



MÁRCIA RUFINI

**EFICIÊNCIA DE ESTIRPES DE *Bradyrhizobium*
spp. EM SIMBIOSE COM GUANDU cvs Fava-
Larga E Anão EM CONDIÇÕES DIVERSAS**

LAVRAS – MG

2014

MÁRCIA RUFINI

**EFICIÊNCIA DE ESTIRPES DE *Bradyrhizobium* spp. EM SIMBIOSE
COM GUANDU cvs Fava-Larga E Anão EM CONDIÇÕES DIVERSAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Fatima Maria de Souza Moreira

Coorientador

Dr. Messias José Bastos de Andrade

LAVRAS - MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Rufini, Márcia.

Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em simbiose com
guandu cvs fava-larga e anão em condições diversas / Márcia Rufini.
– Lavras : UFLA, 2013.

78 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Fatima Maria de Souza Moreira.

Bibliografia.

1. *Cajanus cajan* - Inoculante. 2. *Cajanus cajan* - Fixação
biológica de N₂. 3. *Cajanus cajan* - Seleção. 4. Agricultura. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.6568947

MÁRCIA RUFINI

**EFICIÊNCIA DE ESTIRPES DE *Bradyrhizobium* spp. EM SIMBIOSE
COM GUANDU cvs Fava-Larga E Anão EM CONDIÇÕES DIVERSAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 06 de setembro de 2013.

Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Dr. Ederson da Conceição Jesus	EMBRAPA
Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro	UFLA
Dr. Orivaldo José Saggin Junior	EMBRAPA

Dra. Fatima Maria de Souza Moreira
Orientadora

Dr. Messias José Bastos de Andrade
Coorientador

LAVRAS – MG

2013

*A Deus,
por seu amor incondicional, por iluminar meus caminhos e conceder sabedoria
para superar os momentos de dificuldade e gozar dos momentos alegres.*

OFEREÇO

*Aos meus queridos pais, Ana Maria e Bruno José, por todo apoio, incentivo,
ensinamentos, conselhos e amor a mim dedicados.*

*Aos meus irmãos, Silvia, Bruno (em memória) e Ana Luiza; meus sobrinhos,
Isabela, João Pedro e Maria Cecília, e a Alana, por toda compreensão, amizade
e incentivo ao longo desta jornada.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade de cursar o doutorado.

À professora Fatima Maria de Souza Moreira, pela orientação, paciência, oportunidades concedidas e pelos ensinamentos passados.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos, e a FAPEMIG e a CAPES pelo apoio financeiro.

Ao projeto CNPq/MAPA, “Avaliação da eficiência de inoculantes microbianos de leguminosas em regiões inexploradas e de métodos para seu controle de qualidade e inspeção visando à expansão de seu uso na agricultura brasileira”, pelo financiamento para a execução deste trabalho.

Ao professor Messias José Bastos de Andrade, pelo apoio, ensinamentos e a coorientação neste trabalho.

Aos demais membros da banca examinadora, professores e pesquisadores Adriano T. Bruzi, Ederson da C. Jesus, Marco Aurélio C. Carneiro e Orivaldo J. S. Junior.

Aos funcionários Marlene Aparecida de Souza e Manuel Aparecido da Silva, pela paciência e valiosa contribuição na execução das análises.

A todos os professores, funcionários, amigos e colegas do Departamento de Ciência do Solo e do Departamento de Agricultura, pelo apoio, disponibilidade e a agradável convivência.

Aos amigos e colegas do Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo que, de alguma forma, sempre estiveram dispostos a discutir dúvidas e pontos de vista, além da grande ajuda e auxílios nos momentos mais difíceis.

A todos os amigos.

Muito obrigada!!!

RESUMO GERAL

O guandu [*Cajanus cajan* (L) Millsp.] é uma importante fonte de proteína e ocupa o quinto lugar em importância alimentar entre as leguminosas de grãos, sendo a Índia o maior produtor. Apresenta grande diversidade de uso, como alimentação, forragem, adubação verde e fitorremediação, entre outros. Além disso, o guandu é capaz de formar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em duas cultivares de guandu (cv. Anão Iapar 43-Aratã e cv. IAC Fava-Larga), e em diferentes condições. Os experimentos foram conduzidos em vaso Leonard, vaso com solo e em campo. Em vaso Leonard foram testadas 11 estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium*, aprovadas como inoculante para outras culturas ou em fase de seleção. As estirpes que apresentaram maior eficiência em promover o crescimento do guandu em vaso Leonard foram levadas para experimentos em vaso com solo (Latosolo vermelho amarelo e Cambissolo) e campo. Em todos os experimentos, os tratamentos foram comparados a dois controles positivos (estirpes aprovadas como inoculante para o guandu, BR2003 e BR2801) e duas testemunhas sem inoculação, sendo uma com alta concentração de nitrogênio mineral e a outra, dependendo do experimento, sem N mineral (solo) ou com baixa concentração (vaso Leonard). No ensaio com vaso Leonard, algumas estirpes testadas proporcionaram crescimento vegetal semelhante ou superior ao das estirpes referência e superior ao das testemunhas. No ensaio em vaso com solo, o tipo de solo interferiu nos tratamentos, em que o solo com menor pH (Cambissolo) apresentou os menores valores. Nos vasos que receberam o Latossolo vermelho amarelo, a resposta à inoculação foi maior, já que não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a testemunha que recebeu N. No campo não houve diferença entre os tratamentos testados. Estes resultados indicam que o guandu é capaz de estabelecer uma associação simbiótica com algumas das estirpes testadas, fornecendo todo o nitrogênio requerido pela cultura. Entre estas existem novas estirpes que, portanto, apresentam potencial para serem aprovadas como inoculante para a cultura.

Palavras-chave: *Cajanus cajan*. Inoculante. Fixação biológica de N₂. Seleção. Agricultura.

GENERAL ABSTRACT

The pigeonpea [*Cajanus cajan* (L) Millsp.] is an important source of protein and ranks fifth in importance food among grain legumes, with India being the largest producer. It presents great use diversity, such as food, forage, green manure, phytoremediation, among others. Furthermore, the pigeonpea is capable of forming symbiosis with nitrogen-fixing bacteria. The objective of this study was to evaluate the symbiotic efficiency of nitrogen-fixing bacterial strains in two pigeonpea cultivars (cv. Anão Iapar 43-Aratã and cv. IAC Fava-Larga) at different conditions. The experiments were conducted in Leonard jars, pots with soil and in field. In Leonard jars 11 nitrogen-fixing bacterial strains of the *Bradyrhizobium* genus, approved as inoculant for other crops or under selection were tested. Strains that showed higher efficiency in promoting the pigeonpea growth in Leonard jars were taken for testing in pots with soil (Latosol Red-yellow and Cambisol) and in field. In all experiments, treatments were compared to two positive controls (strains approved as inoculant for pigeonpea, BR2003 and BR2801) and two controls without inoculation, one with a high concentration of mineral nitrogen and the other, depending on the experiment without mineral N (soil) or low N concentration (Leonard jars). In the experiment with Leonard jars, some strains tested provided plant growth similar or superior to the reference strains, and superior to the controls. In the experiment in pots with soil, the soil type interfered in treatments where the soil with lower pH (Cambisol) had the lowest values. In pots that received the Latosol Red-yellow, the response to inoculation was greater, since there was no difference between inoculated treatments and the control that received N. In the field there was no difference among the treatments tested. These results indicated that the pigeonpea is capable of establishing a symbiotic association with some of the strains tested, providing all nitrogen required by the culture. Among these there are new strains that, therefore, have the potential to be adopted as inoculant for the culture.

Keywords: *Cajanus cajan*. Inoculant. Biological fixation of N₂. Selection. Agriculture.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9
1	INTRODUÇÃO GERAL	9
2	REFERENCIAL TEORICO	11
2.1	Guandu	11
2.2	Nitrogênio	13
2.3	Fixação biológica de nitrogênio	14
2.4	Seleção de isolados quanto à eficiência simbiótica	17
	REFERÊNCIAS	20
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	26
	ARTIGO 1 Eficiência de estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. em simbiose com guandu cv. Anão em casa de vegetação e no campo....	26
	ARTIGO 2 Eficiência de estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. em simbiose com guandu cv. Fava-Larga em condições diversas	54

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente, a aplicação de fertilizantes nitrogenados tem alcançado níveis cada vez maiores, ocasionando elevação de preços e, conseqüentemente, dos custos de produção, o que torna seu uso restrito não só para pequenos e médios produtores, mas também para os grandes. Uma alternativa é o aumento da contribuição dos processos biológicos, entre eles a fixação biológica de nitrogênio (FBN), que diminui os custos na produção e os prejuízos ao meio ambiente.

Dentre os grupos de microrganismos fixadores de nitrogênio que estabelecem simbioses com plantas, as bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas (BFNN) em leguminosas certamente se destacam por sua importância econômica, que está relacionada não só à ampla distribuição geográfica e à utilização dos hospedeiros, como também à maior eficiência do processo decorrente de uma parceria vegetal e microrganismo mais evoluída (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A exploração de leguminosas capazes de formar simbiose permite que as bactérias fixadoras de N_2 (bactérias diazotróficas) absorvam este elemento do ar, transformando-o em amônia que será incorporada a aminoácidos ou outros compostos e que, assim, podem ser utilizados na nutrição nitrogenada da planta. A tecnologia da inoculação de BFNN em sementes de leguminosas é muito significativa, uma vez que as aplicações de fertilizantes nitrogenados podem ser reduzidas ou dispensadas, como no caso da soja, podendo, além de aumentar a produtividade e reduzir o custo de produção, economizar combustíveis fósseis, reduzir a poluição do solo, da água e da atmosfera, e contribuir para a sustentabilidade na agricultura.

A eficiência das BFNN em leguminosas e sua capacidade de sobreviver e formar nódulos no solo dependem dos fatores genéticos ligados aos simbiontes, e também da interação com fatores edáficos e climáticos. Assim, o processo de seleção de novas estirpes eficientes em nodular e fixar o N₂, em diferentes condições, é de grande importância.

O guandu é uma cultura de importância alimentar e constitui importante fonte de proteína na dieta de muitas populações, especialmente no norte e no nordeste brasileiro. É uma planta extremamente rústica, tolerante a altas temperaturas, à seca e à baixa fertilidade do solo, e tem a capacidade de se associar com BFNN, recebendo maior parte do nitrogênio para seu completo desenvolvimento por meio da FBN. Apesar disso, poucos estudos foram realizados, no Brasil, com esta espécie, principalmente com relação à utilização da FBN nos sistemas de produção. Resultados de pesquisa mostram que a cultura do guandu pode se beneficiar da FBN (LA FAVRE; FOCHT, 1983) e um dos grandes desafios é obter um manejo adequado dessa simbiose, aumentando sua eficiência. Dessa forma, é uma cultura que pode ser mais bem explorada em locais onde seu uso ainda é limitado, selecionando estirpes mais adaptadas para cada região.

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar estirpes de BFNN, pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* e eficientes em fixar N₂ em outras espécies de leguminosas, com relação à eficiência simbiótica em diferentes cultivares de guandu e em diferentes condições, buscando otimizar o uso de inoculantes.

Este trabalho é parte integrante do projeto *Avaliação da eficiência de inoculantes microbianos de leguminosas em regiões inexploradas e de métodos para seu controle de qualidade e inspeção visando à expansão de seu uso na agricultura brasileira*, aprovado pelo CNPq/MAPA, edital 64/2008.

2 REFERENCIAL TEORICO

2.1 Guandu

O guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae e subtribo Cajaninae. Conhecida também como guandu, andu, feijão-andu, guando, feijão-guando, esta cultura tem como centro de origem e diversidade genética a Índia (PROVAZI et al., 2007) e tem grande importância agrícola em países da Ásia, da África e da América Latina. No Brasil, foi demonstrado, em estudos, que esta leguminosa foi introduzida através das rotas dos escravos oriundos da África e tornou-se largamente distribuída e seminaturalizada na região tropical (SEIFFERT; THIAGO, 1983).

A planta de guandu é arbustiva, ereta, atingindo de 0,5 m a 4 m de altura, dependendo da cultivar. O sistema radicular é forte, com raiz principal profunda e pivotante que, em determinadas condições, pode atingir 2 m, e raízes laterais bem desenvolvidas na camada mais superficial do solo. É de fácil adaptação em solos com baixa fertilidade e tem ciclo vegetativo anual ou perene de vida curta.

É uma das espécies de leguminosas mais amplamente cultivadas em países tropicais e subtropicais, ocupando o quinto lugar em importância alimentar entre as leguminosas de grãos (HAAG, 1986). Globalmente, o guandu é cultivado em 5,32 milhões de hectares, com produção anual de 4,33 milhões de toneladas e produtividade média de 1.354,9 kg.ha⁻¹ (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2013). Os principais países produtores são Índia, Mianmar, Tanzânia, Malawi, Quênia e Uganda. Atualmente, com 3,86 milhões de ha cultivados, destaca-se a Índia como maior produtor, totalizando 73% da produção mundial. Sharma (1981) afirma que, na Índia, o guandu é a leguminosa mais importante, depois do grão de bico.

Plantas de guandu podem ser empregadas para diversos fins, como melhoradoras de solo e adubo verde (ALCÂNTARA et al., 2000; CARVALHO et al., 2004; HEINRICHS et al., 2005; RODRIGUES FILHO et al., 1996), tanto em rotação quanto em associação com outras culturas (inclusive com gramíneas em pastagens); como cultura intercalar com outras culturas perenes (SOUZA et al., 2007); na alimentação animal (nas formas de banco de proteínas, feno, silagem, pastejo direto, grãos e farelo) (COSTA et al., 2001; LOURENÇO; DELISTOIANOV, 1993; MIZUBUTI et al., 1995; SOUZA et al., 2007) e na alimentação humana, como grãos secos ou verdes, vagens e farelo (BARCELOS et al., 1999; CANNIATTI-BRAZACA et al., 1996; MIZUBUTI et al., 2000; SOUZA et al., 2007); na recuperação de áreas degradadas (BELTRAME; RODRIGUES, 2007; FARIA; CAMPELLO, 2000) e como planta fitorremediadora (PIRES et al., 2003, 2006). No Brasil, é frequentemente cultivada em associação com outras culturas, em áreas não irrigadas de agricultura de subsistência de regiões semiáridas, onde é utilizada na alimentação humana e na alimentação animal (SOUZA et al., 2007).

Essa leguminosa tem elevado valor nutritivo (20% a 25% de proteína), adaptação a solos salinos e de baixa fertilidade, e é resistente à baixa precipitação pluviométrica e a altas temperaturas, se tornando uma opção para a região nordeste do Brasil (PAZ et al., 2000; SEIFFERT et al., 1988). Essa resistência a altas temperaturas e a condições de seca possibilita a produção de forragem não só nas épocas de chuva, mas também no período seco, quando grande parte das forrageiras tem o crescimento limitado. A faixa de pH do solo à qual o guandu é adaptado também é ampla, entre 5 e 8; entretanto, seu melhor desenvolvimento ocorre em solos com pH próximo da neutralidade (SOUZA et al., 2007). Além disso, tem a capacidade de se associar com BFNN, recebendo a maior parte do nitrogênio para seu completo desenvolvimento por meio da FBN (ESPAÑÃ; CABRERA BISBAL; LÓPEZ, 2006; FERNANDES; FERNANDES, 2000;

FERNANDES; FERNANDES; HUNGRIA, 2003; FERNANDES-JUNIOR, 2009; LA FAVRE; FOCHT, 1983; MOREIRA et al., 2003; SANGINGA et al., 1996; VALARINI; GODOY, 1994).

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um dos principais nutrientes para o desenvolvimento das plantas, fazendo parte de proteínas, ácidos nucleicos e outros constituintes celulares. Embora presente em grande concentração na atmosfera na forma de N_2 (78%), nenhum animal ou vegetal consegue assimilá-lo diretamente, devido à estabilidade da tripla ligação existente entre os dois átomos. No solo, apenas de 2% a 3% do N total são mineralizados e esta fração ainda está sujeita a perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação, além da imobilização e adsorção (CANTARELLA, 2007; REIS et al., 2006). Por isso, o N se torna um fator limitante para a produção agrícola.

As principais fontes pelas quais as plantas podem obter o nitrogênio são a matéria orgânica do solo, os fertilizantes nitrogenados ou a FBN. A produção de fertilizantes nitrogenados é feita a partir do N atmosférico e fontes energéticas não renováveis. Além disso, esses insumos têm baixa eficiência de assimilação (máximo 50%) devido a perdas causadas por práticas culturais inadequadas e processos como lixiviação, desnitrificação e volatilização do NH_3 (CANTARELLA, 2007). Assim, o uso de fertilizantes nitrogenados de maneira intensiva e inadequada pode acarretar sérios problemas de degradação ambiental e, conseqüentemente, queda na produtividade, além de serem muito caros para os produtores, representando de 5% a 20% do custo de produção (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O reservatório de N presente na matéria orgânica do solo é limitado e pode se esgotar na ocorrência de cultivos sucessivos, resultando em solos com

baixos teores de N, o que afeta a produtividade agrícola. Isso ocorre devido aos processos de decomposição da matéria orgânica do solo e ao fato de as perdas de N serem aceleradas em condições de temperatura e umidade que predominam no território brasileiro.

A FBN desempenha papel importante no aporte de N nos sistemas agrícolas, contribuindo com a maior parte do N no solo, principalmente em sistemas com leguminosas (CANTARELLA, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes fatores, portanto, justificam o estudo e a exploração de leguminosas capazes de se associarem à BFNN.

2.3 Fixação biológica de nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é mediada por uma parcela dos procariontes, conhecidos como bactérias fixadoras de nitrogênio que podem viver em simbioses com plantas hospedeiras, livremente no solo ou em associações (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estes microrganismos, por meio da enzima nitrogenase, reduzem o nitrogênio atmosférico (N_2) para a forma inorgânica combinada NH_3 , que poderá ser absorvida pelas plantas e/ou microrganismos.

Em leguminosas, as bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas (BFNN) interagem com o sistema radicular da planta hospedeira, por meio do desenvolvimento de estruturas hipertróficas denominadas nódulos, onde ocorre a fixação do nitrogênio atmosférico. Esta interação caracteriza-se por uma simbiose, em que a BFNN é beneficiada pelo suprimento de fotossintatos fornecido pela planta hospedeira, a qual recebe o N fixado pela BFNN na forma amoniacal, por meio da enzima nitrogenase.

A simbiose leguminosa-BFNN é de grande importância econômica e ambiental, não só pela ampla distribuição geográfica e utilização das leguminosas, mas também pela maior eficiência do processo, decorrente de uma

parceria vegetal e microrganismo mais evoluída. A maioria das espécies leguminosas de importância econômica é capaz de nodular e fixar N_2 em condições mínimas de nitrogênio no solo. Esse processo pode aumentar a produtividade, reduzir o custo de produção, economizar combustíveis fósseis e reduzir a poluição do solo, água e atmosfera, contribuindo para a sustentabilidade na agricultura.

As leguminosas podem ser utilizadas na alimentação humana, animal e podem servir de cobertura e fonte de matéria orgânica para o solo, além da fixação de N_2 , assumindo grande importância na agricultura. De acordo com Moreira (1994), a simbiose entre leguminosas e BFNN pode dispensar, total ou parcialmente, a adubação nitrogenada e, além disso, contribuir para o desenvolvimento de outras espécies consorciadas ou em sucessão.

No Brasil, a soja [(*Glycine max* L. (Meril.)] é um exemplo de sucesso dessa interação, na qual o melhoramento vegetal da soja direcionado para maior contribuição da FBN e os diversos trabalhos de seleção de BFNN adaptados às condições dos solos brasileiros levaram a uma eficiente simbiose que proporciona uma economia, em fertilizantes nitrogenados, de bilhões de dólares anuais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A expansão do uso de leguminosas inoculadas com BFNN representa uma ferramenta importante para o aumento da produção agrícola, florestal e pastoril brasileira, não só de leguminosas, mas também de espécies não leguminosas em sistemas nos quais elas estejam associadas.

Assim como o feijoeiro-comum e o caupi, o guandu apresenta a capacidade de desenvolver nódulos com um grande número de BFNN, sendo considerado uma leguminosa promíscua, capaz de nodular com BFNN de crescimento lento e rápido (ANAND; DOGRA, 1991; BROMFIELD; KUMAR RAO, 1983). Apesar disso, o guandu tem duas estirpes de BFNN, ambas pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*, aprovadas como inoculante pelo

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que são a BR 2003 (SEMIA 6156) e a BR 2801 (SEMIA 6157) (BRASIL, 2011). A estirpe BR 2003 foi isolada de estilosantes, enquanto a estirpe BR 2801 foi isolada de crotalária.

Anand e Dogra (1997), ao avaliarem a eficiência de diferentes estirpes de *Rhizobium* spp. e *Bradyrhizobium* spp. em cultivares de guandu cultivadas em vasos Leonard modificados, observaram que as estirpes de *Bradyrhizobium* spp. foram superiores a todas as estirpes de *Rhizobium* spp..

Em alguns trabalhos foi mostrado que plantas de guandu associadas às BFNN foram equivalentes ou superiores às plantas que receberam adubação com N mineral (FERNANDES; FERNANDES, 2000; FERNANDES-JUNIOR, 2009; VALARINI; GODOY, 1994). La Favre e Focht (1983) observaram que mais de 90% do nitrogênio da planta eram provenientes da FBN. Sanginga et al. (1996) observaram que, dos 113 kg de N.ha⁻¹, 77% eram derivados da FBN (86 kg de N.ha⁻¹). Poth, La Favre e Focht (1986) estimaram, por meio de diluição isotópica de ¹⁵N, que a quantidade de N fixado biologicamente e efetivamente incorporado ao solo pelo guandu variou de 144 a 179 kg.ha⁻¹, dependendo da estirpe de BFNN utilizada.

Os resultados obtidos por Espanã, Cabrera Bisbal e López (2006) indicam que o guandu tem potencial para ser utilizado como leguminosa de grãos em sistemas de rotação em solo ácido, promovendo a sustentabilidade de agrossistemas devido à sua alta eficiência de fixação do N₂ e baixo índice de colheita de N, contribuindo, assim, para um balanço de N positivo.

Valarini e Godoy (1994) destacaram que diferentes cultivares de guandu podem apresentar alterações na nodulação quando inoculadas com diferentes estirpes de BFNN. Diferentes tipos de solo, além da estação e do ciclo da cultivar, também podem interferir na resposta da planta à FBN (BIDLACK; RAO; DEMEZAS, 2001; HERRIDGE; HOLLAND, 1993; MAPFUMO; MPEPEREKI;

MAFONGOYA, 2000; NUNES et al., 2009). Isso ressalta a importância da seleção de estirpes nodulantes capazes de se associar a esta espécie vegetal.

O uso de inoculantes inespecíficos e com bactérias que apresentem baixa capacidade competitiva pode não alcançar os resultados almejados para a nodulação, a fixação de nitrogênio e a produtividade da cultura em diferentes localidades (FERNANDES-JUNIOR, 2009). Assim, torna-se fundamental selecionar estirpes eficientes específicas da espécie vegetal alvo e adaptadas a condições edáficas e climáticas regionais.

2.4 Seleção de isolados quanto à eficiência simbiótica

A população nativa do solo de BFNN nem sempre é capaz de estabelecer uma simbiose mutualista com o hospedeiro cultivado, o que torna indispensável a prática da inoculação de estirpes selecionadas para a espécie vegetal de interesse (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A procura por organismos eficientes, que forneçam ou disponibilizem os nutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas, é um passo importante que antecede a recomendação de estirpes inoculantes para uma determinada cultura.

A seleção de estirpes que combinem habilidade na fixação de nitrogênio, adaptação a condições edáficas e climáticas e alta competição por sítios de infecção nodulares é importante para a produção de inoculantes. O melhor conhecimento das comunidades de BFNN será importante para o desenvolvimento de estratégias que visem otimizar a contribuição da FBN em diferentes condições edáficas e climáticas.

O processo de seleção de estirpes para determinada espécie vegetal envolve, de modo geral, quatro etapas. Na primeira, em condições ótimas e controladas de temperatura, luminosidade, umidade e nutrientes, é verificada a capacidade de nodular e fixar nitrogênio de um número elevado de isolados,

testados separadamente em recipientes menores (tubos, sacos plásticos ou frascos de vidro autoclavável) com solução nutritiva livre de N mineral, com ou sem ágar, em condições estéreis. Na segunda etapa, em casa de vegetação, as estirpes selecionadas são testadas em recipientes maiores com solução nutritiva livre de N mineral, contendo ou não mistura de areia e vermiculita (vasos de Leonard) ou outro suporte, esterilizados. Nas etapas seguintes, as estirpes selecionadas são testadas em vasos com solo, em casa de vegetação e, posteriormente, em experimento de campo. Estirpes que não tenham bom desempenho nas etapas iniciais de seleção são eliminadas, pois, se não estabelecem simbiose eficiente em condições nutricionais e ambientais adequadas, também não o farão nas condições mais estressantes do solo. Em todas essas etapas, são adicionados três tratamentos controle que são: 1) sem inoculação; 2) com nitrogênio mineral e 3) com estirpe eficiente previamente selecionada para a espécie (caso exista) e/ou uma reconhecidamente nodulífera na espécie (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Fernandes, Fernandes e Hungria (2000) selecionaram 17 estirpes de BFNN de nódulos de guandu (*Cajanus cajan*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), caupi (*Vigna unguiculata*) e crotalárias (*Crotalaria juncea* e *C. spectabilis*), nos tabuleiros costeiros de Sergipe, e avaliaram a eficiência em guandu, feijão-de-porco e caupi em vasos Leonard. Houve diferenças significativas entre as estirpes de BFNN testadas quanto à capacidade de nodular e promover o crescimento vegetal nas espécies testadas, o que mostra as diferenças entre as estirpes em promover benefícios a plantas hospedeiras diferentes.

Nem sempre organismos fixadores selecionados em laboratório e em casa de vegetação alcançam, necessariamente, seu máximo potencial no campo, devido, entre outros fatores, à baixa competitividade com estirpes nativas ou à falta de adaptação às condições ambientais locais.

Características desejáveis em uma estirpe de BFNN utilizada em inoculantes comerciais devem incluir habilidade em formar nódulos e fixar nitrogênio (N) na espécie-alvo; fixar N numa ampla faixa de genótipos de hospedeiros; crescer bem em meio artificial no veículo do inoculante e no solo; estabilidade genética; baixa mortalidade na semente; compatibilidade com agroquímicos; competitividade com estirpes nativas por sítios de nodulação; colonização da rizosfera do hospedeiro; habilidade de migrar de um sítio inicial de inoculação; fixar N numa ampla faixa de condições ambientais; formar nódulos e fixar N na presença de N combinado no solo; tolerar estresses ambientais; persistir no solo e colonizar o solo na ausência do hospedeiro (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Diversos fatores, como temperatura, acidez do solo, teores de nutrientes (principalmente Ca e P) no solo, instabilidade genética dos microsimbiontes e cultivares não adequadas, podem influenciar a FBN (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A acidez do solo é um dos principais fatores limitantes ao processo de FBN, afetando a BFNN, o hospedeiro e o próprio processo simbiótico (VARGAS; GRAHAM, 1998).

Até o momento, houve pouca difusão da tecnologia de inoculação para outras espécies leguminosas que não a soja, o que as tornou relativamente pouco testadas em ampla faixa de condições. Isso permite que novas estirpes eficientes e adaptadas para condições locais possam ainda ser selecionadas, uma vez que a diversidade de condições edáficas e climáticas existentes no Brasil pode requerer estirpes adaptadas específicas.

Dessa forma, pesquisas estão sendo desenvolvidas com o objetivo de selecionar estirpes eficientes que potencializem a FBN, visando maior aproveitamento do processo em diversas leguminosas e condições edafoclimáticas, ampliando o uso dessa biotecnologia na agricultura.

REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, F. A. et al. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo vermelho-escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 277-288, fev. 2000.

ANAND, R. C.; DOGRA, R. C. Comparative efficiency of *Rhizobium/Bradyrhizobium* spp. strains in nodulating *Cajanus cajan* in relation to characteristic metabolic enzymes. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 283-287, 1997.

ANAND, R. C.; DOGRA, R. C. Physiological and biochemical characteristics of fast and slow-growing *Rhizobium* sp. of pigeon pea (*Cajanus cajan*). **The Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 70, n. 3, p. 197-201, Mar. 1991.

BARCELOS, M. F. P. et al. Aspectos tecnológicos e sensoriais do guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] enlatado em diferentes estádios de maturação. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 73-83, 1999.

BELTRAME, T. P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração de florestas tropicais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 19-28, jan./mar. 2007.

BIDLACK, J. E.; RAO, S. C.; DEMEZAS, D. H. Nodulation, nitrogenase activity, and dry weight of chickpea and pigeon pea cultivars using different *Bradyrhizobium* strains. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 24, n. 3, p. 549-560, 2001.

BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 58, 25 mar. 2011. Disponível em:

<<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=3&data=25/03/2011>>. Acesso em: 10 jun. 2013.

BROMFIELD, E. S. P.; KUMAR RAO, J. V. D. K. Studies on fast and slow-growing *Rhizobium* spp. nodulating *Cajanus cajan* and *Cicer arietinum*. **Annual of Applied Biology**, Palo Alto, v. 102, p. 485-493, 1983.

CANNIATTI-BRAZACA, S. G. et al. Avaliação nutricional do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 36-41, 1996.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 375-470.

CARVALHO, M. A. C. et al. Soja em sucessão a adubos verdes no sistema de plantio direto e convencional em solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1141-1148, nov. 2004.

COSTA, N. L. et al. **Formação e manejo de pastagens de guandu em Rondônia**. Porto Velho: EMBRAPA Rondônia, 2001. 2 p. (Recomendações Técnicas, 23).

ESPAÑA, M.; CABRERA BISBAL, E.; LÓPEZ, M. Study of nitrogen fixation by tropical legumes in acid soil from venezuelan savannas using ^{15}N . **Interciencia**, Catanduva, v. 31, n. 3, p. 197-201, 2006.

FARIA, S. M.; CAMPELLO, E. F. C. **Algumas espécies de leguminosas fixadoras de nitrogênio recomendadas para revegetação de áreas degradadas**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2000. 8 p. (Recomendação Técnica, 7).

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.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; HUNGRIA, M. Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 835-842, jul. 2003.

FERNANDES JÚNIOR, P. I. **Caracterização fenotípica e produção de biopolímeros por bactérias isoladas de nódulos de Guandu [*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.]**. 2009. 167 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 29 nov. 2013.

HAAG, H. P. O guandu como planta forrageira. In: _____. **Forragens na seca: algaroba, guandu e palma forrageira**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 25-104.

HEINRICH, R. et al. Características químicas de solo e rendimento de fômitomassa de adubos verdes e de grãos de milho, decorrentes do cultivo consorciado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 71-79, jan./fev. 2005.

HERRIDGE, D. F.; HOLLAND, J. F. Low nodulation and N₂ fixation limits yield of pigeonpea on alkaline vertisols on northern N.S.W.: effect of iron, rhizobia and plant genotype. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 44, n. 1, p. 137-149, 1993.

LA FAVRE, J. S.; FOCHT, D. D. Comparison of N₂ fixation and yields in *Cajanus cajan* between hydrogenase-positive and hydrogenase-negative rhizobia by *in situ* acetylene reduction assays and direct ¹⁵N partitioning. **Plant Physiology**, Madison, v. 72, p. 971-977, 1983.

LOURENÇO, A. J.; DELISTOIANOV, J. Desempenho de bovinos em pastagem de capim-colonião com acesso ao banco de proteína de guandu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 22, n. 6, p. 902-911, 1993.

MAPFUMO, S.P.; MPEPEREKI, S.; MAFONGOYA, P. Pigeonpea rhizobia prevalence and crop response to inoculation in Zimbabwean smallholder-managed soil. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 36, n. 4, p. 423-434, Out. 2000.

MIZUBUTI, I. Y. et al. Avaliação da utilização de feijão guandu cru moído (*Cajanus cajan*(L) Millsp) sobre os índices indiretos de produtividade de frangos de corte. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 56-63, 1995.

MIZUBUTI, I. Y. et al. Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Archivos Latinoamericano de Nutricion**, Caracas, v. 50, n. 3, p. 274-280, 2000.

MOREIRA, F. M. S. Fixação biológica de nitrogênio em espécies arbóreas. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microorganismo de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 121-150.

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

MOREIRA, V. F. et al. **Produção de biomassa de guandu em função de diferentes densidades e espaçamentos entre sulcos de plantio**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2003. 5 p. (Comunicado Técnico, 57).

NUNES, G. F. O. et al. Tolerância de rizóbios isolados de duas cultivares de guandu à salinidade e a elevadas temperaturas in vitro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBCS, 2009. 1 CD-ROM.

PAZ, L. G. et al. Efeito do nitrogênio e estirpes de *Bradyrhizobium* na fixação do nitrogênio e desenvolvimento do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) cv. Fava Larga. **Revista Científica de Produção Animal**, Areia, v. 2, n. 1, p. 96-106, 2000.

PIRES, F. R. et al. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.

PIRES, F. R. et al. Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de tebuthiuron. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 3, p. 451-458, set./dez. 2003.

POTH, M.; LA FAVRE, J. S.; FOCHT, D. D. Quantification by direct ^{15}N dilution of fixed N_2 incorporation into soil by *Cajanus cajan* (Pigeon pea). **Soil Biology and Biochemistry**, Oklahoma, v. 18, p. 125-127, 1986.

PROVAZI, M. et al. Descrição botânica de linhagens puras selecionadas de guandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 2, p. 328-334, mar./abr. 2007.

REIS, V. M. et al. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2006. p. 153-172.

RODRIGUES FILHO, F. S. O. et al. Adubação verde e orgânica para o cultivo do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 88-93, 1996.

SANGINGA, N. et al. Nodulation and estimation of symbiotic nitrogen fixation by herbaceous and shrub legumes in Guinea savanna in Nigeria. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 441-448, 1996.

SEIFFERT, N. F. et al. O potencial do guandu. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 1, n. 4, p. 18-20, 1988.

SEIFFERT, N. F.; THIAGO, L. R. L. S. **Legumineira**: cultura forrageira para produção de proteína. Campo Grande: EMBRAPA-CNPQC, 1983. 52 p. (Circular Técnica, 13).

SHARMA, D. Intentional adaptation of pigeonpeas. In: INTERNACIONAL WORKSHOP OF PIGEONPEA, 1., 1980, Pantacheru. **Proceedings...** Pantacheru: ICRISAT, 1981. p. 137-146.

SOUZA, F. H. D. et al. **Produção de sementes de guandu**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 2007. 68 p. (Documentos, 69).

VALARINI, M. J.; GODOY, R. Contribuição da fixação simbiótica de nitrogênio na produção do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 500-504, set./dez. 1994.

VARGAS, A. A. T.; GRAHAM, P. H. *Phaseolus vulgaris* variety and *Rhizobium* strain variation in acid-pH tolerance and nodulation under acid conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 19, p. 91-101, 1988.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em simbiose com guandu cv. Anão em casa de vegetação e no campo

Normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

Márcia Rufini⁽¹⁾, Damiâny de Pádua Oliveira⁽²⁾, André Trochman⁽¹⁾, Bruno Lima Soares⁽²⁾, Messias José Bastos de Andrade⁽²⁾, Fatima Maria de Souza Moreira⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência do Solo, Caixa Postal 3037, CEP37200-000, Lavras, MG. E-mail: marciarufini@yahoo.com.br, trochmann@gmail.com, fmoreira@dcs.ufla.br. ⁽²⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 3037, CEP37200-000, Lavras, MG. E-mail: damy_agro84@hotmail.com, brunolsoares@gmail.com, mandrade@dag.ufla.br.

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio, pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*, com guandu cv. Anão. Os experimentos foram conduzidos em vaso Leonard, vaso com solo e campo. Foram testadas 11 estirpes em vaso Leonard e as que apresentaram maior eficiência em promover o crescimento do guandu foram levadas para testes em vaso com solo (Latossolo vermelho-amarelo e Cambissolo) e campo (Latossolo vermelho-amarelo). Em todos os experimentos, os tratamentos foram comparados a dois controles positivos (estirpes aprovadas como inoculante para o guandu, BR2003 e BR2801) e duas testemunhas sem inoculação, sendo uma com alta concentração de nitrogênio mineral e a outra, dependendo do experimento, sem N mineral (solo) ou com baixa concentração de N mineral (vaso Leonard). Algumas estirpes testadas proporcionaram crescimento vegetal semelhante ou superior às estirpes referência e às testemunhas. No ensaio em vaso com solo, o tipo de solo influenciou nos tratamentos. No campo não houve diferença entre os tratamentos testados, sendo que as estirpes nativas promoveram bom crescimento. Estes resultados indicam

que o guandu é capaz de estabelecer associação simbiótica que fornece o nitrogênio requerido para o crescimento vegetal e novas estirpes apresentam potencial para serem recomendadas para a cultura.

Termos para indexação: *Cajanus cajan*, inoculante, fixação biológica de nitrogênio.

Efficiency of strains *Bradyrhizobium* spp. in symbiosis with pigeonpea cv.

Anão in greenhouse and field

Abstract - The objective of this study was to evaluate the symbiotic efficiency of nitrogen-fixing bacterial strains belonging to the genus *Bradyrhizobium*, with pigeonpea cv. Anão. The experiments were conducted in Leonard jars, pot with soil and field. In Leonard jars 11 strains were tested and the ones most effective in promoting the growth of pigeonpea were taken for testing in pots with soil (Latosol Red-Yellow and Cambisol) and in the field (Latosol Red-Yellow). In all experiments, treatments were compared to two positive controls (strains approved as inoculant for pigeonpea, BR2003 and BR2801) and two controls without inoculation, one with a high concentration of mineral nitrogen and the other, depending on the experiment without mineral N (soil) or with low N concentration (Leonard jars). Some strains tested have provided plant growth similar or superior to the reference strains and to control without or with low concentration of mineral N. In the pot experiment with soil, the soil type influenced the treatments. In the field there was no difference among the treatments tested. These results indicate that pigeonpea is able to establish symbiotic association that provides the nitrogen required for plant growth and new strains have the potential to be recommended for the culture.

Index terms: *Cajanus cajan*, inoculants, biological nitrogen fixation

Introdução

O guandu [*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.], originário da África, pertence à família Leguminosae e é uma das principais leguminosas cultivadas em países tropicais e subtropicais. Globalmente, o guandu é cultivado em 5,32 milhões de hectares, com produção anual de 4,33 milhões toneladas e produtividade média de 1.354,9 kg.ha⁻¹ (Faostat, 2012). Atualmente, com 3,86 milhões de ha cultivados, destaca-se a Índia como maior produtora, totalizando 73% da produção mundial, sendo considerada, neste país, a mais importante leguminosa de grãos depois do grão de bico (Scharma, 1981).

Apesar de ocupar o quinto lugar em área e em produção de grãos no mundo, em comparação com outras leguminosas (Haag, 1986), como soja, feijão, ervilha e grão-de-bico, apresenta maior diversidade de uso. Essa cultura pode ser utilizada como melhoradora de solo e adubo verde (Alcântara et al., 2000; Carvalho et al., 2004; Heinrichs et al., 2005); como cultura intercalar com outras culturas perenes (Souza et al., 2007); na alimentação animal (nas formas de banco de proteínas, feno, silagem, pastejo direto, grãos e farelo) (Lourenço & Delistoianov, 1993; Mizubuti et al., 1995); na alimentação humana (grãos secos ou verdes, vagens e farináceos) (Canniatti-Brazaca, et al., 1996; Barcelos et al., 1999; Mizubuti, et al., 2000); na recuperação de áreas degradadas (Beltrame & Rodrigues, 2007) e como planta fitorremediadora (Pires et al., 2006). Seus múltiplos usos e papel na agricultura sustentável o tornam uma importante opção para muitos produtores.

No Brasil, é cultivada em associação com outras culturas, em áreas não irrigadas de agricultura de subsistência de regiões semiáridas, onde é utilizada na alimentação humana e animal (Souza et al., 2007). Essa leguminosa é uma opção para a região nordeste do Brasil pelo seu elevado valor nutritivo, sua capacidade de resistir à baixa precipitação pluviométrica e a adaptação a solos salinos e de baixa fertilidade (Paz et al., 2000). Além disso, tem a capacidade de

se associar com bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas (BFNN), recebendo maior parte do nitrogênio para seu completo desenvolvimento por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Espanã et al., 2006; Fernandes et al., 2003; Fernandes & Fernandes, 2000; Paz et al., 2000; Valarini & Godoy, 1994).

O estudo da FBN, no contexto atual, assume considerável importância econômica e ambiental, pois reduz os custos com fertilizantes nitrogenados e, conseqüentemente, o alto consumo de combustível utilizado na sua fabricação e, ainda, minimiza o impacto ambiental causado pelo uso intensivo e inadequado (Moreira & Siqueira, 2006). Um dos grandes desafios é obter um manejo adequado dessa simbiose, aumentando sua eficiência.

Poth et al. (1986) estimaram, por meio de diluição isotópica de ^{15}N , que a quantidade de N fixado biologicamente e efetivamente incorporado ao solo variou de 144 a 179 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, dependendo da estirpe de BFNN utilizada.

O guandu é uma legumionosa altamente promíscua, capaz de nodular com BFNN de crescimento lento e rápido (Anand & Dogra, 1991). Apesar disso, as duas estirpes de BFNN (Brasil, 2011) aprovadas como inoculante pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*. São elas as estirpes BR 2003 (SEMIA 6156) e BR 2801 (SEMIA 6157). No entanto, não foram encontradas publicações que geraram essa indicação.

A presença de BFNN nativas que são pouco efetivas na FBN pode limitar os efeitos da inoculação no guandu. Outros fatores, como tipo de solo e diferentes cultivares, podem também influenciar o processo da FBN (Bidlack et al., 2001; Mapfumo et al., 2000; Nautiyal et al., 1988; Reddy, 1990). De acordo com Nautiyal et al. (1988), esses fatores podem ser os responsáveis pela pobre nodulação e a baixa resposta do guandu à inoculação.

Anand e Dogra (1997), ao avaliarem a eficiência de diferentes estirpes de *Rhizobium* spp. e *Bradyrhizobium* spp. em cultivares de guandu cultivadas em vasos Leonard modificados, observaram que as estirpes de *Bradyrhizobium* spp. foram superiores a todas as estirpes de *Rhizobium* spp.

Considerando a diversidade climática e edáfica dos solos no Brasil e, ainda, a ausência dos resultados que motivaram a indicação das BFNN, é de fundamental importância a seleção de estirpes para serem utilizadas como inoculantes, que permitirão o sucesso na simbiose entre BFNN e guandu em condições climáticas e edáficas específicas.

Dessa forma, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar estirpes de BFNN, pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* e eficientes em fixar N em outras espécies de leguminosas, com relação à eficiência simbiótica com guandu cv. Anão Iapar 43-Aratã, em diferentes condições.

Material e Métodos

O ensaio para avaliação da eficiência simbiótica das estirpes de BFNN em guandu foi conduzido em três etapas: condições axênicas de vaso Leonard (Vincent, 1970), vasos com solo e em campo, detalhadas a seguir. Em todas as etapas foi utilizada a cultivar Anão Iapar 43-Aratã, de ciclo curto e porte mais baixo, desenvolvida para a produção de grãos para alimentação animal e humana (Iapar, 1991).

Avaliação da eficiência em vasos Leonard

O ensaio foi conduzido no Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de 10/08 a 10/10/2012.

Foram testadas sete estirpes pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*, que fazem parte da coleção do Setor de Biologia, Microbiologia e Processos

Biológicos do Solo da UFLA e que se mostraram eficientes em fixar o N_2 em outras espécies leguminosas, como siratro e feijão-caupi. Além destas, estirpes de *Bradyrhizobium* já aprovadas como inoculante para a cultura da soja (BR29 ou SEMIA 5019) e feijão-caupi (UFLA03-84 ou SEMIA 6461, INPA03-11b ou SEMIA 6462 e BR3267 ou SEMIA 6463) também foram testadas. Informações relevantes sobre cada estipe encontram-se na Tabela 1.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado (DIC), com 3 repetições e 15 tratamentos, constituídos pela inoculação individual das estirpes, que foram comparadas a dois controles positivos (inoculação com as estirpes referência, aprovadas como inoculantes para guandu, BR2003 e BR2801), além de duas testemunhas sem inoculação (uma com alta concentração de N mineral e outra com baixa concentração de N mineral) para controle de possível contaminação.

A parte superior dos vasos Leonard continha uma mistura 1:1 de areia e vermiculita e a inferior, solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada. Após o preparo, os vasos foram autoclavados por uma hora, à pressão de $1,5 \text{ kg cm}^{-2}$ e a $127 \text{ }^\circ\text{C}$. Nos tratamentos que receberam inoculação e na testemunha com baixa concentração de N mineral foi utilizada solução com $5,25 \text{ mg L}^{-1}$ de N na forma de NH_4NO_3 , KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. No tratamento que recebeu alta concentração de N mineral, foi utilizada a solução completa com $52,5 \text{ mg L}^{-1}$ de N na forma de NH_4NO_3 , KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Ambas foram autoclavadas por 40 minutos a $1,5 \text{ kg cm}^{-2}$ e a $127 \text{ }^\circ\text{C}$, antes de serem colocadas nos vasos.

As sementes foram desinfestadas superficialmente com álcool etílico 98,2°, por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas seis vezes com água destilada esterilizada para a retirada de resíduos dos tratamentos anteriores. Após esses procedimentos, as sementes foram imersas em água destilada esterilizada, por 2 horas.

Posteriormente, foram colocadas para germinar em placas de Petri contendo papel filtro e algodão umedecidos e esterilizados, a 28°C, em câmara de crescimento. Foram semeadas quatro sementes pré-germinadas por vaso e, posteriormente, realizada a inoculação, colocando-se, junto a cada semente, 1 mL do meio de cultura 79 líquido (Fred & Waksman, 1928), em que os isolados foram crescidos sob agitação por, aproximadamente, 120 horas, contendo aproximadamente 10^8 células de BFNN mL⁻¹. Também foi colocada, sobre a superfície do vaso, uma fina camada de mistura esterilizada de areia, clorofórmio e parafina, com a finalidade de evitar possíveis contaminações.

O nível de solução nutritiva nos vasos foi mantido, repondo-se periodicamente. Até os 45 dias após o plantio, os vasos receberam solução nutritiva com 1/4 de força. A partir desse período, aumentou-se a força da solução nutritiva para 1/3. Após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. As plantas foram colhidas aos 60 dias e foram avaliados o número de nódulos (NN), a matéria seca de nódulos (MSN), da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA), o teor (TNPA) e o acúmulo de N na parte aérea (ANPA), a eficiência relativa (ER) e a altura da planta.

Avaliação da eficiência em vasos com solo

Foram selecionadas as estirpes mais eficientes (UFLA03-320 e UFLA03-321) no experimento com vaso de Leonard, além da estirpe BR29, aprovada como inoculante para soja. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da UFLA, de 23/01 a 17/05/2013. Foram coletados solos em dois locais distintos, municípios de Luminárias e de Lavras, MG, na camada arável (0-20 cm), que foram destorroados, homogeneizados e passados em peneira de 4 mm, antes de serem utilizados como substrato. Os vasos utilizados tinham capacidade de 1,6 dm³.

Os solos de Luminárias e Lavras foram classificados como Cambissolo e Latossolo Vermelho-amarelo, respectivamente, ambos de textura argilosa. Esses solos tinham histórico de cultivo com milho e não havia registro de uso de inoculantes. A população nativa em ambos era de, aproximadamente, 10^3 UFC.g de solo⁻¹. As coordenadas geográficas dos locais e as características químicas e físicas dos solos podem ser observadas na Tabela 2.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com 4 repetições e esquema fatorial 7 x 2, envolvendo sete tratamentos e dois tipos de solo. Os sete tratamentos foram: inoculação com as estirpes UFLA03-320, UFLA03-321 e BR29, mais as estirpes aprovadas como inoculante para guandu (BR2003 e BR 2801), além das testemunhas sem inoculação, com ou sem adubação com N mineral.

As sementes de guandu Anão cv. Iapar 43-Aratã foram desinfetadas e germinadas seguindo a metodologia descrita no ensaio com vasos Leonard. Foram semeadas quatro sementes pré-germinadas por vaso e cada uma recebeu 1 mL do inóculo, crescido no meio 79 líquido, contendo, aproximadamente, 10^8 células de BFNN mL⁻¹. Após a emergência, foi feito o desbaste, deixando-se duas plântulas por vaso.

Em todas as parcelas foi efetuada uma adubação com 300; 300; 40; 0,8; 1,5; 3,6; 5,0 e 0,15 mg dm⁻³ de K, P, S, B, Cu, Mn, Zn e Mo, respectivamente (Malavolta, Vitti & Oliveira, 1989). A testemunha com N mineral recebeu 300 mg dm⁻³ de N, fonte NH₄NO₃, parcelados em três aplicações.

As plantas foram colhidas no período da floração (aproximadamente aos 120 dias após emergência) para avaliar as seguintes variáveis: número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura da planta.

Ensaio de campo

No campo, foram testadas as mesmas estirpes utilizadas no ensaio em vasos com solo. O ensaio de campo foi instalado no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária da UFLA, no período de 28/11/2012 a 02/04/2013. Os dados de temperatura média e precipitação, no período do experimento, foram de 21,6 °C e 883,4 mm, respectivamente.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições e sete tratamentos. Os tratamentos foram: inoculação com as estirpes UFLA03-320, UFLA03-321 e BR29, mais as estirpes aprovadas como inoculante para guandu (BR2003 e BR2801), além das testemunhas sem inoculação, com ou sem N mineral.

O inoculante foi preparado com turfa esterilizada, na proporção 3:2 de turfa e culturas em meio 79 líquido, contendo, aproximadamente, 10^8 células de BFNN mL⁻¹, inoculando-se 250 g do inoculante para cada 10 kg de sementes.

Após a demarcação dos sulcos, todos os tratamentos, inclusive as testemunhas, receberam adubação fosfatada e potássica à base de 90 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ de K₂O, utilizando como fontes o superfosfato triplo e o cloreto de potássio, respectivamente. Além desta adubação, a testemunha nitrogenada recebeu 70 kg ha⁻¹ de N (fonte ureia), parcelados em duas vezes: 35 kg ha⁻¹ de N aplicados na semeadura e 35 kg ha⁻¹ de N, aos 35 dias após a emergência. A semeadura foi feita imediatamente após a inoculação, na densidade de 15 sementes por metro. O ensaio foi mantido livre de plantas invasoras por meio de capinas manuais. Não houve necessidade de outros tratamentos fitossanitários.

As parcelas foram constituídas por seis linhas de 5 m de comprimento, espaçadas em 0,50 m, totalizando 15 m² de área total e 5 m² de área útil (duas linhas destinadas à colheita dos grãos).

Por ocasião do florescimento, foram coletadas 8 plantas de cada parcela, na terceira e na quarta linhas, para avaliação do número (NN) e de matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER%), teor (TNPA%) e acúmulo (ANPA) de nitrogênio na parte aérea, e a quantidade de N por ha (kg de N ha⁻¹).

Na colheita, foram avaliados o número de vagens/planta, o número de grãos/vagem, o peso de 100 grãos, o rendimento de grãos e o teor (TNG%) e o acúmulo (ANG) de nitrogênio nos grãos. Para a avaliação do rendimento de grãos, sua umidade foi corrigida para 13%.

Em todos os ensaios, a eficiência relativa (ER) foi calculada em relação à produção de MSPA das plantas do tratamento que recebeu N mineral por meio da expressão, $ER = (MSPA \text{ tratamento}) * 100 / (MSPA \text{ da TCN})$. O teor de nitrogênio total foi avaliado pelo método semimicrokjedahl, de acordo com Sarruge e Haag (1979), determinando-se a percentagem de N na matéria seca da parte aérea e nos grãos. O N acumulado foi calculado multiplicando-se o peso da matéria seca da parte aérea ou o rendimento pelo teor de N (%) e dividindo por 100.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o sistema de análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011). As médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Os valores das variáveis número de nódulos (NN) e matéria seca de nódulos (MSN) foram previamente transformados pela fórmula $(X+0,5)^{0,5}$. Foi realizada a correção da produtividade em função do estande pela análise de covariância para o estande médio, utilizando-se o programa GENES (Cruz, 2013). Para o cálculo da quantidade de N disponibilizada por ha (kg de N ha⁻¹), foi utilizado o estande médio do ensaio (72.000 plantas.ha⁻¹).

Resultados e Discussão

Avaliação da eficiência em vasos Leonard

As médias de número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura encontram-se na Tabela 3. Não foi verificada a presença de nódulos nas testemunhas, indicando que não houve contaminação do experimento. Os nódulos mostraram-se de coloração interior rosa-avermelhada, indicando a presença de nódulos ativos, porém, com diferentes graus de eficiência.

Todas as estirpes testadas foram capazes de nodular o guandu. As estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-154 e UFLA04-212 apresentaram os maiores valores de número de nódulos (NN), superando as demais e as estirpes referência aprovadas como inoculante para o guandu (BR2003 e BR2801), porém, estes nódulos não foram muito eficientes em promover crescimento da planta (MSPA e altura).

Na análise da matéria seca de nódulos (MSN), as estirpes BR29, UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-153, UFLA03-320, UFLA03-325 e UFLA04-212 apresentaram os maiores valores, não se agrupando em nenhuma das estirpes referência. A estirpe referência BR2003 apresentou o menor valor de MSN.

As estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-153, UFLA03-320, UFLA03-321, UFLA03-325 e UFLA04-212 induziram os maiores valores de matéria seca de raiz (MSR) e foram semelhantes à estirpe referência BR2801 e superiores às testemunhas e à estirpe referência BR2003.

Os efeitos dos tratamentos foram mais pronunciados na parte aérea que nas raízes. Em relação à matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER) e altura, as estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321 foram as mais eficientes em promover o crescimento vegetal, superando os demais tratamentos. As

estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-153, UFLA03-325 e UFLA04-212, junto com a estirpe referência BR2801, foram superiores às demais estirpes, à estirpe referência BR2003 e às testemunhas. A testemunha que recebeu alta concentração de N mineral foi semelhante à estirpe referência BR2003 e a testemunha com baixa concentração de N mineral apresentou o menor valor para estes parâmetros.

Os tratamentos que receberam inoculação foram superiores às testemunhas em relação ao teor de N na parte aérea (TNPA). Já para o acúmulo de N na parte aérea (ANPA), as estirpes UFLA03-84, UFLA03-320, UFLA03-321 e UFLA03-325, junto com a estirpe referência BR2801, apresentaram os maiores valores, superando os demais tratamentos. As testemunhas apresentaram os menores valores.

As estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321 foram as mais eficientes em promover o crescimento do guandu, nestas condições. Estas estirpes também se mostraram eficientes em promover o crescimento do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), em condições de casa de vegetação com vaso Leonard (Rufini et al., 2014).

Fernandes et al. (2003) e Fernandes & Fernandes (2000), trabalhando com BFNN nativas dos tabuleiros costeiros, encontraram bactérias capazes de estabelecer simbiose efetiva com o guandu em vaso Leonard, semelhantes às estirpes aprovadas como inoculante usadas neste ensaio.

Carvalho et al. (2008), testando a eficiência de estirpes de soja e suas variantes, entre elas a BR 29, em soja, caupi e guandu, observaram que todas nodularam as três espécies de plantas, contudo, apenas para soja a interação rizóbio-leguminosa demonstrou eficiência significativa.

Avaliação da eficiência em vasos com solo

Houve diferenças significativas para os tratamentos testados em relação a todos os parâmetros avaliados, exceto para altura (Tabela 4).

A inoculação com a estirpe referência BR2801 e a estirpe BR29 proporcionou maior número de nódulos que os demais tratamentos, seguida da estirpe referência BR2003 e das estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321. A testemunha que recebeu N mineral (+N) apresentou o menor número de nódulos. Para MSN, todos os tratamentos inoculados e a testemunha sem N mineral (-N) foram superiores à testemunha que recebeu N mineral. Já para os parâmetros MSPA, ER, TNPA e ANPA, a testemunha que recebeu N mineral foi superior aos demais tratamentos.

Houve diferença significativa entre os dois tipos de solo em todos os parâmetros avaliados, tendo o Latossolo vermelho-amarelo apresentado os maiores valores (Tabela 4), fato que pode estar relacionado à acidez e à menor fertilidade do Cambissolo, afetando o desenvolvimento da planta. A interação solo*tratamentos foi significativa para a maioria dos parâmetros estudados, exceto para MSPA e altura, indicando que o tipo de solo influenciou os tratamentos (Tabela 5).

No Cambissolo, as estirpes referência (BR2003 e BR2801) e a estirpe BR29 apresentaram os maiores valores de NN, seguidas das estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321. Já no Latossolo vermelho-amarelo, a estirpe BR 2003 não ficou no grupo com os maiores valores de NN. Além das estirpes BR2801 e BR29, que apresentaram maior nodulação no Cambissolo, a estirpe UFLA03-320 também proporcionou maior nodulação em guandu no Latossolo vermelho-amarelo. A testemunha que recebeu N mineral não nodulou no Cambissolo e, junto com a testemunha sem N mineral, apresentou os menores valores. No Latossolo vermelho-amarelo, a testemunha que recebeu N mineral foi nodulada, porém, com número baixo de nódulos. A testemunha sem N mineral apresentou

mais nódulos que a testemunha que recebeu N mineral e foi semelhante à estirpe referência BR2003 e à estirpe UFLA03-320.

Em relação à MSN, as estirpes referência (BR2003 e BR2801) e a estirpe UFLA03-320 apresentaram os maiores valores no Cambissolo, seguidas pelas estirpes BR29 e UFLA03-321. As testemunhas apresentaram os menores valores. No Latossolo vermelho-amarelo, a testemunha +N foi inferior aos demais tratamentos.

No Cambissolo, as testemunhas apresentaram maiores valores de ER que os tratamentos inoculados. Para teor e acúmulo de N na parte aérea, a testemunha que recebeu N mineral foi superior aos demais tratamentos. Já no Latossolo vermelho-amarelo, não houve diferença significativa entre os tratamentos para estes parâmetros (ER, TNPA e ANPA).

Para os parâmetros que avaliam o desenvolvimento da planta (ER e ANPA), os tratamentos inoculados foram inferiores à testemunha +N no Cambissolo. Isto pode estar relacionado à acidez e à fertilidade do solo, já que, no Latossolo vermelho-amarelo, que tem pH mais elevado e é mais fértil, estes tratamentos foram semelhantes. Pode ter ocorrido um fator mais estressante para a bactéria e/ou planta (sensibilidade a acidez) que, conseqüentemente, afetou a simbiose, que é mais sensível aos estresses ambientais, que plantas recebendo N mineral. De acordo com Moreira & Siqueira (2006), o hospedeiro pode ser mais afetado pela acidez do que a bactéria. Em feijoeiro-comum em solo com e sem calagem, a calagem favoreceu a simbiose e o desenvolvimento das plantas (Rufini et al., 2011).

Na ausência de calagem, o crescimento e a nodulação do guandu foram drasticamente limitados, principalmente devido à toxicidade de alumínio (Costa et al., 1989).

Avaliação da eficiência em campo

No ensaio de campo realizado em Lavras, houve diferença significativa apenas para NN e MSN, para os parâmetros avaliados na floração (Tabela 6). As estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321 apresentaram maior nodulação e MSN que os demais tratamentos. A estirpe UFLA03-321 também apresentou alta nodulação no experimento em vaso com Latossolo vermelho-amarelo.

Com relação aos parâmetros avaliados por ocasião da colheita, não houve significância para os tratamentos (Tabela 7). A produtividade foi superior a 1.100 kg ha^{-1} para todos os tratamentos.

Neste trabalho foram encontrados valores médios de número de grãos/vagem, peso de 100 grãos e produtividade (2,6 grãos/vagem, 7,4 g e 1.287 kg ha^{-1} , respectivamente) próximos ao informado por Castro & Guimarães (1982) (2,55 grãos/vagem, 7,1 g e 1.575 kg ha^{-1} , respectivamente).

Os resultados indicam a presença de BFNN nativas nos solos nos quais foram instalados os experimentos, capazes de nodular e promover o crescimento do guandu. Isto demonstra a eficiência das populações nativas, provavelmente associada às boas condições de fertilidade e matéria orgânica do solo, que permitiram seu estabelecimento e sobrevivência. De acordo com Singleton & Tavares (1986), populações nativas de BFNN superiores a $20 \text{ células.g solo}^{-1}$ podem afetar a resposta à inoculação. Nos solos utilizados no presente estudo, as populações estavam superiores a esse valor.

Conclusões

1 - Todas as estirpes de *Bradyrhizobium* nodularam o guandu, porém, com diferentes graus de eficiência.

2 - As estirpes foram eficientes em promover o crescimento vegetal do guandu Anão cv. Iapar 43-Aratã e, portanto, têm potencial para serem aprovadas como inoculante para a cultura.

3 - A eficiência da simbiose entre guandu e bactérias fixadoras de N é influenciada pelo tipo de solo.

4 - Os dois solos têm populações nativas de BFNN eficientes, com destaque para o Latossolo vermelho-amarelo, o que foi confirmado pelo ensaio no campo.

Agradecimentos

Ao Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsas aos autores.

Referências

ALCÂNTARA, F.A.; FURTINI NETO, A.E.; P AULA, M.B.; MESQUITA, H.A.; MUNIZ, J.A. Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo vermelho-escuro degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 277-288, 2000.

ANAND, R.C.; DROGA, R.C. Physiological and biochemical characteristics of fast and slow-growing *Rhizobium* sp. of pigeon pea (*Cajanus cajan*). **The Journal of Applied Bacteriology**, v.70, p.197-201, 1991.

ANAND, R.C.; DOGRA, R.C. Comparative efficiency of *Rhizobium/Bradyrhizobium* spp. strains in nodulating *Cajanus cajan* in relation to characteristic metabolic enzymes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, p. 283-287, 1997.

BARCELOS, M. F.P.; TAVARES, D.Q.; GERMER, S.P.M.; SADAHIRA, M.S.; FERREIRA, V.L.P.; CAMPOS, S.D. Aspectos tecnológicos e sensoriais do guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] enlatado em diferentes estádios de maturação. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p.73-83. 1999.

BELTRAME, T.P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração de florestas tropicais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n. 1, p. 19-28, jan./mar. 2007.

BIDLACK J.E.; RAO S.C.; DEMEZAS D.H. Nodulation, nitrogenase activity, and dry weight of chickpea and pigeon pea cultivars using different *Bradyrhizobium* strains. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 549–560, 2001.

BRASIL. **Instrução Normativa n 13 de 24 de março de 2011. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, n. 58 de 25 de março de 2011.** Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=3&data=25/03/2011>>.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; NOVAES, N.J.; SALGADO, J.M.; MARQUEZ, U.M.L.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação nutricional do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v.16, n.1, p.36-41, 1996.

CARVALHO, F.G.; SELBACH, P.A; SILVA, A.J.N. Especificidade hospedeira de variantes *Bradyrhizobium* spp em soja (cvs Peking e Clark), caupi e guandu. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 32, p. 2701-2708, 2008.

CARVALHO M. A. C., ATHAYDE M. L. F., SORATTO R. P., ALVES M. C. & SÁ M. E.. Soja em sucessão a adubos verdes no sistema de plantio direto e convencional em solo de Cerrado. **Pesq. Agrop. Bras.** V. 39, p. 1141-1148, 2004.

CASTRO, T.A.P.; GUIMARÃES, C.M. **Guandu anão, uma nova opção para as regiões tropicais brasileiras.** Goiânia: Embrapa-CNPAP, 1982. 3p. (Embrapa-CNPAP. Comunicado técnico, 11).

COSTA, N. de L.; PAULINO, V.T.; SCHAMMAS, E.A. Produção de forragem, composição mineral e nodulação do guandu afetadas pela calagem e adubação fosfatada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, n.1, p.51-58, 1989.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum.** v.35, n.3, p.271-276, 2013.

ESPAÑA, M.; CABRERA BISBAL, E.; LÓPEZ, M. Study of nitrogen fixation by tropical legumes in acid soil from venezuelan savannas using ¹⁵N. **Interciencia**, v. 31, n. 3, p. 197-201, 2006.

FAOSTAT . Disponível em:< <http://faostat.fao.org/>>. Acesso dia 29 de novembro de 2013.

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, p. 321-327, 2000.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; HUNGRIA, M. Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, p. 835-842, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology**: with special reference to the microorganisms of the soil. New York: McGraw-Hill, 1928. 145 p.

HAAG, H.P. O guandu como planta forrageira. In: **Forragens na seca: algaroba, guandu e palma forrageira**. Campinas. Fundação Cargill, 1986. p 25-104.

HEINRICHS R., VITTI G.C., MOREIRA A., FIGUEIREDO P. A. M., FANCELLI A L.& CORAZZA E. J.. Características químicas de solo e rendimento de foinomassa de adubos verdes e de grãos de milho, decorrentes do cultivo consorciado. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 29, p. 71-79, 2005.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32 p. (Circular 347).

IAPAR. **Guandu ano IAPAR 43-Aratã: informações básicas**. Londrina (PR), 1991.

LOURENÇO, A.J.; DELISTOIANOV, J. Desempenho de bovinos em pastagem de capim-colonião com acesso ao banco de proteína de guandu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 22, n. 6, p.902-911, 1993.

MAPFUMO, S.P.; MPEPEREKI, S.; MAFONGOYA, P. Pigeonpea rhizobia prevalence and crop response to inoculation in Zimbabwean smallholder-managed soil. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 36, n. 4, p. 423-434, Out. 2000.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201 p.

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

MIZUBUTI, I.Y.; FONSECA, N.A.N.; PINHEIRO, J.W.; KHA TOUNIAN, C.A.; TONELOTTO, L.; ARAUJO, M.A.R.; IOSHIMITSU, M. M. M. Avaliação da utilização de feijão guandu cru moído (*Cajanus cajan* (L) Millsp) sobre os índices indiretos de produtividade de frangos de corte. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 56-63, 1995.

MIZUBUTI, I.Y.; JÚNIOR, O.B.; SOUZA, L.V.O.; SILVA, R.S.F.S.; IDA, E.I. Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Archivos Latinoamericano de Nutricion**, Caracas, v.50, n.3, p. 274-280, 2000.

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

NAUTIYAL, C.S.; HEGDE, S.V.; BERKUM, P. van. Nodulation, nitrogen fixation, and hydrogen oxidation by pigeon pea *Bradyrhizobium* spp. in symbiotic association with pigeon pea, cowpea, and soybean. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 94-97, 1988.

OLIVEIRA-LONGATTI, S.M.; MARRA, L.M.; SOARES, B.L.; BOMFETI, C.A.; SILVA, K.; FERREIRA, P.A.A.; MOREIRA, F.M.S.. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. xx, p. 1-12, 2013.

PAZ, L.G; LUPCHINSKI, E.W.L.; SANTOS, M.V.F.; SILVA, J.A.A. Efeito do nitrogênio e estirpes de *Bradyrhizobium* na fixação do nitrogênio e desenvolvimento do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) cv. Fava Larga. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v. 2, n. 1, p. 96-106, 2000.

PERES, J.R.R.; VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja. **Agronomia Sulriograndense**, v.16, p.205-219, 1980.

PIRES, F.R.; PROCÓPIO, S.O.; SOUZA, C.M.; SANTOS, J.B.; SILVA, G.P. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebutiuron. Mossoró, **Caatinga**, v.19, n.1, p.92-97, 2006.

POTH, M.; LA FAVRE, J.S.; FOCHT, D.D. Quantification by direct ^{15}N dilution of fixed N_2 incorporation into soil by *Cajanus cajan* (Pigeon pea). **Soil Biology and Biochemistry**, Oklahoma, v.18, p.125-127, 1986.

RUFINI, M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; OLIVEIRA, D. P.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. 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.

RUFINI, M.; SILVA, M. A. P.; FERREIRA, P. A. A.; CASSETARI, A. S.; SOARES, B. L.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils**, v. 50, p. 115-122, 2014.

RUMJANEK, N.G.; van BERKUM, P.; TRIPLETT, E.W. Common soybean inoculants strains in Brazil are members of *Bradyrhizobium elkanii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, p.4371-4373, 1993.

REDDY, L.J. Pigeonpea: morphology. In: **The Pigeonpea**, 47-88 (Eds Y. L. Nene, S. D. Hall & U. K. Sheila). Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL and ICRISAT. 2006.

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

SHARMA, D. Intentional adaptation of pigeonpeas. In: International Workshop on Pigeonpeas, 1980, Pantacheru. **Proceedings**. Pantacheru: ICRISAT , 1981. p. 137-146.

SINGLETON, P.W.; TAVARES, J.W. Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous *Rhizobium* population. **Applied and Environmental Microbiology**, v.51, p.1013-1018, 1986.

SOARES, A.L.L.; PEREIRA, J.P.A.R.; FERREIRA, P.A.A.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S.. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas que nodulam o caupi em Perdões, MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.795-802, 2006.

SOUZA, F.H.D.; FRIGERI, F.; MOREIRA, A.; GODOY, R. **Produção de sementes de guandu**. Documentos 69. 1ª Edição. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007.

VALARINI, M.J.; GODOY, R. Contribuição da fixação simbiótica de nitrogênio na produção do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Scientia Agricola**, v. 51, p. 500–504. 1994.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p. (International Biological Programme Handbook, n. 15).

Tabela 1. Origem e características das estirpes de *Bradyrhizobium* testadas.

	Estirpe	Origem			Eficiência Simbiótica ¹	Fonte e referência ²
		Estado/ região	Sistema de uso da terra	Planta hospedeira		
1	UFLA03-153	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
2	UFLA03-154	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
3	UFLA03-164	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
4	UFLA03-320	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
5	UFLA03-321	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
6	UFLA03-325	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
7	UFLA04-212	Amazônia	Agricultura	<i>Macroptilium atropurpureum</i>	<i>Macroptilium atropurpureum</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Moreira et al., não publicado
8	INPA 03-11b	Amazônia	Floresta	<i>Centrosema</i> sp.	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	SBMPBS/UFLA; Soares et al., 2006
9	UFLA 03-84	Rondônia	Pastagem	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	SBMPBS/UFLA; Soares et al., 2006
10	BR 3267	Semiárido Nordeste	-	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Martins et al., 2003
11	BR 29	Rio de Janeiro	-	-	<i>Glycine Max</i> (R)	CNPAB; Peres & Vidor, 1980; Rumjanek et al., 1993
12	BR2801	Rio de Janeiro	-	<i>Crotalaria</i> spp	<i>Cajanus cajan</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Brasil, 2011
13	BR2003	Brasília	-	<i>Stylosantes</i> spp.	<i>Cajanus cajan</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Brasil, 2011

¹E=Eficiente (peso seco da parte aérea do tratamento inoculado com a estirpe testada = controle não inoculado que recebeu N mineral); R= aprovada como inoculante para *Vigna unguiculata* (UFLA03-84, INPA03-11b e BR3267), *Glycine max* (BR 29) e *Cajanus cajan* (BR2801, BR2003) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

²SBMPBS/UFLA= Coleção de bactérias do Setor de Biologia, Microbiologia e Processos biológicos do Solo da Universidade Federal de Lavras.

Tabela 2. Características químicas e físicas de amostras de solo (0 a 20 cm de profundidade), antes da adubação nos solos estudados.

Característica		Valores	
		Cambissolo	Latossolo vermelho-amarelo
Coordenadas geográficas	-	21°32' S, 44°57' W	21°12' S, 44°58' W
pH em H ₂ O (1:2,5)	-	4,6	5,9
P (Fósforo Mehlich I)	mg dm ⁻³	0,56	5,81
K (Potássio Mehlich I)	mg dm ⁻³	68	128
Ca	cmol _c dm ⁻³	0,4	3,5
Mg	cmol _c dm ⁻³	0,2	1,1
Al	cmol _c dm ⁻³	0,8	0,1
H + Al	cmol _c dm ⁻³	5,05	4,04
S.B	cmol _c dm ⁻³	0,77	4,93
T	cmol _c dm ⁻³	5,82	8,97
t	cmol _c dm ⁻³	1,57	5,03
m	%	50,96	1,99
V	%	13,31	54,94
Matéria Orgânica	dag kg ⁻¹	3,41	2,61
Areia	dag kg ⁻¹	40	59
Silte	dag kg ⁻¹	25	7
Argila	dag kg ⁻¹	35	34

Análise realizada pelo Laboratório do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. S.B= soma de bases. T= capacidade de troca de cátions a pH 7. t= capacidade efetiva de troca de cátions. m= saturação por alumínio. V= saturação por bases

Tabela 3. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura da cv. Anão Iapar 43-Aratã, em vaso Leonard, nos diferentes tratamentos de fontes de N.

Fontes de N	NN/ vaso	MSN (g.vaso ⁻¹)	MSR (g.vaso ⁻¹)	MSPA (g.vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg.vaso ⁻¹)	Altura (cm)
+N (52,5mg L ⁻¹)	0 c	0 c	0,857 b	2,500 c	100 c	1,43 b	36,006 d	41,75 c
-N (5,25mg L ⁻¹)	0 c	0 c	0,287 b	0,663 d	26,6 d	1,82 b	12,376 d	23,42 d
BR2003	108 b	0,075 c	0,570 b	1,910 c	78,1 c	3,12 a	59,618 c	32,38 c
BR2801	188 b	0,155 b	1,197 a	3,747 b	148,5 b	3,86 a	144,317 a	44,75 b
BR29	165 b	0,245 a	0,470 b	2,070 c	84,2 c	2,99 a	61,477 c	33,00 c
UFLA03-84	328 a	0,372 a	1,107 a	3,807 b	154,7 b	3,77 a	142,827 a	50,75 b
INPA03-11B	294 a	0,435 a	1,170 a	3,783 b	152,8 b	3,12 a	118,486 b	50,67 b
BR3267	121 b	0,211 b	0,517 b	2,253 c	89,6 c	3,21 a	72,280 c	37,58 c
UFLA03-153	223 b	0,374 a	1,067 a	3,430 b	139,4 b	3,60 a	121,026 b	45,83 b
UFLA03-154	285 a	0,192 b	0,770 b	2,807 c	116,1 c	3,68 a	102,353 b	39,167 c
UFLA03-164	197 b	0,144 b	0,623 b	2,367 c	94,7 c	3,51 a	85,328 c	38,167 c
UFLA03-320	146 b	0,292 a	1,480 a	4,683 a	188,0 a	3,51 a	164,220 a	56,25 a
UFLA03-321	118 b	0,196 b	1,447 a	4,756 a	195,1 a	3,73 a	176,861 a	55,83 a
UFLA03-325	132 b	0,299 a	1,287 a	3,957 b	162,3 b	3,60 a	142,398 a	49,33 b
UFLA04-212	439 a	0,325 a	0,957 a	3,397 b	138,0 b	3,25 a	108,091 b	46,83 b
P valor	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
CV(%)	30,50	4,64	28,37	17,51	19,53	14,55	20,38	10,65

Médias de três repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura em função dos tratamentos e tipos de solo testados em guandu cv. Anão Iapar 43-Aratã, em condições de vaso com solo em casa de vegetação.

Tratamentos	NN/ vaso	MSN (g.vaso⁻¹)	MSPA (g.vaso⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg.vaso⁻¹)	Altura (cm)
+N (300 mg dm⁻³)	3 d	0,025 b	6,695 a	100,0 a	3,48 a	228,04 a	65,14 a
-N	12 c	0,172 a	5,431 b	83,0 b	2,62 b	141,12 b	66,41 a
BR2003	19 b	0,245 a	5,225 b	77,4 b	2,68 b	137,59 b	62,69 a
BR2801	31 a	0,259 a	5,616 b	84,4 b	2,50 b	142,10 b	66,71 a
BR29	25 a	0,244 a	5,328 b	80,6 b	2,36 b	127,03 b	68,24 a
UFLA03-320	15 b	0,226 a	4,870 b	71,2 b	2,60 b	129,52 b	55,72 a
UFLA03-321	18 b	0,195 a	5,324 b	79,0 b	2,62 b	142,40 b	64,51 a
P valor	0,0000	0,0000	0,0168	0,0045	0,0000	0,0000	0,3585
Solo	NN/ vaso	MSN (g.vaso⁻¹)	MSPA (g.vaso⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg.vaso⁻¹)	Altura (cm)
Cambissolo	10 b	0,122 b	5,186 b	81,9 a	2,50 b	132,12 b	59,92 b
Latossolo vermelho- amarelo	25 a	0,268 a	5,811 a	82,6 a	2,89 a	167,25 a	68,48 a
P valor	0,0000	0,0000	0,0172	0,8337	0,0000	0,0002	0,0058
CV(%)	22,45	5,11	17,09	15,77	11,89	21,09	17,08

Médias seguidas pela mesma letra, para cada fator, pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura em função dos tratamentos testados em guandu cv. Anão Iapar 43-Aratã, em diferentes solos, em condições de vaso com solo em casa de vegetação

Solo	Tratamentos	NN/ vaso	MSN (g.vaso ⁻¹)	MSPA (g.vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg.vaso ⁻¹)	Altura (cm)
Cambissolo	+N (300 mg dm ⁻³)	0 c	0 c	6,378 a	100,0 a	4,16 a	259,55 a	58,33 a
	-N	2 c	0,035 c	5,568 a	89,4 a	2,08 b	115,87 b	66,75 a
	BR2003	19 a	0,266 a	4,893 a	77,3 b	2,60 b	125,38 b	57,06 a
	BR2801	22 a	0,181 a	5,198 a	82,0 b	2,24 b	117,15 b	56,60 a
	BR29	14 a	0,111 b	4,923 a	78,7 b	1,98 b	97,89 b	66,80 a
	UFLA03-320	6 b	0,158 a	4,410 a	68,1 b	2,24 b	99,29 b	51,38 a
	UFLA03-321	8 b	0,104 b	4,935 a	77,6 b	2,18 b	109,70 b	62,53 a
Latossolo vermelho- amarelo	+N (300 mg dm ⁻³)	7 c	0,049 b	7,013 a	100,0 a	2,80 a	196,54 a	71,94 a
	-N	22 b	0,309 a	5,295 a	76,6 a	3,15 a	166,36 a	66,06 a
	BR2003	19 b	0,225 a	5,558 a	77,6 a	2,76 a	149,79 a	68,31 a
	BR2801	41 a	0,338 a	6,035 a	86,1 a	2,76 a	167,05 a	76,81 a
	BR29	36 a	0,376 a	5,733 a	82,5 a	2,73 a	156,17 a	69,69 a
	UFLA03-320	24 b	0,293 a	5,330 a	74,3 a	2,96 a	159,74 a	60,06 a
	UFLA03-321	29 a	0,286 a	5,713 a	80,4 a	3,06 a	175,10 a	66,50 a
	P valor	0,0281	0,0008	0,8895	0,8173	0,0000	0,0027	0,5385
	CV(%)	22,45	5,11	17,09	15,77	11,89	21,09	17,08

Médias seguidas pela mesma letra, para cada solo, pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), e kg de N por ha, em função dos tratamentos testados em guandu cv. Anão Iapar 43-Aratã, em condições de campo na floração.

Tratamentos	NN/ planta	MSN (g.planta ⁻¹)	MSPA (g.planta ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg.planta ⁻¹)	kg de N.ha ⁻¹
+N (70 kg ha ⁻¹)	7 b	0,108 b	33,326 a	100,0 a	4,03 a	1346,551 a	96,952 a
-N	6 b	0,067 b	19,403 a	62,2 a	3,81 a	745,086 a	53,646 a
BR2003	8 b	0,090 b	23,240 a	76,5 a	4,13 a	966,473 a	69,586 a
BR2801	7 b	0,071 b	27,678 a	92,7 a	3,93 a	1090,314 a	78,503 a
BR29	7 b	0,086 b	23,405 a	77,8 a	3,67 a	868,463 a	62,529 a
UFLA03-320	12 a	0,185 a	31,117 a	100,6 a	3,54 a	1101,053 a	79,276 a
UFLA03-321	13 a	0,233 a	20,509 a	68,6 a	3,45 a	706,434 a	50,863 a
P valor	0,0268	0,0046	0,0941	0,1302	0,2481	0,1128	0,1128
CV(%)	16,79	4,54	28,21	26,63	11,08	32,32	32,32

Médias de quatro repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Número de vagens/planta, número de grãos/vagem, peso de 100 grãos, rendimento, teor (TNG) e acúmulo de N nos grãos (ANG), em função dos tratamentos testados em guandu cv. Anão Iapar 43-Aratã, em condições de campo.

Tratamentos	Nº vagens/ planta	Nº grãos/ vagem	Peso 100 grãos (g)	Rendimento kg.ha ⁻¹	TNG (%)	ANG (kg.ha ⁻¹)
+N (70 kg ha ⁻¹)	151 a	2,2 a	7,538 a	1567,99 a	4,13 a	64,827 a
-N	117 a	2,7 a	6,854 a	1152,01 a	4,20 a	48,211 a
BR2003	100 a	3,4 a	7,521 a	1190,21 a	4,13 a	48,929 a
BR2801	142 a	2,3 a	7,693 a	1308,89 a	3,87 a	48,812 a
BR29	97 a	2,4 a	7,363 a	1229,51 a	4,10 a	50,011 a
UFLA03-320	132 a	2,2 a	7,116 a	1408,05 a	4,19 a	58,913 a
UFLA03-321	126 a	3,2 a	7,379 a	1149,72 a	4,19 a	48,373 a
P valor	0,4942	0,1179	0,0564	0,5337	0,5054	0,4157
CV(%)	34,25	25,61	4,82	25,76	5,92	24,25

Médias de quatro repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

ARTIGO 2

Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em simbiose com guandu cv. Fava-Larga em condições diversas

Normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

Márcia Rufini⁽¹⁾, Damiâny de Pádua Oliveira⁽²⁾, André Trochman⁽¹⁾, Bruno Lima Soares⁽²⁾, Messias José Bastos de Andrade⁽²⁾, Fatima Maria de Souza Moreira⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência do Solo, Caixa Postal 3037, CEP37200-000, Lavras, MG. E-mail: marciarufini@yahoo.com.br, trochmann@gmail.com, fmoreira@dcs.ufla.br. ⁽²⁾Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 3037, CEP37200-000, Lavras, MG. E-mail: damy_agro84@hotmail.com, brunolsoares@gmail.com, mandrade@dag.ufla.br.

Resumo – Com o objetivo de avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio, pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*, com guandu Fava-larga, foram conduzidos experimentos em vaso Leonard, vaso com solo e campo. Em vaso Leonard foram testadas 11 estirpes, que foram selecionadas para os testes em vaso com solo (Latossolo vermelho-amarelo e Cambissolo) e campo (Latossolo vermelho-amarelo) de acordo com a capacidade de promover o crescimento do guandu. Em todos os experimentos, os tratamentos foram comparados a dois controles positivos (estirpes aprovadas como inoculante para o guandu, BR2003 e BR2801) e duas testemunhas sem inoculação, sendo uma com alta concentração de nitrogênio mineral e a outra, dependendo do experimento, sem N mineral (solo) ou com baixa concentração de N mineral (vaso Leonard). Algumas estirpes testadas proporcionaram crescimento vegetal semelhante ou superior às estirpes referência e às testemunhas. No ensaio em vaso com solo, o tipo de solo influenciou nos tratamentos. No campo não houve diferença entre os tratamentos testados, sendo que as estirpes nativas promoveram bom crescimento. Estes resultados indicam que o guandu é capaz de estabelecer associação simbiótica que fornece o nitrogênio requerido para o crescimento vegetal e novas estirpes apresentam potencial para serem recomendadas para a cultura.

Termos para indexação: *Cajanus cajan*, inoculante, fixação biológica de nitrogênio, seleção

Efficiency of *Bradyrhizobium* spp. in symbiosis with pigeonpea cv. Fava-Larga on various conditions

Abstract - With the objective of evaluating the symbiotic efficiency of nitrogen-fixing bacterial strains belonging to the genus *Bradyrhizobium*, with pigeonpea Fava-larga, experiments were conducted in Leonard jars, pot with soil and field. In Leonard jars 11 strains were tested, which were selected for testing in pots with soil (Latosol Red-Yellow and Cambisol) and in the field (Latosol Red-Yellow) according to the ability to promote growth of pigeonpea. In all experiments, treatments were compared to two positive controls (approved as inoculant strains for pigeonpea, BR2003 and BR2801) and two controls without inoculation, one with a high concentration of mineral nitrogen and the other, depending on the experiment without mineral N (soil) or with low N concentration (Leonard jars). Some strains tested provided plant growth similar or superior to the reference strains and to control without or with low concentration of mineral N. In the experiment in pots with soil, the soil type interfered in treatments. In the field there was no difference among the treatments tested, and the native strains promoted good growth. These results indicate that pigeonpea is able to establish symbiotic association that provides the nitrogen required for plant growth and new strains have the potential to be recommended for the culture.

Index terms: *Cajanus cajan*, inoculants, biological nitrogen fixation, selection

Introdução

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais limitantes à produção agrícola nas regiões tropicais e as principais fontes pelas quais as plantas podem obtê-lo são a matéria orgânica do solo, os fertilizantes nitrogenados ou a fixação biológica de N₂ (FBN). Os fertilizantes nitrogenados, além de apresentarem alto custo e contribuírem para poluição ambiental, têm baixa eficiência de assimilação (máximo 50%), devido a perdas causadas por práticas culturais inadequadas e por processos como lixiviação, desnitrificação e volatilização do NH₃ (Cantarella, 2007).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo de grande importância, realizado por bactérias fixadoras de nitrogênio capazes de reduzir o nitrogênio atmosférico (N₂) e transferi-lo para a planta na forma de amônia. Essa é uma forma de incrementar a produtividade de leguminosas, reduzindo ou eliminando os custos com fertilizantes nitrogenados e contribuindo para a sustentabilidade nos sistemas (Moreira & Siqueira, 2006). A adoção de tecnologias sustentáveis que permitam a conservação dos recursos naturais e melhorem o sistema agrícola é um componente importante na agricultura.

O guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] é capaz de se beneficiar da FBN, obtendo grande parte do N que necessita por meio desse processo (Espanã et al., 2006; Fernandes & Fernandes, 2000; Fernandes et al., 2003; La Favre & Focht, 1983; Paz et al., 2000; Sanginga et al., 1996; Valarini & Godoy, 1994). Essa cultura pode ser utilizada para diversos fins, como adubo verde (Heinrichs et al., 2005), alimentação animal e humana (Mizubuti et al., 1995; Canniatti-Brazaca, et al., 1996), fitorremediação (Pires et al., 2006) e recuperação de áreas degradadas (Beltrame & Rodrigues, 2007).

No Brasil, essa cultura não tem importância econômica, faltando-lhe, principalmente, mais atenção da pesquisa agrônômica. Tem tolerância à seca e

adaptação a solos salinos, além de elevado valor nutritivo (20%-25% proteína), tornando-se uma opção para o nordeste brasileiro (Paz et al., 2000).

O guandu pode estabelecer uma associação simbiótica que forneça, aproximadamente, 90% do nitrogênio necessário ao seu desenvolvimento (La Favre & Focht, 1983). Sanginga et al. (1996), observaram que, dos 113 kg de N ha⁻¹, 77% foram derivados da FBN (86 kg de N ha⁻¹). Porém, vários fatores relacionados ao ambiente e aos simbioses podem interferir no sucesso da simbiose guandu-bactérias fixadoras de N₂ (BFNN). Entre eles, as populações nativas do solo, as características físicas e químicas dos solos, a estação e o ciclo da cultivar podem interferir na resposta da planta a FBN (Bidlack et al., 2001; Freitas et al., 2003; Herridge & Holland, 1993; Mapfumo et al., 2000).

Dessa forma, a seleção de estirpes de BFNN quanto à eficiência na FBN, em condições edafoclimáticas específicas, ainda é uma etapa importante na busca pelo aumento de produção vegetal, sem exigir maior quantidade de insumos.

Apesar de ser uma leguminosa promíscua, resultados de pesquisa demonstraram que estirpes de *Bradyrhizobium* são mais eficientes em fixar o N no guandu que estirpes de *Rhizobium* (Anand & Dogra, 1997). Assim, as duas estirpes de BFNN (Brasil, 2011) aprovadas como inoculantes, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*: as estirpes BR 2003 (SEMIA 6156) e BR 2801 (SEMIA 6157). No entanto, não foram encontradas publicações que geraram essa indicação.

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de BFNN pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* e eficientes em fixar N em outras espécies de leguminosas, com guandu cv. IAC Fava-Larga, em diferentes condições.

Material e Métodos

Foram instalados três experimentos para avaliar a eficiência simbiótica das estirpes com o guandu: condições axênicas de vaso Leonard (Vincent, 1970), vasos com solo e em campo, como detalhado a seguir. Foi utilizada a cultivar de guandu IAC Fava-Larga em todos os experimentos. Trata-se de cultivar de ciclo longo e porte alto, cuja principal exploração é como adubo verde e forragem, por ter maior acúmulo de fitomassa (IAC, 2013).

Avaliação da eficiência em vasos Leonard

Foram testadas sete estirpes pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* que fazem parte da coleção do Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estas estirpes foram eficientes em fixar o N₂ em outras espécies leguminosas, como siratro e feijão-caupi. Também foram testadas estirpes de *Bradyrhizobium* já aprovadas como inoculantes para a cultura da soja (BR29 ou SEMIA 5019) e feijão-caupi (UFLA03-84 ou SEMIA 6461, INPA03-11b ou SEMIA 6462 e BR3267 ou SEMIA 6463). Informações relevantes sobre cada estirpe encontram-se na Tabela 1.

O ensaio foi conduzido no Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Sol, no Departamento de Ciência do Solo da UFLA, no período de 10/08 a 10/10/2012.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado (DIC), com 3 repetições e 15 tratamentos, constituídos pela inoculação individual das estirpes, 2 controles positivos (inoculação com as estirpes referência, aprovadas como inoculantes para guandu, BR2003 e BR2801), e 2 testemunhas sem inoculação (uma com alta concentração de N mineral e outra com baixa concentração de N mineral).

Os vasos Leonard continham, na parte superior, uma mistura 1:1 de areia e vermiculita e, na inferior, solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada. Nos tratamentos que receberam inoculação e na testemunha com baixa concentração de N mineral foi utilizada solução com $5,25 \text{ mg L}^{-1}$ de N, na forma de NH_4NO_3 , KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. No tratamento que recebeu alta concentração de N mineral, foi utilizada a solução completa com $52,5 \text{ mg L}^{-1}$ de N na forma de NH_4NO_3 , KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Os vasos Leonard e as soluções nutritivas foram autoclavadas por 1 hora e 40 minutos, respectivamente, à pressão de $1,5 \text{ kg cm}^{-2}$ e a $127 \text{ }^\circ\text{C}$, antes de serem utilizados.

A desinfestação superficial das sementes foi realizada com álcool etílico $98,2^\circ$, por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas, seis vezes, com água destilada esterilizada para a retirada de resíduos dos tratamentos anteriores. Após esses procedimentos, as sementes foram imersas em água destilada esterilizada por 2 horas e, posteriormente, foram colocadas para germinar em placas de Petri contendo papel filtro e algodão umedecidos e esterilizados, a 28°C , em câmara de crescimento. Foram semeadas quatro sementes pré-germinadas por vaso. Após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Cada semente foi inoculada com 1 mL do meio de cultura 79 líquido (Fred & Waksman, 1928), em que os isolados foram crescidos sob agitação por, aproximadamente, 120 horas, contendo cerca de 10^8 células de BFNN mL^{-1} . Também foi colocada, sobre a superfície do vaso, uma fina camada de mistura esterilizada de areia, clorofórmio e parafina, com a finalidade de evitar possíveis contaminações.

O nível de solução nutritiva nos vasos foi mantido, repondo-se periodicamente. Os vasos receberam solução nutritiva com 1/4 de força, até os 45 dias após o plantio. A partir desse período, aumentou-se a força da solução nutritiva para 1/3. As plantas foram colhidas aos 60 dias e foram avaliados o

número de nódulos (NN); a matéria seca de nódulos (MSN), da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA); o teor (TNPA) e o acúmulo de N na parte aérea (ANPA); a eficiência relativa (ER) e a altura da planta.

Avaliação da eficiência em vasos com solo

As estirpes que se destacaram em relação à eficiência simbiótica no experimento com vaso Leonard, além da estirpe BR29, aprovada como inoculante para soja, foram testadas neste experimento (UFLA03-320, UFLA03-321 e UFLA04-212). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Ciência do Solo da UFLA, de 23/01 a 17/05/2013, em vasos com capacidade de 1,6 dm³.

Foram coletados solos em dois locais distintos, Luminárias e Lavras, MG, na camada arável (0-20 cm), que foram destorroados, homogeneizados e passados em peneira de 4 mm, antes de serem utilizados como substrato. O histórico de cultivo era com milho e não havia registro de uso de inoculantes.

Os solos de Luminárias e Lavras foram classificados como Cambissolo e Latossolo Vermelho-amarelo, respectivamente, ambos de textura argilosa. A população nativa em ambos era de, aproximadamente, 10³ UFC.g de solo⁻¹. As coordenadas geográficas dos locais e as características químicas e físicas dos solos encontram-se na Tabela 2.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com 4 repetições e esquema fatorial 8 x 2, envolvendo oito tratamentos e dois tipos de solo. Os oito tratamentos foram: inoculação com as estirpes UFLA03-320, UFLA03-321, UFLA04-212 e BR29, além das estirpes aprovadas como inoculantes para guandu (BR2003 e BR2801) e das testemunhas sem inoculação, com ou sem adubação com N mineral.

Todos os vasos receberam adubação com 300; 300; 40; 0,8; 1,5; 3,6; 5,0 e 0,15 mg dm⁻³ de K, P, S, B, Cu, Mn, Zn e Mo, respectivamente (Malavolta et

al., 1989). A testemunha com N mineral recebeu 300 mg dm^{-3} de N, fonte NH_4NO_3 , parcelados em três aplicações.

As sementes de guandu cv. IAC Fava-Larga foram desinfetadas, germinadas, semeadas e inoculadas seguindo a metodologia descrita no ensaio com vasos Leonard. Após a emergência, foi feito o desbaste, deixando-se duas plântulas por vaso.

As plantas foram colhidas, aproximadamente, aos 120 dias após emergência e avaliaram-se as seguintes variáveis: número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura da planta.

Ensaio de campo

O ensaio de campo foi instalado no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária da UFLA, no período de 28/11/2012 a 22/07/2013.

Os oito tratamentos foram os mesmos testados em vasos com solo: estirpes UFLA03-320, UFLA03-321, UFLA04-212 e BR29, além das estirpes aprovadas como inoculantes para guandu (BR2003 e BR2801) e duas testemunhas sem inoculação, com ou sem adubação com N mineral. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições.

As parcelas foram constituídas por seis linhas de 5 m de comprimento, espaçadas em 1,0 m, totalizando 30 m^2 de área total e 10 m^2 de área útil (duas linhas destinadas à colheita dos grãos).

Após a demarcação dos sulcos, todos os tratamentos, inclusive as testemunhas, receberam adubação fosfatada e potássica à base de 90 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 50 kg ha^{-1} de K_2O , usando como fontes o superfosfato triplo e o cloreto de potássio, respectivamente. Além desta adubação, a testemunha nitrogenada

recebeu 70 kg ha⁻¹ de N (fonte ureia), parcelados em duas vezes: 35 kg ha⁻¹ de N aplicados na semeadura e 35 kg ha⁻¹ de N aos 35 dias após a emergência. A semeadura foi feita imediatamente após a inoculação, na densidade de 10 sementes por metro.

O inoculante foi preparado com turfa esterilizada, na proporção 3:2 de turfa e culturas em meio 79 líquido, contendo, aproximadamente, 10⁸ células de BFNN mL⁻¹, inoculando-se 250 g do inoculante para cada 10 kg de sementes.

Por ocasião do florescimento, foram coletadas cinco plantas de cada parcela, na terceira e na quarta linha. Os parâmetros avaliados foram: matéria fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER%), teor (TNPA%) e acúmulo (ANPA) de nitrogênio na parte aérea, altura, diâmetro do caule e a quantidade de N por ha (kg de N ha⁻¹). Não foi possível a coleta de nódulos para avaliar número e matéria seca de nódulos, pois o sistema radicular dessa cultivar de guandu é muito profundo (aproximadamente 90 cm), o que não permitiu a sua retirada, como é feito em outras culturas de menor porte.

Na colheita, foram avaliados o número de vagens/planta, o número de grãos/vagem, o peso de 100 grãos, o rendimento de grãos e o teor (TNG%) e o acúmulo (ANG) de nitrogênio nos grãos. Para avaliação do rendimento de grãos, a sua umidade foi corrigida para 13%.

O ensaio foi mantido livre de plantas invasoras por meio de capinas manuais. Não houve necessidade de outros tratamentos fitossanitários. Os dados de temperatura média e precipitação, no período do experimento, foram de 20,8 °C e 1.021,0 mm, respectivamente.

Em todos os ensaios, a eficiência relativa (ER) foi calculada em relação à produção de MSPA das plantas que receberam N mineral por meio da expressão, $ER = (MSPA \text{ tratamento}) * 100 / (MSPA \text{ testemunha} + N)$. O teor de nitrogênio total foi avaliado pelo método semimicrokjedahl, de acordo com Sarruge e Haag (1979), determinando-se a percentagem de N na matéria seca da

parte aérea e nos grãos. O N acumulado foi calculado multiplicando-se o peso da matéria seca da parte aérea ou o rendimento pelo teor de N (%) e dividindo-se por 100. Para o cálculo da quantidade de N disponibilizada por ha (kg de N ha⁻¹), foi utilizado o estande médio do ensaio (53.000 plantas ha⁻¹).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o sistema de análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011). As médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Os valores das variáveis número de nódulos (NN) e matéria seca de nódulos (MSN) foram previamente transformados pela fórmula $(X+0,5)^{0,5}$.

Resultados e discussão

Avaliação da eficiência em vasos Leonard

As médias de número de nódulos (NN); matéria seca de nódulos (MSN), de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA); eficiência relativa (ER); teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura, encontram-se na Tabela 3. Não foi verificada a presença de nódulos nas testemunhas (+N e -N), indicando que não houve contaminação do experimento.

Todas as estirpes testadas foram capazes de nodular o feijão-guandu. A estirpe UFLA04-212, seguida das estirpes UFLA03-154, UFLA03-320, UFLA03-21 e UFLA03-325, apresentou os maiores valores de número de nódulos (NN), superando as demais estirpes e as estirpes referência aprovadas como inoculantes para o feijão-guandu (BR2003 e BR2801). Na análise de matéria seca de nódulos (MSN), todos os tratamentos inoculados foram semelhantes.

As estirpes referência (BR2003 e BR2801) induziram os maiores valores de matéria seca de raiz (MSR) e foram superiores aos demais tratamentos. As estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-320, UFLA03-321 e UFLA04-

212 foram semelhantes à testemunha +N e superiores às demais estirpes e à testemunha -N.

Em relação à matéria seca da parte aérea (MSPA) e à eficiência relativa (ER), as estirpes UFLA03-320, UFLA03-321 e UFLA04-212 foram semelhantes às estirpes referência (BR2003 e BR2801), promovendo maior crescimento vegetal e superando os demais tratamentos. As estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-153 e UFLA03-325 também foram superiores às testemunhas +N e -N. A testemunha -N apresentou os menores valores para estes parâmetros.

Os tratamentos que receberam inoculação foram superiores às testemunhas em relação ao teor de N na parte aérea (TNPA). Já para o acúmulo de N na parte aérea (ANPA), as estirpes UFLA03-84, UFLA03-11B, UFLA03-153, UFLA03-154, UFLA03-320, UFLA03-321, UFLA03-325 e UFLA04-212, junto com as estirpes referência (BR2801 e BR2003), apresentaram os maiores valores, superando os demais tratamentos. As testemunhas apresentaram os menores valores.

As mesmas estirpes que apresentaram maior ANPA, com exceção da estirpe UFLA03-154, também proporcionaram maior altura para a cultura, junto com as estirpes referência (BR2801 e BR2003).

As estirpes UFLA03-320, UFLA03-321 e UFLA04-212 foram as mais eficientes em promover o crescimento do feijão-guandu cv. Fava-Larga, nessas condições, proporcionando valores semelhantes aos das estirpes referência e superiores ao da testemunha que recebeu N mineral.

A estirpe UFLA04-212 também foi eficiente em formar simbiose e fixar N₂ em siratro (Florentino et al., 2009). Segundo Rufini et al. (2014), as estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321 também se mostraram eficientes em promover o crescimento do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), em condições de casa de vegetação com vaso Leonard.

Em estudo conduzido com isolados de BFNN do Mato Grosso do Sul, em vaso Leonard, Martins et al. (2012) verificaram diferenças entre as BFNN quanto à capacidade de promover o crescimento vegetal do guandu e alguns isolados foram superiores às estirpes aprovadas como inoculantes e ao tratamento que recebeu N mineral.

Avaliação da eficiência em vasos com solo

Houve diferenças significativas para os tratamentos testados em relação aos parâmetros NN, MSN, TNPA e ANPA (Tabela 4). Para os demais parâmetros (MSPA, ER e altura), não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

A inoculação estirpe BR29 e UFLA04-212 proporcionou maior nodulação que os demais tratamentos, seguida das estirpes referência (BR2003 e BR2801) e das estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321. A testemunha que recebeu N mineral (+N) apresentou o menor número de nódulos. Para MSN, todos os tratamentos inoculados, seguidos da testemunha sem N mineral (-N), foram superiores à testemunha +N. Já para os parâmetros TNPA e ANPA, a testemunha que recebeu N mineral foi superior aos demais tratamentos. A estirpe BR29 e a TSN apresentaram os menores valores para estes parâmetros.

Houve diferença significativa entre os dois tipos de solo utilizados, em todos os parâmetros avaliados (Tabela 4). O Latossolo Vermelho-amarelo apresentou os maiores valores, exceto para ER. Este fato pode estar relacionado à acidez e à menor fertilidade do Cambissolo, o que afetou o desenvolvimento da planta. O menor desenvolvimento das plantas no solo mais ácido (Cambissolo) proporcionou menor diferença entre os tratamentos e a testemunha que recebeu N mineral e, conseqüentemente, maior ER em relação ao Latossolo Vermelho-amarelo.

A interação Solo*Tratamentos foi significativa para a maioria dos parâmetros estudados, exceto para MSPA, ER e altura, indicando que o tipo de solo influenciou os tratamentos (Tabela 5).

No Cambissolo, as estirpes referência (BR2003 e BR2801) e as estirpes BR29 e UFLA04-212 apresentaram os maiores valores de NN, seguidas das estirpes UFLA03-320 e UFLA03-321. Para MSN, os tratamentos inoculados superaram as testemunhas com/sem N mineral. Já no Latossolo Vermelho-amarelo, os tratamentos inoculados e a testemunha -N apresentaram maior nodulação e MSN que a testemunha +N.

Para teor e acúmulo de N na parte aérea, a testemunha que recebeu N mineral foi superior aos demais tratamentos no Cambissolo. As estirpes UFLA03-320 e UFLA04-212 foram semelhantes às estirpes referência (BR2003 e BR2801) em relação ao TNPA e superaram as demais estirpes e a testemunha -N. Isto também ocorreu para ANPA, exceto para a estirpe UFLA03-320.

Já no Latossolo Vermelho-amarelo, não houve diferença significativa entre os tratamentos para o TNPA. Para o ANPA, todos os tratamentos foram semelhantes entre si e superiores à estirpe BR29.

No solo cujo pH é mais elevado (Latosolo Vermelho-amarelo), não houve diferença entre os tratamentos inoculados e o que recebeu N mineral. Já no solo ácido, a diferença entre eles foi maior. A simbiose é mais sensível aos estresses ambientais que plantas adubadas com N mineral. Dessa forma, algum fator mais estressante para a planta, como baixo pH, pode ter ocorrido, o que afetou a simbiose. O hospedeiro pode ser mais afetado pela acidez do que a bactéria (Moreira & Siqueira, 2006).

Na ausência de calagem, o crescimento e a nodulação do guandu foram drasticamente limitados, principalmente devido à toxicidade de alumínio (COSTA et al., 1989).

Mapfumo et al. (2000), avaliando a resposta do guandu à inoculação em diferentes solos do Zimbabwe, não encontraram efeito significativo da inoculação, porém, o efeito do solo foi altamente significativo. Freitas et al. (2003), selecionando estirpes tolerantes à salinidade, em vaso com solo, observaram que o aumento da salinidade reduz o desenvolvimento do guandu, a nodulação e a fixação do N_2 , e algumas estirpes foram semelhantes ao controle que recebeu N mineral.

Avaliação da eficiência em campo

No ensaio de campo realizado em Lavras, não houve diferença significativa para os parâmetros avaliados na floração (Tabela 6) e na colheita (Tabela 7). A produtividade foi superior a 2.200 kg ha^{-1} para todos os tratamentos. Este trabalho apresentou valores médios de produtividade (2.721 kg ha^{-1}) superiores ao informado pelo IAC (2013) (1.200 a 1.800 kg ha^{-1}).

As populações nativas do solo demonstraram ser eficientes em fixar o N_2 e promover o crescimento do guandu, associado às boas condições de fertilidade e matéria orgânica do solo, que permitiram seu estabelecimento e sobrevivência. Nos solos usados no presente estudo, as populações nativas de BFNN estavam superiores a $20 \text{ células.g solo}^{-1}$, o que pode afetar a resposta a inoculação (Singleton & Tavares, 1986).

Conclusões

1 - As estirpes testadas foram capazes de nodular o guandu e algumas foram eficientes em promover o crescimento vegetal do guandu cv. IAC Fava-Larga, podendo ser aprovada como inoculante para a cultura.

2 - O tipo de solo influencia a simbiose entre guandu e bactérias fixadoras de nitrogênio.

3 - Os solos testados têm populações nativas eficientes em fixar o N₂, o que foi confirmado pelo ensaio no campo com Latossolo Vermelho-amarelo.

Agradecimentos

Ao Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsas aos autores.

Referências

ANAND, R.C.; DOGRA, R.C. Comparative efficiency of *Rhizobium/Bradyrhizobium* spp. strains in nodulating *Cajanus cajan* in relation to characteristic metabolic enzymes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, p. 283–287, 1997.

BELTRAME, T.P.; RODRIGUES, E. Feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na restauração de florestas tropicais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n. 1, p. 19-28, jan./mar. 2007.

BIDLACK J.E.; RAO S.C.; DEMEZAS D.H. Nodulation, nitrogenase activity, and dry weight of chickpea and pigeon pea cultivars using different *Bradyrhizobium* strains. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 549–560, 2001.

BRASIL. **Instrução Normativa n 13 de 24 de março de 2011. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, n. 58 de 25 de março de 2011.** Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=3&data=25/03/2011>>.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; NOVAES, N.J.; SALGADO, J.M.; MARQUEZ, U.M.L.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação nutricional do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v.16, n.1, p.36-41, 1996.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 375-470.

COSTA, N. de L.; PAULINO, V.T.; SCHAMMAS, E.A. Produção de forragem, composição mineral e nodulação do guandu afetadas pela calagem e adubação fosfatada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, n.1, p.51-58, 1989.

ESPAÑA, M.; CABRERA BISBAL, E.; LÓPEZ, M. Study of nitrogen fixation by tropical legumes in acid soil from venezuelan savannas using ¹⁵N. **Interciencia**, v. 31, n. 3, p. 197-201, 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, p. 321-327, 2000.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; HUNGRIA, M. Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, p. 835-842, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLORENTINO, L.A.; GUIMARÃES, A.P.; RUFINI, M.; SILVA, K. da; MOREIRA, F.M.S. *Sesbania virgata* stimulates the occurrence of its microsymbiont in soils but does not inhibit microsymbionts of other species. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n. 5, p.667-676, Set./Out. 2009.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology**: with special reference to the microorganisms of the soil. New York: McGraw-Hill, 1928. 145 p.

FREITAS, A.D.S.; MEDEIROS, P.J.C.; SANTOS, C.E.R.S.; STANFORD, N.P. Fixação do N₂ e desenvolvimento do Guandu inoculado com rizóbio em um cambissolo salinizado do Semi-árido. **Agropecuária Técnica**, Areia, PB, v. 24, n. 2, p. 87-95, 2003.

HEINRICHS R., VITTI G.C., MOREIRA A., FIGUEIREDO P. A. M., FANCELLI A L.& CORAZZA E. J.. Características químicas de solo e rendimento de foinomassa de adubos verdes e de grãos de milho, decorrentes do cultivo consorciado. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v. 29, p. 71-79, 2005.

HERRIDGE, D.F.; HOLLAND, J.F.; Low nodulation and N₂ fixation limits yield of pigeonpea on alkaline vertisols on northern N.S.W.: effect of iron, rhizobia and plant genotype. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 44: 137-149. 1993.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32 p. (Circular 347).

IAC, Instituto Agronômico de Campinas. Guandu IAC Fava Larga. Campinas, 2013. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/graos/guandu.php>. Acesso dia 30 de dezembro de 2013.

LA FAVRE, J.S.; FOCHT, D.D. Comparison of N₂ fixation and yields in *Cajanus cajan* between hydrogenase-positive and hydrogenase-negative rhizobia by *in situ* acetylene reduction assays and direct ¹⁵N partitioning. **Plant Physiology**, Madison, v. 72, p. 971-977, 1983.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201 p.

MAPFUMO, S.P.; MPEPEREKI, S.; MAFONGOYA, P. Pigeonpea rhizobia prevalence and crop response to inoculation in Zimbabwean smallholder-managed soil. **Experimental Agriculture**, Cambridge, v. 36, n. 4, p. 423-434, Out. 2000.

MARTINS, N.M.; SILVA, A.T; MERCANTE, F.M. Eficiência simbiótica de isolados de rizóbios nativos de Mato Grosso do Sul, inoculados em guandu. **Cadernos de Agroecologia**, v. 7, n. 2, p. 1 – 5, 2012.

MIZUBUTI, I.Y.; FONSECA, N.A.N.; PINHEIRO, J.W.; KHA TOUNIAN, C.A.; TONELOTTO, L.; ARAUJO, M.A.R.; IOSHIMITSU, M. M. M. Avaliação da utilização de feijão guandu cru moído (*Cajanus cajan*(L) Millsp) sobre os índices indiretos de produtividade de frangos de corte. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 56-63, 1995.

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

PAZ, L.G; LUPCHINSKI, E.W.L.; SANTOS, M.V.F.; SILVA, J.A.A. Efeito do nitrogênio e estirpes de *Bradyrhizobium* na fixação do nitrogênio e desenvolvimento do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) cv. Fava Larga. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v. 2, n. 1, p. 96-106, 2000.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SOUZA, C. M.; SANTOS, J. B.; SILVA, G. P. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebutiuron. Mossoró, **Caatinga**, v. 19, n.1, p.92-97, 2006.

RUFINI, M.; SILVA, M. A. P.; FERREIRA, P. A. A.; CASSETARI, A. S.; SOARES, B. L.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils**, v. 50, p. 115-122, 2014.

SANGINGA N.; WIRKOM, L.E.; OKOGUN, J.A.; AKOBUNDU, I.O.; CARSKY, R.J.; TIAN, G. Nodulation and estimation of symbiotic nitrogen fixation by herbaceous and shrub legumes in Guinea savanna in Nigeria. **Biol. Fertil. Soils.**, v.23, p. 441–448, 1996.

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

SINGLETON, P.W.; TAVARES, J.W. Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous *Rhizobium* population. **Applied and Environmental Microbiology**, v.51, p.1013-1018, 1986.

VALARINI, M.J.; GODOY, R. Contribuição da fixação simbiótica de nitrogênio na produção do guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Scientia Agricola**, v. 51, p. 500–504. 1994.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p. (International Biological Programme Handbook, n. 15).

Tabela 1. Origem e características das estirpes de *Bradyrhizobium* testadas.

	Estirpe	Origem			Eficiência simbiótica ¹	Fonte e referência ²
		Estado/ região	Sistema de uso da terra	Planta hospedeira		
1	UFLA03-153	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
2	UFLA03-154	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
3	UFLA03-164	Minas Gerais	Mineração de bauxita	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Oliveira-Longatti, et al., 2013
4	UFLA03-320	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
5	UFLA03-321	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
6	UFLA03-325	Minas Gerais	Agricultura	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Rufini et al., 2014
7	UFLA04-212	Amazônia	Agricultura	<i>Macroptilium atropurpureum</i>	<i>Macroptilium atropurpureum</i> (E)	SBMPBS/UFLA; Moreira et al., não publicado
8	INPA 03-11b	Amazônia	Floresta	<i>Centrosema sp.</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	SBMPBS/UFLA; Soares et al., 2006
9	UFLA 03-84	Rondônia	Pastagem	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	SBMPBS/UFLA; Soares et al., 2006
10	BR 3267	Semiárido Nordeste	-	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Martins et al., 2003
11	BR 29	Rio de Janeiro	-	-	<i>Glycine Max</i> (R)	CNPAB; Peres & Vidor, 1980; Rumjanek et al., 1993
12	BR2801	Rio de Janeiro	-	<i>Crotalaria spp</i>	<i>Cajanus cajan</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Brasil, 2011
13	BR2003	Brasília	-	<i>Stylosantes spp.</i>	<i>Cajanus cajan</i> (R)	EMBRAPA Agrobiologia; Brasil, 2011

¹E=Eficiente (peso seco da parte aérea do tratamento inoculado com a estirpe testada = controle não inoculado que recebeu N mineral); R= aprovada como inoculante para *Vigna unguiculata* (UFLA03-84, INPA03-11b e BR3267), *Glycine max* (BR 29) e *Cajanus cajan* (BR2801, BR2003) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

²SBMPBS/UFLA= Coleção de bactérias do Setor de Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo da Universidade Federal de Lavras.

Tabela 2. Resultado da análise química e física da amostra de solo (0 a 20 cm de profundidade) antes da adubação.

Característica		Valores	
		Cambissolo	Latossolo vermelho-amarelo
Coordenadas geográficas	-	21°32' S, 44°57' W	21°12' S, 44°58' W
pH em H ₂ O (1:2,5)	-	4,6	5,9
P (Fósforo Mehlich I)	mg dm ⁻³	0,56	5,81
K (Potássio Mehlich I)	mg dm ⁻³	68	128
Ca	cmol _c dm ⁻³	0,4	3,5
Mg	cmol _c dm ⁻³	0,2	1,1
Al	cmol _c dm ⁻³	0,8	0,1
H + Al	cmol _c dm ⁻³	5,05	4,04
S.B	cmol _c dm ⁻³	0,77	4,93
T	cmol _c dm ⁻³	5,82	8,97
t	cmol _c dm ⁻³	1,57	5,03
m	%	50,96	1,99
V	%	13,31	54,94
Matéria orgânica	dag kg ⁻¹	3,41	2,61
Areia	dag kg ⁻¹	40	59
Silte	dag kg ⁻¹	25	7
Argila	dag kg ⁻¹	35	34

Análise realizada pelo Laboratório do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. S.B= soma de bases. T= capacidade de troca de cátions a pH 7. t= capacidade efetiva de troca de cátions. m= saturação por alumínio. V= saturação por bases.

Tabela 3. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura da cv. IAC Fava-Larga, em vaso Leonard, nos diferentes tratamentos de fontes de N.

Tratamentos	NN/ vaso	MSN (g vaso ⁻¹)	MSR (g vaso ⁻¹)	MSPA (g vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg vaso ⁻¹)	Altura (cm)
+N (52,5mg L ⁻¹)	0 d	0 b	1,053 b	3,023 c	100, c	1,47 b	44,053 c	33,92 b
-N (5,25mg L ⁻¹)	0 d	0 b	0,287 c	0,740 d	24,5 d	1,86 b	13,481 c	22,50 b
BR2003	99 c	0,257 a	1,683 a	4,510 a	148,9 a	3,12 a	140,296 a	48,33 a
BR2801	89 c	0,254 a	1,530 a	4,400 a	146,7 a	3,21 a	141,830 a	45,58 a
BR29	93 c	0,312 a	0,703 c	2,600 c	85,8 c	2,95 a	76,492 b	34,67 b
UFLA03-84	106 c	0,245 a	0,977 b	3,267 b	108,2 b	3,47 a	114,539 a	40,83 a
INPA03-11B	78 c	0,374 a	1,173 b	3,827 b	126,1 b	2,82 a	107,874 a	43,33 a
BR3267	100 c	0,198 a	0,653 c	2,797 c	93,1 c	2,77 a	77,298 b	33,33 b
UFLA03-153	106 c	0,279 a	0,917 c	3,397 b	113,5 b	3,51 a	120,662 a	38,58 a
UFLA03-154	180 b	0,172 a	0,717 c	2,890 c	96,4 c	3,34 a	96,802 a	33,33 b
UFLA03-164	71 c	0,158 a	0,573 c	2,127 c	70,1 c	2,99 a	64,688 b	29,92 b
UFLA03-320	159 b	0,271 a	1,230 b	4,283 a	142,3 a	3,25 a	140,786 a	47,33 a
UFLA03-321	138 b	0,213 a	1,043 b	4,183 a	137,4 a	3,73 a	152,104 a	44,25 a
UFLA03-325	156 b	0,184 a	0,800 c	3,443 b	114,1 b	3,34 a	115,319 a	42,42 a
UFLA04-212	285 a	0,273 a	1,260 b	4,140 a	137,2 a	3,51 a	145,895 a	46,50 a
P valor	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001
CV(%)	21,92	4,66	29,21	16,90	17,30	14,83	23,64	14,72

Médias de três repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura em função dos tratamentos e tipos de solo testados em guandu cv. IAC Fava-Larga, em condições de vaso com solo em casa de vegetação.

Tratamentos	NN/ vaso	MSN (g vaso ⁻¹)	MSPA (g vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg vaso ⁻¹)	Altura (cm)
+N (300 mg dm ⁻³)	5 d	0,043 c	6,539 a	100,0 a	3,41 a	218,363 a	55,16 a
-N	17 c	0,219 b	4,901 a	75,3 a	2,50 c	126,224 c	48,52 a
BR2003	24 b	0,347 a	5,616 a	88,1 a	2,83 b	160,674 b	54,43 a
BR2801	28 b	0,380 a	5,490 a	87,4 a	2,81 b	155,907 b	53,48 a
BR29	37 a	0,404 a	4,510 a	72,5 a	2,39 c	107,811 c	48,70 a
UFLA03-320	27 b	0,371 a	5,500 a	83,3 a	2,84 b	160,256 b	50,63 a
UFLA03-321	23 b	0,342 a	5,144 a	82,6 a	2,78 b	146,257 b	51,80 a
UFLA04-212	46 a	0,331 a	5,386 a	83,4 a	2,83 b	154,515 b	53,61 a
P valor	0,0000	0,0000	0,0172	0,2293	0,0000	0,0000	0,2323
Solo	NN/ vaso	MSN (g vaso ⁻¹)	MSPA (g vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg vaso ⁻¹)	Altura (cm)
Luminárias	13 b	0,216 b	5,020 b	89,5 a	2,58 b	132,529 b	48,82 b
Lavras	39 a	0,393 a	5,752 a	78,7 b	3,01 a	174,972 a	55,26 a
P valor	0,0000	0,0000	0,0057	0,0367	0,0000	0,0000	0,0001
CV(%)	27,15	6,87	18,69	23,91	11,31	20,94	11,75

Médias seguidas pela mesma letra, para cada fator, pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e altura, em função dos tratamentos testados em guandu cv. IAC Fava-Larga, em diferentes solos, em condições de vaso com solo em casa de vegetação.

Solo	Tratamentos	NN/ vaso	MSN (g vaso ⁻¹)	MSPA (g vaso ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg vaso ⁻¹)	Altura (cm)
Cambissolo	+N (300 mg dm ⁻³)	1 c	0,004 b	5,798 a	100,0 a	3,84 a	218,156 a	48,38 a
	-N	1 c	0,011 b	4,403 a	77,5 a	2,02 c	88,348 c	44,48 a
	BR2003	19 a	0,329 a	5,310 a	93,3 a	2,63 b	142,360 b	54,00 a
	BR2801	19 a	0,402 a	5,395 a	99,9 a	2,63 b	145,109 b	51,58 a
	BR29	26 a	0,324 a	4,640 a	83,7 a	2,21 c	103,106 c	47,94 a
	UFLA03-320	8 b	0,236 a	4,703 a	80,6 a	2,44 b	116,106 c	45,84 a
	UFLA03-321	9 b	0,204 a	4,590 a	87,6 a	2,21 c	100,750 c	47,35 a
	UFLA04-212	21 a	0,222 a	5,323 a	93,1 a	2,70 b	146,299 b	51,01 a
Latossolo vermelho- amarelo	+N (300 mg dm ⁻³)	10 b	0,081 b	7,280 a	100,0 a	2,99 a	218,569 a	61,94 a
	-N	33 a	0,427 a	5,400 a	73,0 a	2,99 a	164,099 a	52,56 a
	BR2003	29 a	0,365 a	5,923 a	82,9 a	3,02 a	178,987 a	54,85 a
	BR2801	38 a	0,358 a	5,585 a	74,9 a	2,99 a	166,706 a	55,38 a
	BR29	47 a	0,485 a	4,380 a	61,4 a	2,57 a	112,515 b	49,46 a
	UFLA03-320	46 a	0,506 a	6,298 a	86,0 a	3,25 a	204,406 a	55,41 a
	UFLA03-321	36 a	0,480 a	5,698 a	77,5 a	3,35 a	191,763 a	56,25 a
	UFLA04-212	71 a	0,439 a	5,450 a	73,7 a	2,96 a	162,731 a	56,20 a
P valor		0,0480	0,0025	0,5181	0,7649	0,0000	0,0225	0,4313
CV(%)		27,15	6,87	18,69	23,91	11,31	20,94	11,75

Médias seguidas pela mesma letra, para cada solo, pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e de parte aérea (MSPA), eficiência relativa (ER), teor (TNPA) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), e kg de N por ha, em função dos tratamentos testados em guandu cv. IAC Fava-Larga, em condições de campo na floração.

Tratamentos	MFPA (g planta ⁻¹)	MSPA (g planta ⁻¹)	ER (%)	TNPA (%)	ANPA (mg planta ⁻¹)	Altura (m)	Diâmetro (mm)	kg de N ha ⁻¹
+N (70 kg ha ⁻¹)	1064,4 a	383,5 a	100,0 a	3,58 a	13448,11 a	3,18 a	23,71 a	712,750 a
-N	905,8 a	326,3 a	90,2 a	3,41 a	10853,70 a	3,33 a	22,23 a	575,246 a
BR2003	744,6 a	269,3 a	73,8 a	3,38 a	9057,75 a	3,31 a	21,56 a	480,061 a
BR2801	863,4 a	319,8 a	89,0 a	3,25 a	10237,11 a	3,25 a	23,07 a	542,567 a
BR29	1068,0 a	385,7 a	109,0 a	2,96 a	11746,54 a	3,42 a	21,93 a	622,567 a
UFLA03-320	1355,0 a	461,3 a	125,9 a	3,41 a	15810,47 a	3,37 a	22,39 a	837,955 a
UFLA03-321	825,4 a	289,7 a	79,5 a	3,58 a	10340,46 a	3,22 a	24,56 a	548,044 a
UFLA04-212	918,1 a	322,5 a	90,4 a	3,51 a	11314,42 a	3,29 a	21,10 a	599,664 a
P valor	0,0798	0,1046	0,0835	0,4684	0,0813	0,8092	0,4399	0,0813
CV(%)	26,83	25,49	24,03	12,13	24,97	6,55	10,03	24,97

Médias de quatro repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Número de vagens/planta, número de grãos/vagem, peso de 100 grãos, rendimento, teor (TNG) e acúmulo de N nos grãos (ANG), em função dos tratamentos testados em guandu cv. IAC Fava-Larga, em condições de campo.

Tratamentos	Nº vagens/ planta	Nº grãos/ vagem	Peso 100 grãos (g)	Rendimento (kg ha ⁻¹)	TNG (%)	ANG (kg ha ⁻¹)
+N (70 kg ha ⁻¹)	174 a	4,5 a	11,529 a	2845,28 a	3,82 a	108,257 a
-N	150 a	4,6 a	12,467 a	2330,46 a	3,82 a	89,055 a
BR2003	134 a	4,7 a	12,003 a	2277,56 a	3,88 a	88,165 a
BR2801	199 a	4,8 a	12,543 a	2528,13 a	4,07 a	104,392 a
BR29	183 a	4,6 a	12,218 a	3222,29 a	3,82 a	122,959 a
UFLA03-320	148 a	4,7 a	12,245 a	2652,07 a	4,02 a	106,252 a
UFLA03-321	201 a	4,6 a	12,275 a	2779,82 a	3,96 a	109,623 a
UFLA04-212	124 a	4,6 a	12,825 a	3136,77 a	4,02 a	126,033 a
P valor	0,2192	0,6326	0,0753	0,1310	0,3623	0,1053
CV(%)	29,06	4,64	4,24	18,68	4,79	18,15

Médias de quatro repetições seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, na mesma coluna pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.