plantas) | (%) | (mg/10plantas) |
| Madrepérola | 392 a | 470 | 40,46 a | 3,14 b | 710 b |
| Ouro Negro | 293 a | 410 | 41,53 a | 3,40 a | 850 b |
| União | 117 b | 120 | 42,81 a | 3,02 b | 970 b |
| Supremo | 155 b | 320 | 29,75 b | 3,70 a | 770 b |
| Radiante | 136 b | 240 | 35,07 b | 3,66 a | 1150 a |
| Bolinha | 102 b | 170 | 35,24 b | 3,58 a | 920 b |
| Ouro Vermelho | 252 a | 450 | 37,24 a | 3,58 a | 820 b |
| Majestoso | 210 b | 390 | 32,75 b | 3,66 a | 970 b |

“Tabela 4, conclusão”

| Inoculação: | | | | | |
|-----------------------|-----|-------|---------|------|-----|
| Ausente | 187 | 290 | 32,95 b | 3,44 | 890 |
| CIAT 899 | 210 | 380 | 38,15 a | 3,50 | 920 |
| UFLA 04-173 | 262 | 300 | 39,48 a | 3,46 | 860 |
| Local: | | | | | |
| Patos de Minas | 222 | 120 b | 30,44 b | 3,36 | 920 |
| Uberaba | 218 | 520 a | 43,28 a | 3,58 | 860 |
| Média | 220 | 320 | 36,86 | 3,47 | 890 |

Dentro de cada fator, médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O tratamento não inoculado apresentou valor alto para esta característica (Tabela 4) e permaneceu no mesmo grupo dos tratamentos que receberam algum tipo de inoculação, indicando a presença de grande número de rizóbios nativos no solo, os quais podem ter limitado o estabelecimento e a eficiência das estirpes inoculadas, uma vez que estas competem pelos sítios de infecção nodular. De modo semelhante, Pelegrin et al. (2009) não obtiveram resultado significativo da inoculação sobre o número e massa de nódulos e, de acordo com os autores, tal efeito se deu principalmente devido ao grande número de estirpes de bactérias naturais fixadoras de N presentes no solo. Ferreira et al. (2000) afirmam que estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio nativas do solo podem alterar de forma negativa o efeito da inoculação no feijoeiro. Ferreira et al. (2009) também não observaram efeito significativo da inoculação de rizóbios na nodulação da cultivar Talismã, assim como diversos outros autores, com diferentes cultivares e condições experimentais (BINOTTI, 2009; ROMANINI JUNIOR et al., 2007; KANEKO et al., 2010).

Houve influência significativa da interação local*inoculação sobre o número de nódulos (Tabela 5), mas os resultados revelam que para cada tipo de inoculação, os locais não apresentaram variações significativas. O

desdobramento do efeito de estirpes dentro de cada local, entretanto, revela que em Patos de Minas, houve melhor desempenho da estirpe UFLA 04-173, com número de nódulos que superou em 64 e 104% o número apresentado pela estirpe CIAT 899 e rizóbios nativos, respectivamente. Em Uberaba, os tratamentos com e sem inoculação apresentaram desempenho semelhante e, neste local, os resultados corroboram os de Ferreira et al. (2009) obtidos em Lavras, onde os autores não encontraram diferenças significativas de número de nódulos entre as estirpes CIAT 899 e UFLA 04-173.

Tabela 5 Valores médios do número de nódulos de feijoeiro em função de localidade e inoculação. 2010

| Inoculação | Patos de Minas | Uberaba |
|--------------------|----------------|-----------|
| Ausente | 155,33 aB | 219,25 aA |
| CIAT 899 | 193,25 aB | 226,08 aA |
| UFLA 04-173 | 317,33 aA | 207,42 aA |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

A massa seca de nódulos somente foi influenciada pelo fator local. A Tabela 4 revela que os valores para esta característica em Uberaba foram superiores aos de Patos de Minas, apesar de terem apresentado número de nódulos semelhantes, evidenciando a formação de nódulos maiores no ensaio de Uberaba. Essa diferença pode estar relacionada ao sistema de plantio direto utilizado nesta última localidade e pode ter colaborado para melhor formação de nódulos nas raízes do feijoeiro, pois neste sistema há tendência de menor amplitude térmica e melhores condições de umidade do solo, diminuindo assim a mortalidade das bactérias fixadoras de nitrogênio. Com relação aos tratamentos de inoculação, os resultados de massa seca de nódulos não apresentaram variação significativa, o que certamente está relacionado à boa

nodulação apresentada pelos rizóbios nativos. Binotti (2009), Ferreira et al. (2009), Pelegrin et al. (2009) e Souza (2010) também não observaram efeito significativo na massa seca de nódulos com a inoculação.

Os valores de matéria seca de parte aérea foram afetados pelos três fatores em estudo, mas não pela interação entre eles (Tabela 3). As cvs. Madrepérola, Ouro Negro, União e Ouro Vermelho apresentaram resultados superiores aos das demais (Tabela 4). Brandes (1971) e Lopes et al. (1983) afirmam que antes do 20º dia após a emergência não há expressivo acúmulo de matéria seca, sendo que somente a partir deste período irá ocorrer incremento expressivo da massa foliar, o que pode se prolongar por até 30 dias. O N tem grande relevância na produção de matéria seca da parte aérea, por se tratar de um componente da clorofila e, portanto, influencia o processo fotossintético propiciando o crescimento vegetativo do feijoeiro (SILVEIRA; DAMASCENO, 1993).

A inoculação com ambas as estirpes promoveu maiores resultados de matéria seca de parte aérea, sendo superiores ao tratamento não inoculado (Tabela 4). Tais resultados evidenciam a eficiência das estirpes inoculadas que disponibilizaram N para o feijoeiro de uma forma mais eficaz que os rizóbios nativos no solo. É interessante observar que isto ocorreu mesmo sem que se detectassem diferenças quanto ao número e massa seca de nódulos.

Em Uberaba verificaram-se maiores valores de matéria seca de parte aérea em comparação com os resultados encontrados em Patos de Minas (Tabela 4). O experimento da primeira localidade, instalado em plantio direto, proporcionou maior crescimento das plantas, e acumulou mais matéria seca nas folhas e hastes pelas condições favoráveis proporcionados por meio da palhada, dos maiores valores de matéria orgânica e da maior disponibilidade de nutrientes. Vieira (2006) também registra que há maiores acúmulos de matéria

seca na parte aérea em plantio direto do que no sistema convencional, em estudo com as cvs. Talismã e Ouro Negro.

O teor de nitrogênio na parte aérea é um dos indicativos de quão eficiente foi a absorção e assimilação do nutriente, inclusive via fixação biológica de N. As cultivares em estudo apresentaram diferenças quanto ao teor de nitrogênio nas folhas e ao acúmulo de N na parte aérea, mas este efeito se mostrou influenciado pela inoculação (Tabelas 6 e 7). Todos os tratamentos, com relação aos teores foliares de N, se encontraram dentro da faixa considerada adequada no período do florescimento do feijoeiro, 30-50 g kg⁻¹ e 3%, por Ambrosano et al. (1996) e Malavolta et al. (1997), respectivamente. Esses níveis de suficiência de N na parte aérea do feijoeiro são observados em solos com maior grau de fertilidade ou com populações de rizóbios nativos abundantes e de alta eficiência simbiótica (ALMEIDA et al., 2000; SORATTO et al., 2005; FARINELLI et al., 2006).

Tabela 6 Valores médios de teor de nitrogênio (%) na parte aérea em função de cultivares e inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Cultivares | Inoculação | | |
|----------------------|------------|----------|-------------|
| | Ausente | CIAT 899 | UFLA 04-173 |
| Madrepérola | 2,27 bA | 3,53 aA | 2,63 bB |
| Ouro Negro | 3,72 aA | 3,38 aA | 3,10 aB |
| União | 3,25 aA | 3,10 aA | 2,70 aB |
| Supremo | 3,88 aA | 3,20 aA | 4,02 aA |
| Radiante | 3,27 aA | 3,87 aA | 3,85 aA |
| Bolinha | 2,90 bA | 3,93 aA | 3,92 aA |
| Ouro Vermelho | 3,70 aA | 3,47 aA | 3,57 aA |
| Majestoso | 3,57 aA | 3,55 aA | 3,87 aA |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O desdobramento da interação cultivar*inoculação em relação ao teor de N nas folhas pode ser observado na Tabela 13. As cultivares de feijoeiro somente diferiram significativamente quando suas sementes foram inoculadas com a estirpe UFLA 04-173, situação em que as cvs. Madrepérola, Ouro Negro e União foram superadas pelas demais. Na ausência de inoculação e na presença de inoculação com a estirpe CIAT 899, as cultivares tiveram comportamento idêntico.

O desdobramento desta mesma interação, estudando o efeito das inoculações dentro de cada cultivar, revelou que os tratamentos somente diferiram quando foram aplicados às cvs. Madrepérola e Bolinha. Na cv. Madrepérola, apenas a estirpe CIAT 899 proporcionou maior teor foliar de N, enquanto na cv. Bolinha, ambas as estirpes superaram o tratamento não inoculado.

No que diz respeito ao acúmulo de N na parte aérea, o desdobramento da interação cultivar*inoculação é apresentado na Tabela 14. Na ausência de inoculação, as cultivares não apresentaram diferenças significativas. Quando as sementes foram inoculadas com a estirpe CIAT 899, as cvs. União, Radiante e Bolinha apresentaram maior acúmulo de N, superando as demais cultivares. Na presença da estirpe UFLA 04-173, sobressaíram as cvs. Majestoso, Radiante e Bolinha.

Tabela 7 Valores médios do acúmulo de nitrogênio (mg/10 plantas) na parte aérea do feijoeiro em função de cultivares e inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Cultivares | Inoculação | | |
|----------------------|------------|----------|-------------|
| | Ausente | CIAT 899 | UFLA 04-173 |
| Madrepérola | 770 aA | 820 aB | 550 bC |
| Ouro Negro | 930 aA | 870 aB | 750 aB |
| União | 1070 aA | 990 aA | 850 aB |
| Supremo | 830 aA | 670 aB | 810 aB |
| Radiante | 1020 aA | 1270 aA | 1160 aA |
| Bolinha | 860 aA | 1030 aA | 1050 aA |
| Ouro Vermelho | 830 aA | 820 aB | 790 aB |
| Majestoso | 800 aA | 880 aB | 930 aA |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O desdobramento do efeito da inoculação dentro de cada cultivar de feijoeiro demonstrou diferenças entre os tratamentos apenas dentro da cv. Madrepérola, na qual a estirpe UFLA 04-173 teve desempenho inferior ao da CIAT 899 e das estirpes nativas. Os resultados relativos ao teor e acúmulo de N na parte aérea sinalizam, portanto, que a cv. Madrepérola tem mais afinidade com a estirpe CIAT 899.

Estes resultados indicam que as estirpes nativas apresentam menor especificidade na simbiose com o feijoeiro, em relação às estirpes selecionadas e que há comportamento diferencial das estirpes e cultivares em relação ao acúmulo de N na parte aérea.

3.2 Características avaliadas por ocasião da colheita

A análise de variância conjunta (Tabela 8) revelou influência significativa de locais sobre todas as características, exceto sobre o estande final. As cultivares influenciaram significativamente o estande final (EST), número de vagens por planta (VAG), grãos por vagem (GRA) e massa de cem grãos (P100); a inoculação teve efeito significativo sobre as mesmas características, exceto GRA. Também foram significativas as interações L x C sobre EST e rendimento de grãos (REN) e C x I sobre acúmulo de N nos grãos (ANG).

Tabela 8 Resumo da análise de variância conjunta (Probabilidade > F calculado) dos dados relativos ao estande final (EST), número de vagens por planta (VAG) e de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos (REN). Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Fonte de Variação | GL ₁ | Pr > Fc | | | | | | |
|--------------------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|
| | | EST | VAG | GRA | P100 | TNG | ANG | REN |
| Bloco (Local) | 4 | 0,0001** | 0,0001** | 0,0001** | 0,0259* | 0,3201 | 0,0000** | 0,0000** |
| Local (L) | 1 | 0,9591 | 0,0096** | 0,0000** | 0,0000** | 0,0200* | 0,0000** | 0,0000** |
| Cultivar (C) | 7 | 0,0109* | 0,0001** | 0,0000** | 0,0000** | 0,4311 | 0,0917 | 0,0962 |
| Inoculação (I) | 2 | 0,0000** | 0,0071** | 0,2384 | 0,0208* | 0,9644 | 0,2226 | 0,1640 |
| L*C | 7 | 0,8599 | 0,1198 | 0,0916 | 0,0467* | 0,4823 | 0,0179* | 0,0022** |
| L*I | 2 | 0,0436* | 0,6711 | 0,1369 | 0,1722 | 0,9644 | 0,0351* | 0,0407* |
| C*I | 14 | 0,1390 | 0,5576 | 0,9606 | 0,4837 | 0,4056 | 0,2730 | 0,2791 |
| L*C*I | 14 | 0,1634 | 0,9094 | 0,9725 | 0,4590 | 0,6569 | 0,2598 | 0,2884 |
| Erro | 92 | - | - | - | - | - | - | - |
| CV(%)₂ | - | 14,24 | 20,47 | 8,88 | 5,04 | 10,59 | 20,70 | 19,75 |

** Significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

* Significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F;

1. Número de graus de liberdade.

2. Coeficiente de variação.

A população final de plantas foi influenciada pelas cultivares, sendo que as cvs. Majestoso, Radiante e Supremo obtiveram os maiores valores de estande final. As demais cultivares permaneceram em um mesmo grupo, inferior ao das mencionadas (Tabela 9). Todos os tratamentos, entretanto, apresentaram populações de plantas acima dos valores mínimos recomendados para o feijoeiro-comum por Dourado Neto e Fancelli (2000), que afirma que o estande mínimo para plantas de feijão do tipo III é de 170 mil plantas. Neste presente trabalho, portanto, mesmo os menores estandes verificados se encontram dentro do recomendado, com valores de 181 e 185 mil plantas por hectare (cultivares Ouro Negro e União, ambas do tipo III).

Tabela 9 Valores médios referentes a estande final (EST), número de vagens por planta (VAG) e de grãos por vagem (GRA), massa de cem grãos (P100), teor (TNG) e acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG) e rendimento de grãos de feijoeiro (REN) para as diferentes cultivares de feijoeiro e tipos de inoculação. Uberaba e Patos de Minas/MG, 2010

| Cultivares | EST | VAG | GRA | P100 | TNG | ANG | REN |
|-----------------------|----------------------------|---------|--------|---------|--------|------------|------------------------|
| | (mil pl.ha ⁻¹) | (n°) | (n°) | (g) | (%) | (mg/10pl.) | (kg ha ⁻¹) |
| Madrepérola | 217 b | 10,02 a | 3,83 b | 22,93 d | 3,47 | 16,21 | 1199 |
| Ouro Negro | 181 b | 10,98 a | 3,70 b | 25,15 c | 3,74 | 19,00 | 1319 |
| União | 185 b | 7,28 b | 3,20 c | 32,38 a | 3,52 | 15,79 | 1155 |
| Supremo | 229 a | 8,58 b | 4,21 a | 21,02 e | 3,44 | 15,73 | 1144 |
| Radiante | 241 a | 7,78 b | 2,84 d | 31,34 a | 3,55 | 15,59 | 1168 |
| Bolinha | 209 b | 5,43 c | 3,29 c | 27,52 b | 3,65 | 12,43 | 893 |
| Ouro | 201 b | 9,50 a | 4,16 a | 22,74 d | 3,43 | 16,66 | 1267 |
| Vermelho | | | | | | | |
| Majestoso | 246 a | 8,10 b | 3,45 c | 23,88 c | 3,83 | 16,87 | 1137 |
| Inoculação | | | | | | | |
| Ausente | 242 a | 7,40 b | 3,52 | 26,26 a | 3,57 | 15,43 | 1099 |
| CIAT 899 | 181 b | 9,79 a | 3,70 | 26,31 a | 3,54 | 16,97 | 1231 |
| UFLA 04-173 | 218 a | 8,18 b | 3,53 | 25,03 b | 3,56 | 15,69 | 1151 |
| Local | | | | | | | |
| Patos de Minas | 216 | 9,17 a | 4,28 a | 27,61 a | 3,38 b | 19,45 a | 1447 a |
| Uberaba | 211 | 7,74 b | 2,88 b | 24,13 b | 3,72 a | 12,62 b | 874 b |
| Médias | 214 | 8,46 | 3,59 | 25,87 | 3,55 | 0,07 | 1160 |

Dentro de cada fator, médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade.

A inoculação também produziu diferenças nos estandes finais (Tabela 8), mas este efeito foi dependente do local (Tabela 10). Em Uberaba, a ausência de inoculação promoveu maior estande final (Tabela 10), o que pode ser atribuído ao fato de que, para a obtenção da população desejada foram utilizadas medidas de igual volume para cada cultivar; obviamente, nos tratamentos sem inoculação as sementes tiveram menor volume e, por isto, resultaram em maior estande. Em Patos de Minas, o maior valor para o estande final também foi apresentado pelo tratamento não inoculado, pela mesma razão. Nesta última localidade, entretanto, o estande final sem inoculação não diferiu significativamente do estande proporcionado pela estirpe UFLA 04-173 e outros fatores podem ter interferido, como o sistema de manejo e o sistema de irrigação, dentre outros.

Tabela 10 Estande de feijoeiro (em mil unidades) em função de local e inoculação. 2010

| Inoculação | Locais | |
|--------------------|----------------|---------|
| | Patos de Minas | Uberaba |
| Ausente | 244 aA | 241 aA |
| CIAT 899 | 170 aB | 191 aB |
| UFLA 04-173 | 235 aA | 201 aB |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O número de vagens por planta foi afetado significativamente pelos três fatores em estudo, mas não pelas interações (Tabela 8). As cultivares produziram, em geral, bom número de vagens por planta, sendo os maiores valores apresentados, pelas cvs. Ouro Negro, Madrepérola e Ouro Vermelho (Tabela 9), todas com hábito de crescimento do tipo III (Tabela 2). O pior

resultado foi obtido pela cultivar Bolinha, com hábito de crescimento do tipo II, com apenas 5,43 vagens por planta (Tabela 9).

A inoculação também afetou esta variável (Tabela 8), concordando com resultados de Lemos et al. (2003) e diferindo do que foi observado por Carvalho et al. (1998) que não encontraram diferenças para esse parâmetro. No presente trabalho, a estirpe CIAT 899 produziu mais vagens por planta em relação à UFLA 04-173 e aos rizóbios nativos (Tabela 9). Torna-se evidente o efeito de plasticidade do feijoeiro, uma vez que os tratamentos que receberam a estirpe de referência (CIAT 899), apesar de apresentarem menor estande final, compensaram esta variável pela formação de mais vagens por planta, que acabou por produzir um efeito positivo sobre o rendimento de grãos (Tabela 9). O contrário ocorreu para a estirpe UFLA 04-173 e estirpes nativas que, embora tenham apresentado maiores valores de população final, seus tratamentos produziram menos vagens por planta. Lemos et al. (2004) também verificaram evidência de forte ligação entre produtividade de grãos e o número de vagens por planta, assim como a massa de 100 grãos, que são, portanto, variáveis importantes na seleção de genótipos produtivos. Os resultados do presente estudo concordam com a afirmativa de Costa, Shibata e Colin (1983), de que a variação dos componentes da produção do feijoeiro coopera para a manutenção da estabilidade da produtividade de grãos, ou seja, se um desses componentes for prejudicado por algum fator, outro componente se eleva, estabilizando a produtividade.

Em relação aos locais, em Patos de Minas, em geral, foram produzidas mais vagens do que em Uberaba (Tabela 9). Este fato está aliado, dentre outros fatores, à pequena lâmina d'água fornecida ao experimento de Uberaba (2 mm/dia), enquanto o valor ideal, segundo Silveira e Stone (2001), está em torno de 3,4 mm/dia durante a fase vegetativa, 6,0 mm na floração e 4,7 mm no desenvolvimento de vagens até a maturação.

A variável número de grãos por vagem foi afetada pelas cultivares e pelos locais onde ocorreram os ensaios (Tabela 8). Dentre as cultivares, os valores mais elevados desta característica foram obtidos pelas cultivares Supremo e Ouro Vermelho. Não houve influência significativa da inoculação sobre a massa de grãos (Tabelas 8 e 9). Ferreira et al. (2000) afirmam que esta é uma característica de alta herdabilidade genética e, portanto, intimamente relacionada com a cultivar utilizada. Binotti (2009) também não verificou diferenças significativas para o número de grãos por vagem, quando se inoculou o *R. tropici* nas sementes de feijoeiro. Em Patos de Minas, além de mais vagens por planta, também foi obtido maior número de grãos por vagem, o que certamente possibilitou superior produtividade (Tabela 9).

Houve diferença entre a massa dos grãos produzidos pelos tratamentos, que sofreram influência dos três fatores em estudo e da interação entre local e cultivar (Tabela 8).

A inoculação ou ausência desta afetou a massa dos grãos das cultivares em estudo, sendo que a inoculação com a estirpe UFLA 04-173 gerou grãos mais leves, em média, do que os tratamentos que foram inoculados com a CIAT 899 ou aqueles isentos deste processo, contradizendo resultados anteriores. Ferreira et al. (2000) e Kaneko et al. (2010), não verificaram diferença significativa na massa de 100 grãos das cultivares IAC Carioca Eté e Pérola, com a inoculação de sementes. Essa é uma das características que apresenta pouca variação em relação às alterações no meio de cultivo. Portanto, em condições adversas, com baixa disponibilidade de N, o feijoeiro terá preferência em formar poucos grãos nas vagens ao invés de vários grãos mal formados (SORATTO et al., 2005). Arf et al. (2008) citam que a massa dos grãos está mais intimamente relacionada com os caracteres genéticos da cultivar utilizada.

Desdobrando-se a interação local*cultivar (Tabela 11), verifica-se a superioridade da massa de 100 grãos de todas as cultivares no ensaio alocado em

Patos de Minas, exceto a cultivar BRSMG-União, que apresentou resultados semelhantes nos dois locais. Tal superioridade alcançou valores de até 28%, para a cv. Majestoso, em Patos de Minas sobre os de Uberaba. Nesta localidade, destacam-se as cvs. Radiante e União, com massa média de 34 e 32 g, respectivamente. Os valores mais baixos foram apresentados pelas cvs. Supremo e Ouro Vermelho, que não diferiram entre si, com valores de 23 e 24 g. Em Uberaba, somente a cv. União se destacou das demais. Os menores resultados foram os observados pelas cvs. Supremo e Madrepérola, que permaneceram no mesmo grupo, com massa média de 100 grãos em torno de 20 g.

Tabela 11 Massa de cem grãos de feijoeiro (g) em função de local e cultivares. 2010

| Cultivares | Locais | |
|----------------------|----------------|----------|
| | Patos de Minas | Uberaba |
| Madrepérola | 25,82 aC | 20,04 bE |
| Ouro Negro | 26,70 aC | 23,61 bD |
| União | 32,37 aA | 32,39 aA |
| Supremo | 22,58 aD | 19,45 bE |
| Radiante | 33,73 aA | 28,94 bB |
| Bolinha | 29,41 aB | 25,63 bC |
| Ouro Vermelho | 24,08 aD | 21,41 bD |
| Majestoso | 26,20 aC | 21,57 bD |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O teor de N nos grãos é uma característica importante, pois indica a condição nutricional que a planta obteve nos estádios da maturação, sendo que, no período da floração e enchimento de grãos, há uma intensa translocação de N das folhas para as partes reprodutivas. Essa variável também é um dos indicativos da eficiência da fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas. No

presente estudo, esta variável somente foi afetada pelo local de execução do experimento, sendo o ensaio de Uberaba aquele que apresentou os maiores teores de N nos grãos (Tabela 9), possivelmente em função do plantio direto, que proporciona maior teor de matéria orgânica.

O acúmulo de nitrogênio nos grãos foi influenciado pelo fator local e pelas interações local*cultivar e local*inoculação (Tabela 8). Patos de Minas se destacou com maior acúmulo de N nos grãos, mas este efeito foi dependente da cultivar e do tratamento relativo à inoculação (Tabelas 12 e 13).

A análise do desdobramento da interação entre as cultivares e os locais de execução do ensaio (Tabela 12), permite observar que houve diferença no acúmulo de N nos grãos entre os dois locais, analisando cada cultivar isoladamente, exceto para as cvs. Radiante e Supremo, que não apresentaram diferenças quanto à quantidade acumulada de nitrogênio em ambos os ensaios. Portanto, observou-se superioridade na maioria dos tratamentos de Patos de Minas, apesar dos tratamentos de Uberaba terem apresentado os teores mais elevados de N nos grãos. Ainda, analisando o efeito das cultivares em cada local, verificaram-se resultados superiores das cvs. Madrepérola, Ouro Negro, Ouro Vermelho, União e Majestoso em Patos de Minas, que permaneceram em um mesmo grupo, e Ouro Negro, Supremo e Radiante, em Uberaba.

Tabela 12 Acúmulo de nitrogênio em grãos (mg/10plantas) em função de cultivares e local. 2010

| Cultivares | Locais | |
|----------------------|----------------|----------|
| | Patos de Minas | Uberaba |
| Madrepérola | 22,78 aA | 9,64 bB |
| Ouro Negro | 22,99 aA | 15,01 bA |
| União | 20,63 aA | 10,95 bB |
| Supremo | 16,13 aB | 15,32 aA |
| Radiante | 15,72 aB | 15,46 aA |
| Bolinha | 15,52 aB | 9,33 bB |
| Ouro Vermelho | 20,54 aA | 12,78 bB |
| Majestoso | 21,29 aA | 12,46 bB |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

Desdobrando-se a interação local*inoculação (Tabela 13), ainda em relação ao acúmulo de N nos grãos, nota-se que, a inoculação com a estirpe CIAT 899 obteve os maiores resultados em Uberaba, e resultados semelhantes aos demais tipos de inoculação em Patos de Minas. A estirpe UFLA 04-173 não se mostrou superior ao rizóbio nativo do solo, em ambas as localidades, evidenciando a baixa eficiência desta técnica quando se promove a inoculação com esta estirpe. Pode-se também inferir que, os valores para esta variável foram sempre maiores em Patos de Minas do que em Uberaba, tanto nos tratamentos inoculados quanto na ausência de inoculação. O acúmulo de N nos grãos está em função do rendimento e do teor de N nos grãos. Neste caso, devido à semelhança dos grupos dos tratamentos encontrados através do teste Scott-Knott, o acúmulo de N parece estar mais relacionado ao rendimento de grãos, pois seus valores foram inversamente proporcionais ao teor de nitrogênio em grãos, enquanto houve efeito positivo com os resultados de rendimento de grãos.

Tabela 13 Acúmulo de nitrogênio em grãos (mg/10plantas) em função dos dois locais e tipos de inoculação. 2010

| Local | Inoculação | | |
|-----------------------|------------|----------|-------------|
| | Ausente | CIAT 899 | UFLA 04-173 |
| Patos de Minas | 18,48 aA | 19,20 aA | 20,68 aA |
| Uberaba | 12,39 bB | 14,75 aB | 10,71 bB |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

O rendimento de grãos encontrado para cada cultivar, neste trabalho, foram maiores do que a produtividade média do Brasil que, atualmente, é de 903 kg ha⁻¹ (CONAB, 2010), assim como em diversos trabalhos encontrados na literatura (FERREIRA et al., 2000; LEMOS et al., 2003; NASCIMENTO; ARF; SILVA, 2004; SANTINI et al., 2006). O efeito significativo sobre esta variável somente foi verificada para os locais onde foram conduzidos os experimentos e para as interações local*cultivar e local*inoculação (Tabela 15). O rendimento de grãos foi maior no ensaio de Patos de Minas, dado a sua superioridade no número de vagens por planta formados, na massa de 100 grãos e no número de grãos por vagem, este quase que 50 % maior que o valor encontrado em Uberaba. As cultivares não diferiram quanto esta característica, apesar da cultivar Ouro Negro ter se destacado com o maior valor de rendimento de grãos (1.319 kg ha⁻¹) e a cultivar Bolinha ter apresentado a menor média (893 kg ha⁻¹).

As cultivares em estudo apresentaram respostas bastante diferentes em relação ao local do ensaio experimental, é o que mostra a tabela 14. Todas as cultivares em Patos de Minas obtiveram resultados de rendimento de grãos superiores aos tratamentos do ensaio de Uberaba, exceto as cultivares Radiante e Supremo, que não diferiram entre os locais de experimentação. Em geral, os valores de rendimento de grãos apresentados pelos tratamentos de Patos de Minas foram de 62 a 145% maiores que os de Uberaba, excluindo aqueles que já

foram comentados que não apresentaram diferença significativa. Quando se analisou separadamente cada localidade, observou-se resposta diferencial de cultivares em ambos os experimentos. Os menores valores de rendimento de grãos em Patos de Minas foram apresentados pelas cvs. Supremo, Radiante e Bolinha, que permaneceram em um mesmo grupo. As demais cultivares se relacionaram por apresentarem os maiores valores e não distinguem entre si de forma significativa, sendo destaque a cultivar madrepérola, com produção de 1703 kg ha⁻¹, a mais produtiva neste ensaio. Já a análise de Uberaba, revelou maior destaque para as cvs. Radiante, Supremo e Ouro Negro, que apresentaram as maiores produtividades e se situaram no mesmo agrupamento. Feijoeiros do grupo manteiga, como a cultivar Radiante, de crescimento determinado, têm como vantagem o ciclo curto, aproximadamente 80 dias, que proporciona menor tempo para o ataque de doenças e, conseqüentemente, há maiores possibilidades de escape. Sob condições de irrigação, assim como se dispôs neste ensaio, cultivares desse grupo agregam economia ao sistema de produção devido à redução do tempo de irrigação e, também, por possibilitar a comercialização antecipada do produto, alcançando melhores preços. É importante ressaltar ainda, a boa aceitação desse tipo de feijão entre os consumidores de produtos orgânicos, devido a seu aspecto visual e a sua elevada massa de 100 grãos. As cultivares do grupo comercial preto, no caso Ouro Negro e Supremo, são bem aceitas em algumas regiões do país onde já estão consagradas e têm a vantagem de ser bastante produtivas. A cv. Ouro Negro possui alta capacidade de fixação biológica de nitrogênio e ainda é recomendada somente para os cultivos de “seca” e de “inverno”, assim como foi neste experimento. As demais cultivares se destacaram menos por apresentarem resultados inferiores e semelhantes estatisticamente entre si.

Tabela 14 Rendimento de grãos de feijoeiro (kg ha⁻¹) em função de local e cultivares. 2010

| Cultivares | Locais | |
|----------------------|----------------|---------|
| | Patos de Minas | Uberaba |
| Madrepérola | 1703 aA | 695 bB |
| Ouro Negro | 1633 aA | 1005 bA |
| União | 1507 aA | 803 bB |
| Supremo | 1140 aB | 1148 aA |
| Radiante | 1209 aB | 1127 aA |
| Bolinha | 1229 aB | 557 bB |
| Ouro Vermelho | 1655 aA | 879 bB |
| Majestoso | 1499 aA | 775 bB |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

Quando se efetuou o desdobramento da interação do local e inoculação (tabela 15), verificou-se que, tanto a inoculação quanto a ausência desta, apresentaram valores diferentes quando comparados os locais de experimentação, revelando mais uma vez, a superioridade do ensaio de Patos de Minas sobre Uberaba. Quando a inoculação foi efetuada com a estirpe UFLA 04-173 no Alto Paranaíba, o valor do rendimento de grãos foi pouco mais que o dobro dos resultados do Triângulo Mineiro. Já quando se avaliou os tipos de inoculação em cada localidade, tanto a ausência de inoculação quanto a presença desta, não responderam de forma diferencial nos dois locais.

Tabela 15 Rendimento de grãos de feijoeiro (kg ha^{-1}) em função de local e inoculação. 2010

| Inoculação | Locais | |
|--------------------|----------------|---------|
| | Patos de Minas | Uberaba |
| Ausente | 1348 aA | 851 bB |
| CIAT 899 | 1443 aA | 1018 bA |
| UFLA 04-173 | 1549 aA | 752 bB |

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pertencem a um mesmo grupo de acordo com o teste de Scott-Knott, no nível de 5% de probabilidade

No presente trabalho, não houve significância do rendimento de grãos com relação às cultivares empregadas, os tipos de inoculação e a interação entre estes fatores. Entretanto, vários autores confirmam que a interação existente entre os microrganismos fixadores de N e os genótipos de feijoeiro é de suma importância para a compreensão dos resultados de inoculação em plantas de feijão (ARAÚJO; MUNHOZ; HUNGRIA, 1996; MENDES et al., 1994). Do mesmo modo, Peres et al. (1994) e Ferreira et al. (2000) verificaram que a inoculação com estirpes eficientes ou mesmo a FBN promovida por estirpes nativas em genótipos nodulantes, pode substituir o fornecimento de nitrogênio mineral sem afetar a produtividade do feijoeiro. Romanini Júnior et al. (2007) encontraram resultados que mostram incremento superior a 17% na produtividade de grãos de feijoeiro cultivado no inverno em sistema de plantio direto, quando se promoveu a inoculação. Araújo et al. (2007) também verificaram diferenças significativas em seu trabalho com resultados semelhantes aos destes autores.

4 CONCLUSÕES

1. A inoculação não influencia a nodulação, mas favorece o crescimento vegetativo do feijoeiro.
2. A estirpe CIAT 899 proporciona maior número de vagens e maior massa de cem grãos que a estirpe UFLA 04-173.
3. As cultivares diferem quanto ao teor foliar de N, mas apenas quando a inoculação é realizada com a estirpe UFLA 04-173.
4. As cultivares diferem quanto à maioria das características avaliadas na floração e colheita.
5. Em Patos de Minas, a estirpe UFLA 04-173 nodula mais que a CIAT 899, apesar de obterem produtividade semelhante. Já em Uberaba, a CIAT 899 se destaca por ser mais produtiva que a estirpe UFLA 04-173.
6. Em Patos de Minas, os valores de massa de 100 grãos das cultivares foram sempre maiores que em Uberaba.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. F. B. et al. BRSMG majestoso: another common bean cultivar of carioca grain type for the state of Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 7, n. 4, p. 403-405, dez. 2007.

ALMEIDA, C. et al. Uréia em cobertura e via foliar em feijoeiro. **Scientia Agricola**, v.57, n. 2, p.293-298, abr./jun. 2000.

AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.47, n. 4, p. 996-1006, Oct. 1997.

AMBROSANO, E. J. et al. Feijão. In: RAIJ, B. Van et al. (Ed.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1996. p. 194- 195 (Boletim Técnico 100).

AMBROSANO, E. J. et al. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. Van et al. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**, 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação ABC, 1997. Cap.19. p. 187-199.

ANDRADE, M. J. B. et al. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenada e molíbdica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 4, p. 934-940, jul./ago., 2001.

ARAÚJO, F. F. et al. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agonomia**, Maringá, v. 29, n.4, p. 535-540, 2007.

ARAÚJO, F. F.; MUNHOZ, R. E. V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculados com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 6, p.435-443, jun.1996.

ARAÚJO, J. L. S.; STRALIOTTO, R.; FRANCO, A. A. Seleção de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para fixação biológica de nitrogênio em condições de temperaturas elevadas. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1993. p. 136.

ARAÚJO, F. F. et al. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, 2007.

ARF, O. et al. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 131-138, fev. 2004.

ARF, O. et al. Mecanismos de abertura do sulco e adubação nitrogenada no cultivo do feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 499-506, 2008.

BASSAN, D. A. Z. et al. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijoeiro de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 76-83, 2001.

BINOTTI, F. F. S. **Manejo do nitrogênio no feijoeiro de inverno em sucessão a milho e *Brachiaria* em sistema de plantio direto**. 2009. 178 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Sistemas de Produção) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

BLISS, F. A. Breeding common bean for improvement of biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p.71-79, Mar. 1993.

BRANDES, D. **Análise de crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), efeito da densidade e da época de plantio**. 1971. 109 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 12 de nov. 2010. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 nov. 2010. Disponível em:
<http://www.fiscolex.com.br/doc_13261309_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_12_DE_NOVEMBRO_DE_2010.aspx>. Acesso em: 25 mar. 2011.

CARNEIRO, J. E. S. et al. Ouro vermelho: nova cultivar de feijão vermelho para Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISAS EM FEIJÃO, 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. Disponível em:
<<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/conafe2005-0208.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2011.

CARVALHO, E. G. et al. Efeito de nitrogênio, molibdênio e inoculação das sementes em feijoeiro na região de Selvíria, MS (I): produção de sementes. **Científica**, São Paulo, v. 26, n. 1/2, p. 45- 58, 1998.

CHUEIRE, L. M. O. et al. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p. 833-840, set./out. 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos, décimo levantamento, julho 2010. Brasília, 2010. Disponível em:
<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3graos_09.12.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2011.

COSTA, J. G. C.; SHIBATA, J. K.; COLIN, S. M. Plasticidade no feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 159-167, fev. 1983.

DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, London, v. 210, n. 5038, p. 850-852, May 1966.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 385 p.

DUQUE, F. F. et al. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of the N₂ fixation using 15N. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 88, n. 3, p. 333-343, Oct. 1985.

FARIA, L. C. et al. **BRS Radiante**: nova cultivar precoce de feijoeiro comum com tipo de grão rajado. Santo Antonio do Goiás: Embrapa Arroz Feijão, 2002. (Comunicado Técnico, 45).

FARINELLI, R. et al. Adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro, em plantio direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 307-312, fev. 2006.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. Etapas de desarrollo en plant de frijol. In: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F.; SCHOONHOVEN, A. (Ed.) **Frijol**: Investigación y producción. Bogota: CIAT, 1985. p. 61-78.

FERREIRA, A.N. et al. Estirpes de rhizobium tropici na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 507-512, jul./set. 2000.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, P. A. A. **Eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijoeiro e sua tolerância a acidez e alumínio “in vitro”**. 2008. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FERREIRA, P. A. A. et al. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from Amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, 2011. No prelo.

FERREIRA, P. A. A. et al. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2210-2212, out. 2009.

FLORES, M. et al. Genomic instability in *Rhizobium phaseoli*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 170, n. 3, p. 1191-1196, Mar. 1988.

FRANCO, M. C. et al.. Nodulation in divergent common bean accessions. I. Selection of parental types for genetic analysis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. **Programme and Abstracts...**Viçosa, MG: JARD, 1995. p. 147.

FRED, E. B.; BALDWIN, I.L; MCCOY, E. **Root nodule bacteria of leguminous plants**. Madison: The University of Wisconsin, 1932. 343p.

GOULART, L. S.; BALDANI, J. I. Efeito do choque térmico na expressão de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium tropici*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos...**Londrina: IAPAR, 1993. p. 133.

HAFEEZ, F. Y. et al. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* isolated from agriculture soils in Faisalabad. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 142-147, Sept. 2005.

HERRIDGE, D. F.; DANSO, S. K. A. Enhancing crop legume N₂ fixation through selection and breeding. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 174, n. 1/2, p. 51-82, July 1995.

HUNGRIA, M. et al. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 11/12, p. 1515-1528, Oct. 2000.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen fixation and transport in *P. vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 103, n. 1, p. 111-121, Mar. 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p.151-164, Mar. 2000.

JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. D. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: W. and Wilkins, 1984. v. 1. p. 234-244.

KANEKO, F. H. et al. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p.125-133, 2010.

KIPE-NOLT, J. A.; VARGAS, H.; GILLER, K. E. Nitrogen fixation in breeding lines of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 103-106, Mar. 1993.

LANNA, A. C.; SILVA, O. F.; BARRIGOSI, J. A. F. **Impactos ambiental e econômico da cultivar de feijão BRS valente**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz, Feijão, 2005. (Comunicado Técnico, 107).

LEMOS, L. B. et al. Características agronômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 4, p. 319-326, abr. 2004.

LEMOS, L. B. et al. Inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada em genótipos de feijoeiro. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 26-31, 2003.

LOPES et al. **Sistema de plantio direto**: bases para o manejo da fertilidade do solo. São Paulo: Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2004.

LOPES, N. F. et al. Crescimento, morfologia, partição de assimilados e produção de matéria seca do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetido a três níveis de densidade do fluxo radiante. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 30, p. 451-462, 1983.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARTINEZ-ROMERO, E. et al. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 41, n. 3, p. 417-426, July 1991.

MCFERSON, J. R. **Genetic and breeding studies of dinitrogen fixation in common beans (*P. vulgaris* L.)**. 1983. 146p. These (Doctorado) – University of Wisconsin, Madison, 1983.

MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.30, n. 2, p.235-246, mar./abr. 2006.

MENDES, L. C. et al. Eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 18, n. 3, p. 421-425, 1994.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOSTASSO, L. et al. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 73, n.2-3, p. 121-132, Jan. 2002.

NASCENTE, A. S. et al. **Cultivares de feijoeiro comum da Embrapa indicadas para o Estado do Paraná**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2006. 2 p. (Comunicado Técnico, 128).

NASCIMENTO, M. S.; ARF, O.; SILVA, M. G. Resposta do feijoeiro à aplicação de nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar. **Acta Scientiarum: agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 153-159, 2004.

NOGUEIRA, C. O. G. **Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas que nodulam o feijoeiro-comum em Formiga-MG**. 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

NUTMAN, P. S. Varietal differences in the nodulation subterranean clover. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 18, n. 2, p. 381-425, 1967.

OLIVEIRA, C. A. et al. Efeito da temperatura sobre a fixação de N₂ do feijoeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu, 1998. **Resumos...** Caxambu: UFLA, 1998. p. 181.

OLIVEIRA, L. A.; GRAHAM, P. H. Evaluation of strain competitiveness in + - *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* using a nod fix natural mutant. **Archives in Microbiology**, Berlin, v. 153, n. 4, p. 305-310, Mar. 1990.

PAULA JÚNIOR, T. J. (Coord.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. Viçosa, MG: Epamig-CTZM, 2008 180 p. (Documentos, 42).

PAULA JÚNIOR, T. J. (Coord.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. Viçosa, MG: Epamig-CTZM, 2008 180 p. (Documentos, 42).

PELEGRIN, R. et al. Desposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 219-226, jan. 2009.

PELEGRIN, R. et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 219-226, fev. 2009.

PERES, J. R. R. et al. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 18, p. 415-420, 1994.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: Fealq, 2009. 451p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2008. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 15 nov. 2010.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2.. Ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 415-36.

RAPOSEIRAS, R. et al. Variabilidade de colônias isoladas de estirpes de *Rhizobium* efetivas na nodulação do feijoeiro, antes e após exposição à temperatura elevada. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu. **Resumos...** Caxambu:UFLA, 1998. p. 208.

RIBEIRO, A. C. et al. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5^a aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999.

ROMANINI JÚNIOR, A. et al. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 74-82, Oct./Dec. 2007.

SANTINI, A. L. et al. Adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro em plantio convencional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1079-1085, 2006.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Esalq/Usp, 1979. 27p.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P. W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 43, n. 2, p. 374-377, Apr. 1993.

SILVEIRA, P. M.; DAMASCENO, M. A. Doses e parcelamento de K e de N na cultura do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1269-1276, nov. 1993.

SILVEIRA, P. M.; STONE, L. F. **Irrigação do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa arroz e feijão, 2001.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG) (II): feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 803-811, set./out. 2006.

SOBERÓN-CHAVES, G. et al. Genetic rearrangements of a *Rhizobium phaseoli* symbiotic plasmid. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v. 167, n. 2, p. 487-491, Aug. 1986.

SORATTO, R. P. et al. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 211-218, 2005.

SOUZA, E. F. C. **Adubação nitrogenada e inoculação com rizóbio no feijoeiro em sucessão ao milho consorciado com braquiárias no sistema plantio direto**. 2010. 50f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010.

STOCCO, P. et al. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1107-1120, maio 2008.

STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Brasília: Embrapa, 2002. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicações/artigos/fbnl_inocula_feijoeiro.html>. Acesso em: 9 maio 2011.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M. G.; MERCANTE, F. M. Fixação simbiótica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. **Produção de feijoeiro-comum em várzeas tropicais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz, Feijão, 2002. p. 122-153.

STREIT, W. et al. Competition for nodule occupancy on *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici* strains can be efficiently monitored in a ultisol during early stages of growth using a constitutive GUS gene fusion. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 8, p. 1075-1081, Aug. 1995.

TEIXEIRA, C. M. **Diferentes palhadas e doses de nitrogênio no plantio direto do feijoeiro**. 2004. 89p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

THIES, J. E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. Environmental effects on competition for nodule occupancy between introduced and indigenous rhizobia and among introduced strains. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 6, p. 493-500, Jun. 1992.

VARGAS, A. A. T.; GRAHAM, P. H. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. **Plant and Soil**, The Hague, v. 117, n. 2, p. 195-200, July 1989.

VARGAS, M. A. T. et al. Resposta do feijoeiro à inoculação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, em condições de cerrado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4., 1993, Londrina. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1993. p. 126.

VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BOREM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. atual. Viçosa: UFV, 2006. p. 115-142.

VIEIRA, N. M. B. et al. Comportamento dos genótipos de feijoeiro em relação à adubação com nitrogênio mineral e inoculação com rizóbio. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 57-61, mar. 2005.

VINCENT, J. M. **A manual for the practica study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. (International Biological Programme Handbook, 15).

VLASSAK, K.; VANDERLEYDEN, J.; FRANCO, A. A. Competition and persistence of *Rhizobium tropici* and *Rhizobium etli* in a tropical soil during successive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultures. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 21, n. 1/2, p. 61-68, 1996.

WOLFF, A.B. et al. Competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* strains in relation to environmental stress and plant defense mechanisms. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 12, n. 3, p. 170-176, 1991.