



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

AURO AKIO OTSUBO

**SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO E DE GENÓTIPOS DE
FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) VISANDO O
INCREMENTO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO
E DA PRODUÇÃO DE GRÃOS**

Londrina
2012

AURO AKIO OTSUBO

**SELEÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO E DE GENÓTIPOS DE
FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) VISANDO O
INCREMENTO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO
E DA PRODUÇÃO DE GRÃOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito

Co-Orientador: Dr. Fábio Martins Mercante

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca
Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

O88s Otsubo, Auro Akio.
Seleção de estirpes de rizóbio e de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) visando o incremento da fixação biológica de nitrogênio e da produção de grãos / Auro Akio Otsubo. – Londrina, 2012. 105 f. : il.

Orientador: Osmar Rodrigues Brito.

Coorientador: Fábio Martins Mercante.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Feijão – Teses. 2. Feijão – Inoculação – Teses. 3. Nitrogênio – Fixação – Teses. 4. Simbiose – Teses. 5. Rizóbio – Teses. I. Brito, Osmar Rodrigues. II. Mercante, Fábio Martins. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 635.652

AURO AKIO OTSUBO

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) E
DE ESTIRPES DE RIZÓBIO, VISANDO O INCREMENTO DA FIXAÇÃO
BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E DA PRODUÇÃO DE GRÃOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, da Universidade
Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cássio Egídio Cavenaghi Prete
UEL – Londrina - Pr

Prof^a. Dra. Maria de Fátima Guimarães
UEL – Londrina - Pr

Dr. Nagib Jorge Melém Júnior
EMBRAPA – Londrina - Pr

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira
EMBRAPA – Londrina - Pr

Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito
Orientador
UEL – Londrina - Pr

Londrina, 17 de fevereiro de 2012.

À minha esposa Ilda e meus filhos Victor Hugo
e Gabrielle pelo amor, paciência e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela graça da vida;

A Embrapa Agropecuária Oeste e à Universidade Estadual de Londrina, através da Coordenação do Curso de Pós Graduação em Agronomia pela oportunidade de aperfeiçoar os conhecimentos;

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul – FUNDECT, pelo auxílio através da bolsa de estudo;

Ao Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito e seus familiares, não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela amizade;

Ao colega e co-orientador, Dr. Fábio Martins Mercante pelo auxílio técnico e amizade;

Aos professores do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, pela minha formação durante o curso;

Aos colegas Nagib Jorge Melém Júnior, Jenniffer Aparecida Schnitzer, Stasnilas Mayi III, Tiago Santos Telles e a Walquíria Machado pela amizade, incentivo e momentos de convivência;

A Weda Aparecida Westin, secretária da Coordenação do Curso pela paciência e auxílio durante a realização do curso;

Ao João Machado dos Santos, técnico do laboratório de solos da UEL, pela ajuda e presteza durante a realização dos trabalhos laboratoriais.

"Neste mundo não existe verdade universal. Uma mesma verdade pode apresentar diferentes fisionomias. Tudo depende das decifrações feitas através de nossos prismas intelectuais, filosóficos, culturais e religiosos."

Dalai-Lama

OTSUBO, Auro Akio. **Seleção de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e de estirpes de rizóbio, visando o incremento da fixação biológica de nitrogênio e da produção de grãos.** 2012. 105 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

A baixa produtividade observada no cultivo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil tem na disponibilidade do nitrogênio, um dos principais fatores para esse quadro. O trabalho teve por objetivo identificar genótipos de feijoeiro responsivos à fixação biológica de nitrogênio (FBN) e estirpes de rizóbio mais eficientes nesse processo. A metodologia constou de duas fases: a) seleção de estirpes de rizóbio e, b) Identificação de genótipos de feijoeiro com maior capacidade de FBN. Para a primeira fase foi utilizada a coleção de culturas de bactérias diazotróficas simbióticas da Embrapa Agropecuária Oeste, obtidas de solos do Estado do Mato Grosso do Sul. Os isolados mais eficientes em ensaios preliminares foram avaliados sob condições de campo, na safra 2007, nos municípios de Aquidauana, Anaurilândia; Campo Grande e Dourados (Artigo A). Utilizando o delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições foram testados os seguintes tratamentos: T1 (controle), T2 (adubação nitrogenada com 80 kg ha⁻¹ de N), T3 (estirpe CIAT 899) + 20 kg ha⁻¹ de N, T4 (estirpe CIAT 899), T5 (estirpe PRF 81), T6 (estirpe H 12), T7 (estirpe CPAO 2.11 L), T8 (estirpe CPAO 12.5 L2), T9 (estirpe CPAO 17.5 L2) e T10 (estirpe CPAO 56.4 L2). Para a segunda fase, foram avaliadas as linhagens de feijoeiro componentes do ensaio Valor de Cultivo e Uso dos grupos comerciais carioca (Artigo B) e preto (Artigo C). Nesta etapa o delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições em um esquema fatorial 2x14 (artigo B) e 2x11 (artigo C), em que os fatores foram as duas formas de fornecimento de nitrogênio (N-mineral e inoculação) com 14 e 11 diferentes linhagens de feijoeiro, respectivamente, para carioca e preto. As sementes foram inoculadas com uma mistura das estirpes de *Rhizobium tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) e PRF 81 (SEMIA 4080). Na avaliação das estirpes, as maiores produtividades foram obtidas quando se fez a inoculação das sementes com as estirpes CPAO 56.4 L2 e CPAO 12.5 L2, que não diferiram da adubação nitrogenada. Comparando com a resposta média obtida com os inoculantes comerciais, as estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L determinaram respectivamente, produtividades 25, 19, 9 e 8% superiores. As receitas líquidas obtidas com as culturas inoculadas com as estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L foram superiores àquelas obtida com a adubação nitrogenada. Entre as linhagens de feijoeiro do grupo carioca, a CNFC 11946 foi a mais produtiva quando inoculada com *R. tropici*, indicando a possibilidade de se eliminar a recomendação de adubação nitrogenada para esta cultivar. A CNFC 10762 foi a única linhagem que apresentou maior produtividade quando adubada com N. Quanto às linhagens de feijoeiro do grupo preto, a inoculação em linhagens adaptadas também proporcionou produtividades semelhantes àquelas que receberam adubação com 80 kg ha⁻¹ de N. A linhagem CNFP 10793 apresentou maior capacidade produtiva quando inoculada com *Rhizobium*.

Palavras-chave: Simbiose. Linhagens melhoradas. Cultivares. Inoculantes. Receita econômica.

OTSUBO, Auro Akio. **Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes and Rhizobium strains for increasing biological nitrogen fixation and grain yield.** 2012. 105 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

The low yield in the cultivation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Brazil has on the availability of nitrogen, a major factor for this cause. The study aimed to identify bean genotypes responsive to the biological nitrogen fixation (BNF) and Rhizobia strains more efficient in this process. The methodology consisted of two phases: a) selection of strains of Rhizobium; and b) Identification of common bean genotypes with greater ability to FBN. For the first stage it was used a culture collection of symbiotic diazotrophs of Embrapa, obtained from the soil of Mato Grosso do Sul state. The most efficient isolates in preliminary tests were evaluated under field conditions. The 2007 harvest in the counties of Aquidauana, Anaurilândia, Campo Grande and Dourados (Article A). Using a randomized block design with four replicates the following treatments were tested: T1 (control), T2 (N fertilization with 80 kg N ha⁻¹), T3 (CIAT 899) + 20 kg N ha⁻¹, T4 (CIAT 899), T5 (strain PRF 81), T6 (strain H 12), T7 (strain CPAO 2.11 L), T8 (12.5 CPAO strain L2), T9 (17.5 CPAO strain L2) and T10 (strain 56.4 CPAO L2). For the second phase, it was evaluated the strains of bean components of the test Value for Cultivation and Use of trade groups Carioca (Article B) and Black (Article C). In this phase the experimental design was randomized blocks with three replications in a factorial 2x14 (Article B) and 2x11 (Article C), in which the factors were the two forms of nitrogen supply (N-mineral and inoculation) with 14 and 11 different bean lines, respectively, for Carioca and Black. The seeds were inoculated with a mixture of *Rhizobium tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) and PRF 81 (SEMIA 4080) strains. In the evaluation of the strains, the highest yields were obtained when the seed was inoculated with strains CPAO 56.4 L2 and CPAO 12.5 L2 which did not differ from N fertilization. Compared with the mean response obtained with the inoculants, strains CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2, and CPAO 2.11 L determined respectively, yields of 25, 19, 9, and 8% higher. The net revenue obtained from cultures inoculated with strains CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 and CPAO 2.11 L were higher than those obtained with nitrogen. Among the carioca bean group, the CNFC 11946 was the most productive when inoculated with *R. tropici*, suggesting the possibility of eliminating the recommendation for fertilization for this cultivar. The CNFC 10762 was the only strain that showed the highest yield when fertilized with mineral-N. As the strains of the black bean, inoculation adapted strains also gave yields similar to those that were fertilized with 80 kg ha⁻¹ N. The strains CNFP 10793 showed higher yield capacity when inoculated with Rhizobium.

Key – words: Symbiosis. Breed lines. Cultivars. Inocula. Economic income.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Municípios do Estado do Mato Grosso do Sul onde foram realizadas as coletas de amostras solos para isolamento de rizóbio nativos de áreas de cultivo de feijão.....29

Artigo A

Figura 3.1 – Valores das precipitações pluviométricas mensais ocorridas durante o período experimental, nas diferentes áreas de instalação dos experimentos.....38

Figura 3.2 – Percentagem de acréscimos na produtividade do feijoeiro pelas novas estirpes de rizóbio nativas de solos do Brasil Central em relação à média das estirpes comerciais CIAT 899 (SEMIA 4077), PRF 81 (SEMIA 4080) e H 12 (SEMIA 4088), em quatro localidades do Estado do Mato Grosso do Sul (Aquidauana, Anaurilândia, Campo Grande e Dourados). Safra 2007.....45

Artigo B

Figura 4.1 – Variações das temperaturas máximas e distribuição das chuvas durante o período experimental, por decêndio nos anos 2008 e 2009, e médias históricas de precipitação e temperatura máxima. Dourados-MS. Fonte: Estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste.....60

Figura 4.2 – Percentual médio de acréscimos de produtividade de diferentes linhagens de feijoeiro carioca em relação ao controle, representado pela média das cultivares comerciais cultivadas na região (BRS Estilo, BRS Cometa, IPR Juriti e Pérola), quando adubadas com 80 kg ha⁻¹ de N mineral, nos experimentos realizados em 2008 e 2009. Dourados-MS.....71

Figura 4.3 – Percentual médio de acréscimos de produtividade de diferentes linhagens de feijoeiro carioca em relação ao controle, representado pela média das cultivares comerciais cultivadas

na região (BRS Estilo, BRS Cometa, IPR Juriti e Pérola), quando inoculadas com *Rhizobium tropici* (CIAT 899), nos experimentos realizados em 2008 e 2009. Dourados-MS.....72

Artigo C

- Figura 5.1** – Variações das temperaturas máximas e distribuição das chuvas por decêndios durante o período experimental nos anos 2008 e 2009. Dourados-MS. Fonte: Estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO, 2011)80
- Figura 5.2** – Acréscimo na produção de grãos, em porcentagem, de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo preto, comparados com o controle (média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo), quando supridas com N-mineral (80 kg ha⁻¹) em 2008 e 2009. Dourados-MS.....92
- Figura 5.3** – Acréscimo na produção de grãos, em porcentagem, de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo preto, comparados com o controle (média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo), quando inoculadas com *Rhizobium tropici* (CIAT 899), em 2008. Dourados-MS.....93

LISTA DE TABELAS

Artigo A

- Tabela 3.1** – Características químicas do solo das áreas experimentais37
- Tabela 3.2** – Variáveis agronômicas e produtividade do feijoeiro (cv. Pérola) em quatro localidades do estado de Mato Grosso do Sul. Safra 200741
- Tabela 3.3** – Análise conjunta para número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de matéria seca de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função dos diferentes tratamentos testados. Médias de quatro locais (Aquidauana-MS, Anaurilândia-MS, Campo Grande-MS e Dourados-MS). Safra 200746
- Tabela 3.4** – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa seca de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Aquidauana – MS. Safra 200747
- Tabela 3.5** – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Anaurilândia – MS. Safra 200748
- Tabela 3.6** – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de

rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Campo Grande – MS. Safra 2007	49
Tabela 3.7 – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Dourados – MS. Safra 2007	50
Tabela 3.8 – Variação de receita financeira em função da aplicação de N-mineral e inoculação de sementes de feijoeiro com diferentes estirpes de <i>Rhizobium</i> , em relação ao tratamento sem inoculação e sem adubação (controle), média dos locais: Aquidauana-MS, Anaurilândia-MS, Campo Grande-MS e Dourados-MS. Safra 2007.....	51

Artigo B

Tabela 4.1 – Os resultados das análises químicas dos solos das áreas experimentais antes da instalação dos experimentos.....	58
Tabela 4.2 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com <i>Rhizobium tropici</i> em algumas variáveis relativas à nodulação e das plantas do feijoeiro carioca. Experimento 1. Dourados-MS, 2008	65
Tabela 4.3 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com <i>Rhizobium tropici</i> em algumas variáveis de produção e nos teores de N dos grãos do feijoeiro carioca. Experimento 1. Dourados-MS, 2008	66
Tabela 4.4 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com <i>Rhizobium tropici</i> em algumas variáveis relativas à nodulação e das plantas do feijoeiro carioca. Experimento 2. Dourados-MS, 2009	67

Tabela 4.5 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com <i>Rhizobium tropici</i> em algumas variáveis de produção e nos teores de N dos grãos do feijoeiro carioca. Experimento 2. Dourados-MS, 2009	68
Tabela 4.6 – Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹) de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial carioca, quando submetidos à inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> e N-mineral, em duas safras. Dourados-MS. Experimento 1 (2008) e Experimento 2 (2009)	70
 Artigo C	
Tabela 5.1 – Características químicas do solo das áreas experimentais	80
Tabela 5.2 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores agronômicos. Dourados-MS, 2008. Experimento 1	86
Tabela 5.3 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores de produção. Dourados-MS, 2008. Experimento 1	87
Tabela 5.4 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores agronômicos. Dourados-MS, 2009. Experimento 2	88
Tabela 5.5 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores de produção. Dourados-MS, 2009. Experimento 2	89
Tabela 5.6 – Produtividade de grãos de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto, quando submetidos à inoculação com <i>Rhizobium tropici</i> e N-mineral. Dourados-MS	90

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 DILEMA MUNDIAL: PRODUÇÃO X SUSTENTABILIDADE.....	18
2.2 ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DO CULTIVO DO FEIJOEIRO NO BRASIL.....	19
2.3 O NITROGÊNIO	21
2.4 A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)	23
2.4.1 A FBN EM FEIJOEIRO	26
3 ARTIGO A: AVALIAÇÃO DE ESTIRPES NATIVAS DE <i>Rhizobium sp</i> PARA INOCULAÇÃO DO FEIJOEIRO	31
3.1 RESUMO	32
3.2 ABSTRACT.....	32
3.3 INTRODUÇÃO	33
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.6 CONCLUSÕES.....	51
4 ARTIGO B: PRODUTIVIDADE E NODULAÇÃO DE LINHAGENS PROMISSORAS DE FEIJOEIRO DO GRUPO CARIOCA INOCULADAS COM <i>Rhizobium tropici</i> OU SUPRIDAS COM ADUBO NITROGENADO	52
4.1 RESUMO	53
4.2 ABSTRACT.....	53
4.3 INTRODUÇÃO	54
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4.6 CONCLUSÕES.....	72
5 ARTIGO C: LINHAGENS DE FEIJOEIRO DO TIPO PRETO, SUBMETIDAS À INOCULAÇÃO COM <i>Rhizobium tropici</i> E A ADUBAÇÃO NITROGENADA	74

5.1 RESUMO	75
5.2 ABSTRACT.....	75
5.3 INTRODUÇÃO	76
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	80
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
5.6 CONCLUSÕES	93
6 CONCLUSÕES GERAIS	94
REFERÊNCIAS.....	95

1 INTRODUÇÃO

A busca por tecnologias sustentáveis deve ser prioridade, não somente por ser uma atitude inteligente e coerente, mas imperiosa para a própria segurança alimentar da humanidade, uma vez que os recursos naturais, utilizados para a produção de alimentos, são finitos e alguns já se encontram em esgotamento.

Nesse aspecto, o aprimoramento e aperfeiçoamento nos sistemas de produção de alimentos básicos como o feijão, arroz, batata, soja e mandioca, se torna estratégico e importante para aumentar a sustentabilidade e o uso racional dos recursos naturais, sobretudo o solo e a água.

O feijão, junto com o arroz, constitui a alimentação básica da população brasileira, sendo sua principal fonte protéica de origem vegetal. O seu cultivo se caracteriza pela diversidade tecnológica empregada que varia desde o cultivo de subsistência, com baixa produtividade, ao cultivo intensivo, com emprego da irrigação, sementes melhoradas, fertilizantes, manejo adequado de pragas, doenças e plantas daninhas e colheita mecanizada, situação em que se obtém altas produtividades.

Apesar da rusticidade, a grande heterogeneidade de ambientes verificada entre as regiões brasileiras onde o feijoeiro é cultivado, faz com que a seleção de materiais adaptados, produtivos e resistentes às pragas e doenças seja o objetivo dos melhoristas que visam sempre a disponibilização de novas cultivares. Outros fatores são levados em consideração nos programas de melhoramento, já que o feijoeiro apresenta alta variabilidade para caracteres como cor, tamanho e forma do grão, que são características essenciais para definição da preferência pelos consumidores e pelos produtores quando da escolha das variedades a serem consumidas e plantadas.

A expressão final do potencial produtivo de um cultivar ou genótipo reflete a interação entre suas características genéticas e os fatores ambientais a que foram submetidos. Fatores ambientais como clima (umidade e temperatura), solo (reação, compactação, disponibilidade de nutrientes, etc) e manejo da cultura (densidade, espaçamento, época de plantio, adubação, etc) em alguns aspectos podem ser adaptados ou alterados pelos agricultores. Dentre os elementos essenciais, o nitrogênio se destaca como sendo o nutriente mais requerido para a maioria dos cultivos, tornando-se limitante para a produção de alimentos. Se a

carência desse nutriente causa o malogro das lavouras, por outro lado, o uso descontrolado e excessivo, o torna um poluente, podendo impactar negativamente o ambiente e a saúde dos animais, inclusive dos humanos.

O nitrogênio é o elemento mais abundante na atmosfera terrestre, mas nenhum vegetal consegue aproveitá-lo nessa forma, necessitando ser previamente fixado biológica ou industrialmente, para produção dos chamados fertilizantes nitrogenados. Apesar da importância destes fertilizantes para o desenvolvimento da agricultura, em particular, no aumento da produtividade, há de se ressaltar a grande quantidade de energia consumida na sua fabricação, o que torna o balanço energético desfavorável para muitas culturas.

Espécies vegetais como as leguminosas e algumas gramíneas, conseguem através de um processo natural conhecido como fixação biológica utilizar o nitrogênio atmosférico por intermédio de bactérias diazotróficas a elas associadas. Neste sentido, vale destacar o avanço científico verificado na cultura da soja brasileira, que utilizando apenas a inoculação com estirpes eficientes de rizóbios dispensa integralmente a utilização de adubos nitrogenados, tornando-a competitiva no mercado internacional. Para o feijoeiro, com baixa frequência de resposta nesse quesito, ainda há um longo caminho a ser percorrido, principalmente no sentido de selecionar genótipos de plantas e de rizóbios que sejam eficientes na fixação biológica do nitrogênio (FBN), para que um dia se possa, como no caso da cultura da soja, dispensar a aplicação de adubos nitrogenados.

Os resultados obtidos nesse trabalho atendem à demanda de diferentes setores da sociedade, quanto à geração de conhecimento e desenvolvimento de tecnologias para maximizar a contribuição da FBN na cultura do feijoeiro e, conseqüentemente, elevar os níveis de produtividade, sem onerar o custo de produção e nem comprometer a sustentabilidade ambiental. A seleção de estirpes de rizóbio com maior capacidade competitiva e mais eficiente no processo simbiótico contribui para promover a redução ou eliminação do uso de fertilizantes nitrogenados e também para reduzir os custos de produção na cultura do feijoeiro. É importante salientar que na atualidade, a prática da inoculação na cultura do feijoeiro no Brasil ainda é pouco utilizada pelos agricultores. Apesar da venda de inoculantes para o feijoeiro ter dobrado nos últimos três anos, estima-se que menos de 1% dos agricultores pratiquem a inoculação. Existe, portanto, um grande mercado potencial

para comercialização de inoculantes contendo estirpes mais eficientes para o feijoeiro.

Deve-se ainda considerar a relevância da adoção dessa tecnologia na minimização dos impactos ambientais, econômicos e sociais, pois aproveitando a fixação biológica do N haverá como consequência redução no consumo de fertilizantes nitrogenados, reduzindo a poluição ambiental e os custos de produção. Do ponto de vista social, a adoção da tecnologia da FBN poderá aumentar a renda líquida dos agricultores e contribuirá para a fixação do homem no campo.

Esse trabalho teve por objetivo avaliar e selecionar estirpes de rizóbio e genótipos de feijoeiro visando o incremento da fixação biológica de nitrogênio e a produção de grãos pela cultura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DILEMA MUNDIAL: PRODUÇÃO DE ALIMENTOS X SUSTENTABILIDADE

O homem, ao utilizar os recursos naturais manipulando ou transformando-os para o seu bem estar, acaba por perturbar os equilíbrios da natureza. Desde o início das civilizações surgiu o dilema entre a utilização e preservação dos recursos naturais.

Em um estudo conduzido pela Embrapa (1994) visando avaliar a ação humana sobre os recursos naturais no século passado, foi possível constatar que vivemos em um ambiente de interdependência de fatores onde as ações de hoje terão reflexos no equilíbrio futuro. A necessidade de tornar sustentáveis os diferentes processos de aproveitamento dos recursos naturais para qualquer finalidade, inclusive a produção de alimentos, tornou-se uma preocupação da humanidade. Então como conciliar, o aumento populacional mundial com a produção de energia, fibras e alimentos, e ao mesmo tempo preservar os recursos naturais? A resposta passa pela utilização de tecnologias sustentáveis que além de garantir a conservação dos recursos naturais possam render lucros aos empreendedores e bem estar da comunidade em geral.

Em um estudo sobre previsão da produção agrícola no decênio 2009-18, a FAO (2009) estima que o aumento da produção será mais lento nos países industrializados, enquanto que países da América Latina, Ásia e Comunidade dos Estados Independentes (composta pelas antigas repúblicas soviéticas) registrarão maiores incrementos, e no caso particular do Brasil, a FAO prevê acréscimo de 50% nos próximos dez anos.

Dessa forma, a busca por tecnologias poupadoras de insumos e que estejam em consonância com a sustentabilidade dos sistemas produtivos deve ser uma constante para as diferentes áreas das ciências agrárias.

2.2 ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DO CULTIVO DO FEIJOEIRO NO BRASIL

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta grande importância socioeconômica para o Brasil, onde a combinação feijão com arroz é a principal dieta da nossa população. O feijão é a principal fonte protéica de origem

vegetal da nossa dieta, cujo grão tem cerca de 22 e 26% de proteína e é rico em vitaminas e minerais. Estima-se que 170g de feijão cozido pode suprir 10% das necessidades diárias de cálcio e zinco, 20% de potássio e cobre, 25% de fósforo e 55% de ferro para os homens (SATHE et al., 1984 citados por LAJOLO; GENOVESE; MERCEDES, 1996). Por ser característica de pequenas propriedades, a cultura do feijão reveste-se de grande importância econômica para a nossa sociedade, uma vez que é a principal fonte de renda de muitos agricultores.

O avanço econômico experimentado pelo país, com o aumento de renda *per capita* dos brasileiros, tem gerado mudanças nos hábitos alimentares, com reflexo direto na redução do consumo de feijão. Segundo dados da CONAB (2011a), entre 1971 e 2009 o consumo médio anual por habitante caiu de 24,7 para 16,5 kg, com destaque para o estado de São Paulo, onde o consumo anual médio é de apenas 8,6 kg por habitante.

Segundo dados da FAO (2011), o Brasil foi o maior produtor mundial na safra de 2008, com uma produção de 3.461.194 t, seguido de Índia (3.010.000 t) e Myanmar (2.500.000 t). No Brasil, não há estatísticas oficiais detalhadas separando os dados de produção dos gêneros *Phaseolus* (feijoeiro comum) e *Vigna* (caupi), mas, de acordo com a CONAB (2011a), na safra 2009/10, em torno de 90,7% da produção nacional de feijão foi de *Phaseolus*.

No Brasil o feijoeiro é cultivado em todas as regiões fisiográficas, nos mais diferentes sistemas de cultivo e ambientes, gerando diferentes valores de produção e produtividade. Isso fica evidente nos dados apresentados da safra 08/09 (CONAB, 2011b) quando as regiões Norte e Nordeste produziram 1.042.400 t, equivalendo a 29,9% da produção nacional, e a região Centro Sul produziu 2.448.200 t, correspondendo a 70,1%. Os Estados que mais produziram foram o Paraná (723.200 t), Minas Gerais (599.300 t), Bahia (336.400 t) e Goiás (263.800 t).

Em termos de produtividade, o nível tecnológico empregado determina os valores de produtividades obtidas. Enquanto a produtividade média nas regiões norte e nordeste foi de apenas 443 kg ha⁻¹ na safra 2008/09, na região centro sul foi 1.363 kg ha⁻¹, muito abaixo do potencial produtivo da cultura, que segundo Yokoyama et al. (1999) é de 4.000 kg ha⁻¹.

O cultivo do feijoeiro no Brasil, segundo Fancelli e Dourado Neto (2007) se dá em três épocas distintas de semeadura: “época das águas” ou primeira

safra (agosto a novembro); “época da seca” ou segunda safra (janeiro a março) e “época de inverno” ou terceira safra (abril a julho), essa sob condições de irrigação.

A maior contribuição para a produção brasileira de feijão advém da primeira safra. Para Yokoyama, Banno e Kluthcouski (1996) essa possibilidade de cultivo nas mais diferenciadas épocas do ano e, por conseguinte, produções durante o ano todo, permite uma regulação do mercado, pois, havendo excesso ou escassez do produto em uma determinada safra, haverá um ajuste na área plantada da próxima safra. De acordo com a Comissão Técnica Sul Brasileira de Feijão (2010), quando ocorre quebra de produção em alguma safra, ocorrerá a entrada de grandes produtores eventuais, que, aproveitando a elevação dos preços, optam pela produção de feijão. Isso contribui para evitar o desabastecimento do mercado e favorece para que o setor não seja especializado.

No Brasil há uma classificação do feijão por tipos comerciais. O feijão tipo “carioca” é cultivado em todas as regiões e ocupa a maior área de cultivo, o feijão tipo “preto” é mais cultivado nos Estados da região sul, Rio de Janeiro, sudeste de Minas Gerais e sul do Espírito Santo, enquanto que o tipo mulatinho é mais cultivado no nordeste, o “roxo” em Goiás e o “vermelho” especificamente na zona da mata de Minas Gerais (ZIMMERMANN et al., 1996).

O feijão do tipo comercial “carioca” foi introduzido no mercado comercial pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) no ano de 1967. Recebeu este nome porque os grãos apresentam listras escuras e sinuosas, sobre um tegumento de cor creme, que lembra os desenhos sinuosos das calçadas da praia de Copacabana, no Rio de Janeiro (VICENTE et al., 2000). Os estudos posteriores envolvendo esse novo material comprovaram seu potencial de produção e resistências a doenças, como o mosaico comum e ferrugem, de modo que em 1976 já era a variedade mais plantada no Estado de São Paulo, além de ser recomendada para cultivo em outros Estados como Minas Gerais e Paraná (VICENTE et al., 2000).

Outros materiais, provenientes desse grupo, foram lançados com grande potencial produtivo, como a “Carioca 80”, porém, possuía halo de coloração alaranjada, demandava mais tempo de cozimento e digestibilidade mais lenta. Com estas características, não foi aceito por grande parte dos consumidores, forçando a sua retirada do mercado (RAMALHO; ABREU, 1998).

Em função disso, os programas de melhoramento genético do feijoeiro no Brasil tem direcionado os seus trabalhos na busca de cultivares que

pertençam aos diversos grupos comerciais, com destaque para os tipos carioca e em menor escala, ao preto devido à aceitação do mercado consumidor. Têm se procurado selecionar objetivando a obtenção de plantas de ciclo precoce, que sejam resistentes ou tolerantes às principais pragas e doenças, que sejam de porte ereto que possibilitem colheitas mecanizadas, que tenham alta capacidade produtiva e que apresentem algum grau de tolerância às secas (RAMALHO; ABREU, 2006). Além disso, novas características como teor de proteína, tempo de cozimento, capacidade de hidratação, porcentagem de expansão volumétrica dos grãos após cozimento e porcentagem de grãos inteiros após cozimento, são levadas em consideração para se fazer seleção de novos cultivares comerciais de feijão (FARINELLI, 2006).

A contribuição do melhoramento genético para o incremento da produtividade do feijoeiro no Brasil pode ser evidenciada pelo potencial produtivo das atuais cultivares recomendadas para cultivo nas diferentes regiões brasileiras (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2010).

A necessidade de avaliar o comportamento dos diversos cultivares de feijão disponíveis para o cultivo quanto à capacidade de adaptação e produção nas diferentes regiões produtoras do Brasil foram observados por Duarte e Zimmermann (1994) e vários trabalhos visando avaliar a interação genótipo x ambiente foram desenvolvidos como os de Bertoldo et al. (2009a), Bertoldo et al. (2009b), Coelho et al. (2010), Coimbra et al. (2009), Duarte e Zimmermann (1994), Elias et al. (2007), Oliveira et al. (2006) e Ribeiro et al. (2004).

2.3 O NITROGÊNIO

A evolução da produção de alimentos no mundo comprova que a utilização de fertilizantes e corretivos contribui decisivamente para o aumento da produtividade das culturas (LOPES; GUILHERME, 2007).

Dentre os elementos essenciais aos vegetais, o nitrogênio (N) é um dos mais importantes e dos mais demandados pelas plantas cultivadas (CANTARELLA, 2007). Segundo Santos e Silva (2002) o nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pelo feijoeiro e cerca de 50% do total absorvido é exportado via grãos. O nitrogênio participa de várias reações e faz parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. Amarelecimento das folhas mais velhas e

redução do crescimento da parte aérea estão entre os primeiros sintomas observados quando há um inadequado fornecimento deste nutriente.

Para destacar a importância dos adubos nitrogenados, Mosier e Galloway (2005) afirmam que os aumentos na produção das culturas determinados pela adubação nitrogenada seriam suficientes para alimentar 40% da população mundial. Porém, Martinelli (2007) ao relacionar a oferta de alimentos com a utilização de adubos nitrogenados em alguns países, constatou que enquanto na Holanda o consumo anual médio de adubos nitrogenados equivale à aplicação de 300 kg ha⁻¹ de N, no Brasil é de 30 kg ha⁻¹ e no Haiti, um dos países mais pobres do mundo, é de apenas 10 kg ha⁻¹, em contraste com a média mundial que é de 60 kg ha⁻¹ de N. Por outro lado, o uso descontrolado dos fertilizantes nitrogenados, pode resultar em problemas ambientais como poluição das águas de reservatórios, mananciais e do lençol freático (CANTARELLA, 2007).

Vários trabalhos destacam o efeito positivo da adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro, principalmente quando aplicada em cobertura (GOMES JUNIOR et al., 2005; LEMOS et al., 2003), em culturas irrigadas (BARBOSA FILHO; FAGERIA; SILVA, 2001), em áreas de plantio direto (BINOTTI et al., 2010) ou ainda na safra das águas (ANDREOTTI et al., 2005). Além disso, a adubação nitrogenada pode melhorar a qualidade do produto colhido, aumentando os teores de proteína nos grãos (GOMES JUNIOR et al., 2005).

Deve-se considerar ainda, que a produção industrial de fertilizantes nitrogenados demanda grandes quantidades de energia e de derivados do petróleo (CANTARELLA, 2007) e quando aplicados ao solo se perdem com grande facilidade, o que diminui a sua eficiência agrônômica (SANTOS et al., 2003) e aumenta o custo das adubações e conseqüentemente dos produtos colhidos.

Tecnologias que visem a diminuição ou a total supressão da utilização dos adubos nitrogenados e que possibilitem ganhos ambientais, econômicos e sociais, devem ser avaliadas com prioridade. Apesar do nitrogênio ser o elemento mais abundante na atmosfera terrestre (78%), os vegetais não conseguem utilizá-lo, pois somente alguns tipos de bactérias são capazes de “fixar” o N₂ da atmosfera e torná-lo disponível para as plantas, através de um processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio (FBN).

2.4 A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

O nitrogênio corresponde a aproximadamente 78% do ar atmosférico, porém, nenhum organismo superior é capaz de utilizá-lo diretamente, pois o N molecular (N_2) em uma tripla ligação, é bastante estável e muito pouco reativo, o que torna estratégico, viabilizar ou maximizar formas sustentáveis que permitam seu fornecimento às plantas, uma vez que, dentre os elementos essenciais aos vegetais, o nitrogênio (N) é um dos mais importantes e dos mais demandados pelas plantas cultivadas. O fornecimento via adubos sintéticos, que utilizam o N atmosférico, foi possível, graças ao processo de síntese do NH_3 desenvolvido no começo do século 20 por Fritz Haber e Carl Bosh e que foi considerado como o início da agricultura moderna. Porém, para a sintetizar os adubos nitrogenados industriais, utiliza-se como fonte de N o ar atmosférico e como fonte de H o gás natural e outros subprodutos da indústria petroquímica (temperaturas maiores que $400^\circ C$ e pressão superior a 10^7 Pascal), podendo utilizar ainda o H da água obtido por eletrólise (CANTARELLA, 2007). Segundo Lagreid, Bockman e Kaarstad (1999), a produção de fertilizantes nitrogenados consome cerca de 1,2 a 1,8% da energia fóssil global.

Além do processo industrial, existe na natureza, uma pequena quantidade de espécies procariontas, que possui a enzima nitrogenase que é capaz de reduzir o N_2 para a forma inorgânica, na forma combinada, o NH_3 , que por sua vez, pode ser assimilado pelas plantas e outros microorganismos (fixadores de N_2 ou diazotróficos) através do processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio (FBN). Vale destacar que esse processo ocorre nas condições normais de temperatura e pressão. Outros processos naturais como as descargas elétricas na atmosfera são capazes de, também, fixar nitrogênio, porém com baixa contribuição quando comparados com os anteriores (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN se dá com a participação de um sistema enzimático denominado nitrogenase, além de energia (ATP) e Fe, Mg e Mo. A nitrogenase é muito sensível ao oxigênio, mas as células necessitam do mesmo para respirar. As estratégias utilizadas para superar essa “aparente” controvérsia e evitar o excesso de nitrogênio no sítio da nitrogenase são: (a) a produção de muco que dificultam a entrada de oxigênio; (b) geração de ATP pelo aumento desnecessário na taxa respiratória; (c) seleção de sítios de baixas tensões de O_2 ; (d) localização da

atividade de fixação em células especializadas (ex. heterocistos em *Anabaena*); (e) em sistemas especializados como os nódulos das leguminosas com a indução de produção da leghemoglobina para o transporte de O_2 . Nas leguminosas, a leghemoglobina tem a cor avermelhada quando essa se encontra efetiva e branca, quando não há sua presença e não fixam nitrogênio (FRANCO; DOBEREINER, 1988).

Vários microorganismos podem fixar nitrogênio, dentre as quais, diversos gêneros de bactérias, cianobactérias (algas verde azuladas), que podem viver livres no solo ou na água, na superfície de raízes e folhas das plantas, no intestino de animais (FRANCO; DOBEREINER, 1988). Porém a associação simbiótica de fixadores de N_2 (coletivamente denominados rizóbios) com plantas do gênero *Leguminosae*, é uma das mais importantes, em particular pela importância econômica. A simbiose dessas plantas com as bactérias fixadoras, formam estruturas hipertróficas nas raízes denominadas nódulos, muito embora, nem todas as espécies de leguminosas tenham a capacidade de nodular.

O nódulo é resultado de uma perfeita interação entre a planta e a bactéria durante uma série de fases seqüenciais: multiplicação do rizóbio no solo e superfície das raízes; encurvamento dos pelos absorventes; entrada da bactéria; crescimento do cordão de infecção; formação dos nódulos; formação das células infectadas; formação de bacteróides, nitrogenase, leghemoglobina, etc; e manutenção dos tecidos de bacteróides (SPRENT, 1979).

Num primeiro instante, o rizóbio é atraído até as raízes da planta hospedeira por uma comunicação molecular (trocas de sinais), enviada pela planta e decifrada pela bactéria. Essa comunicação se dá mediante liberação de diversos exsudados radiculares tais como: carboidratos, aminoácidos e flavonóides, compondo um gradiente químico que resulta na atração da bactéria até a superfície da raiz, fenômeno que é conhecido como quimiotaxia (STRALIOTTO; TEIXEIRA, 2000). O processo de adesão da bactéria ou rizóbio na superfície da raiz, após a proliferação deste, se dá nas células dos pêlos absorventes ou de outras células da epiderme radicular, através de interações seletivas e específica entre moléculas de lecitinas (DIAZ et al., 1989).

O mecanismo de infecção das células das raízes, que ocorre após a adesão do rizóbio, não é semelhante para todos os hospedeiros, podendo haver penetração via espaços intercelulares na epiderme ou da lamela média (amendoim e

estilosantes) ou através dos pelos absorventes (feijoeiro). Após esta fase, o rizóbio induz um pronunciado encurvamento dos pêlos absorventes, dando início a um foco de infecção no ponto de encurvamento e desenvolvimento de uma estrutura tubular, o cordão de infecção, que cresce através da célula do pêlo radicular e segue dentro do córtex radicular onde se ramifica. Paralelamente à infecção, ocorre a indução da divisão celular nas células do córtex e a formação do primórdio nodular, que dará origem ao nódulo (STRALIOTTO; TEIXEIRA, 2000).

Como já dito, o desenvolvimento da simbiose necessita de uma sintonia precisa entre o hospedeiro e a bactéria para que o processo simbiótico ocorra de forma benéfica para ambos. Há necessidade ainda de um controle recíproco dos parceiros, onde o rizóbio fixa nitrogênio para as plantas e esta libera os fotossintatos necessários ao parceiro. A planta exerce um autocontrole, através da parte aérea, inibindo a formação de novos nódulos quando já existem nódulos em desenvolvimento, evitando assim, um número excessivo destes (ROLFE; GRESSHOFF, 1988).

Exemplo de sucesso do emprego da FBN é o caso da soja brasileira. O crescimento da produção e o aumento da produtividade da cultura estão estritamente ligados a disponibilização de novas tecnologias, especialmente quanto ao fornecimento contínuo de estirpes de rizóbios mais eficientes para a produção de inoculantes comerciais (MERCANTE et al., 2002; MERCANTE et al., 2004a). Para exemplificar a importância da FBN para a sojicultura brasileira, Hungria, Campo e Mendes (2001) informam que para uma produção de 3.000 kg ha⁻¹ são necessários 480 kg de N, que corresponderia à aplicação de 1.067 kg de uréia. Se fosse computado o custo do fertilizante, certamente inviabilizaria economicamente a cultura em muitas regiões do Brasil em razão do aumento do custo de produção. Numa outra análise que comprova a importância dessa tecnologia na cultura da soja, Moreira e Siqueira (2006) avaliando a produção da soja no Brasil em 2003, verificaram que o N₂ fixado biologicamente pela cultura, equivaleria a um total de 8.240 mil toneladas de uréia que, ao preço da época (170 dólares/tonelada), equivaleria à uma economia de 1,4 bilhão de dólares. Vale destacar que, segundo esses mesmos autores, a dose do inoculante no mesmo ano, custou, em média, apenas R\$ 4,00.

2.4.1 A FBN em Feijoeiro

A FBN no feijoeiro ocorre pela simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, sendo que até pouco tempo, a única espécie considerada fixadora de N em feijoeiro era *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984). Contudo, com o avanço nas técnicas de biologia molecular foi possível identificar novas espécies e biovars, o que permitiu classificá-las em dois tipos (I e II), caracterizados pelas diferenças em seus plasmídeos simbióticos (MARTÍNEZ et al., 1985).

As estirpes tipo I incluem os isolados com uma estreita faixa de hospedeiros e possuem múltiplas cópias dos genes *nifH* da nitrogenase (MARTÍNEZ et al., 1985) que devido ao rearranjo genético torna instável a FBN. Inicialmente, a classificação para esse tipo se restringia ao *R. leguminosarum* biovar *phaseoli*, mas em um trabalho em que se compararam estirpes do tipo I isoladas no México com outras, isoladas na Europa, foram observadas diferenças que levaram à classificação de uma nova espécie, a *R. etli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTÍNEZ-ROMERO, 1993), que segundo os autores, nodularia especificamente o feijoeiro, o que foi contrariado no trabalho de Hernandez-Lucas et al. (1995) que observaram que essa nova estirpe também pode nodular outros hospedeiros. A instabilidade genética nesse grupo explica, pelo menos em parte, a variabilidade observada nas respostas do feijoeiro à inoculação, uma vez que por muitos anos estirpes do tipo I foram utilizadas para produção de inoculantes comerciais no Brasil.

Por sua vez, as estirpes do tipo II apresentam uma única cópia do gene *nifH*, porém associam-se simbioticamente com um maior número de hospedeiros, entre os quais espécies arbóreas como a *Leucaena leucocephala* e *Macroptilum atropurpureum* (MARTÍNEZ et al., 1985). Estas estirpes são consideradas geneticamente mais estáveis (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991), além de reter seu plasmídeo simbiótico após prolongada incubação a 37°C. Em função das diferenças fisiológicas e genéticas, as estirpes do tipo II foram reclassificadas como *Rhizobium tropici*. Estimou-se ainda, que os rearranjos genômicos e a perda de plasmídeos simbióticos nessa espécie sejam cerca de mil vezes inferiores ao que ocorre na espécie *Rhizobium etli* (E. MARTÍNEZ, comunicação pessoal, citado em HUNGRIA; VARGAS; ARAUJO, 1997). Conseqüentemente, ficou decidido, na VI RELARE (Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos

de Interesse Agrícola), realizada em 1994, que os programas brasileiros de seleção de estirpes de rizóbio para o feijoeiro deveriam selecionar estirpes mais eficientes e competitivas dentro da espécie *R. tropici* (HUNGRIA; ARAUJO, 1995). Neste contexto, a utilização da leucena como planta isca tem sido eficiente na recuperação de rizóbios do solo eficientes na FBN em feijoeiro (MERCANTE, 1993; MERCANTE et al., 1998).

Problemas relacionados à instabilidade genética das estirpes que haviam sido selecionadas para o feijoeiro e que pertenciam à espécie *R. leguminosarum*, resultaram em que uma única estirpe, a *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077), isolada pelo CIAT, na Colômbia, estivesse sendo empregada nos inoculantes comerciais desde 1994 (HUNGRIA; ARAUJO, 1995). Foi conduzido, então, um programa de seleção de estirpes estáveis geneticamente, eficientes, competitivas, tolerantes a temperaturas elevadas e com características de *R. tropici* e que resultou na identificação da PRF 81, permitindo ganhos de até 906 kg ha⁻¹ em relação ao controle não-inoculado contendo, no mínimo, 10⁴ células de rizóbio nativo g⁻¹ de solo (HUNGRIA et al., 2000). O bom desempenho dessa estirpe foi confirmado em vários ensaios conduzidos em outros estados do Brasil, o que levou a sua recomendação oficial, a partir de 1998, para o uso em inoculantes comerciais, recebendo a denominação de SEMIA 4080 (HUNGRIA et al., 2000).

Posteriormente, foram conduzidos diversos estudos que culminaram na seleção de duas outras estirpes de *R. tropici* a H12 e H20, que promoveram incrementos de 896 e 839 kg ha⁻¹, respectivamente, na produtividade do feijoeiro (MOSTASSO et al., 2002), resultados confirmados, posteriormente, em outros ensaios (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003). O bom desempenho dessas duas estirpes conduziu à recomendação da H12 para uso em inoculantes comerciais, a partir de 2004.

Entre outras características favoráveis à escolha de espécies de *R. tropici* para produção de inoculantes está a sua maior tolerância a temperaturas elevadas e à acidez do solo (GRAHAM et al., 1994; HUNGRIA; FRANCO, 1993; HUNGRIA; VARGAS; ARAUJO, 1997; MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991; MERCANTE, 1993; MERCANTE et al., 1998; STOCCO et al., 2008).

Embora as estirpes de rizóbio atualmente recomendadas para inoculação do feijoeiro possam aumentar significativamente a produtividade da

cultura, o seu potencial de fixação do N atmosférico ainda é bastante limitado para determinadas condições ambientais e cultivares de feijoeiro.

Mercante et al. (2004 b) realizaram um trabalho de coleta de solos em áreas sob cultivo de feijoeiro em 35 municípios da região do Brasil central, sendo 34 localizados no Estado do Mato Grosso do Sul e 1 no Estado do Mato Grosso (Alto Taquari) (Figura 1). A coleta foi realizada na camada superficial de 0-5 cm, visando identificar estirpes com adaptação a altas temperaturas. Posteriormente, estes solos foram transferidos para vasos de “Leonard” e cultivados com feijoeiro tipo carioca. Após 35-40 dias coletaram-se os nódulos formados para isolamento. Nos solos desses vasos, cultivou-se *Leucena leucophala*, e novamente se fez a coleta dos nódulos formados, obtendo-se no final o total 1.526 isolados de rizóbio, sendo 35% de nódulos de feijoeiro e 65% de nódulos de leucena. A eficiência simbiótica destes isolados foi comparada com estirpes comerciais de rizóbio (CIAT 899 e PRF 81) e com a adubação nitrogenada.

Os resultados obtidos indicaram que 50%, 76% e 78% dos isolados foram mais eficientes que a estirpe CIAT 899, quanto ao número de nódulos, massa de nódulos secos e matéria seca de parte aérea do feijoeiro, respectivamente. Dentre as estirpes que sobressaíram, a CPAO-2.11 L, CPAO-12.5 L2, CPAO-17.5 L2 e CPAO-56.4 L2 fazem parte do grupo de estirpes avaliadas neste estudo.

Figura 2.1 – Municípios do Estado do Mato Grosso do Sul onde foram realizadas as coletas de amostras solos para isolamento de rizóbio nativos de áreas de cultivo de feijão.



Na busca por materiais mais eficientes na fixação biológica do nitrogênio, outro fator que deve se considerar é a variabilidade entre cultivares de feijoeiro, que já foi detectada desde os primeiros estudos conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; RUSCHEL, 1961; FRANCO; DÖBEREINER, 1967). Além destes estudos, outros trabalhos conduzidos no exterior e no Brasil confirmaram a grande variabilidade entre cultivares, tanto na resposta à FBN, quanto a habilidade de translocar o N para os grãos (HUNGRIA; VARGAS; ARAUJO, 1997). Esses resultados enfatizam a importância do melhoramento genético e de avaliações de genótipos visando o incremento da FBN.

De acordo com Graham (1981), três fatores podem contribuir para a variabilidade genotípica observada em feijoeiro em relação à FBN: suprimento de carboidratos para o nódulo, taxas relativas de absorção de N do solo e tempo para floração. Com a floração e o desenvolvimento das sementes, a demanda por fotossintatos para formação dos grãos compete com a demanda envolvida nos processos da FBN, reduzindo assim tanto o crescimento dos nódulos e quanto a FBN (PEREIRA et al., 1984). Nesse sentido, nos cultivares de floração tardia (feijão trepador) é maior o período entre a emergência e a fase de enchimento de grãos, havendo mais tempo para a formação e a atividade dos nódulos, o que propicia maior FBN e menor dependência da adubação mineral (CHAVERRA; GRAHAM, 1992; RENNIE; KEMP, 1983). Nos cultivares de ciclo normal ou precoce, o tempo de atividade dos nódulos é menor e estes são mais dependentes da adubação nitrogenada para suprir a demanda por N (RENNIE; KEMP, 1983).

Historicamente, os programas de melhoramento do feijoeiro na América Latina visando altas produtividades têm selecionado cultivares que respondam à fertilização nitrogenada. Contudo, alguns autores enfatizam a necessidade de programas de melhoramento com famílias segregantes crescidas em solos com baixa disponibilidade de N, visando a obtenção de cultivares de feijoeiro mais responsivas à FBN (BLISS, 1993; HARDARSON et al., 1993).

3 ARTIGO A

**AVALIAÇÃO DE ESTIRPES NATIVAS DE *Rhizobium sp* PARA INOCULAÇÃO
EM FEIJOEIRO**

AVALIAÇÃO DE ESTIRPES NATIVAS DE *Rhizobium sp* PARA INOCULAÇÃO EM FEIJOEIRO

3.1 RESUMO

A maximização da fixação biológica de nitrogênio na cultura do feijoeiro depende de características genéticas relacionadas à planta, à atividade e eficiência das bactérias simbiotes e de fatores ambientais. O trabalho teve por objetivo avaliar e selecionar diferentes estirpes de *Rhizobium sp*, nativas de áreas produtoras de feijão da região do Brasil Central. Os experimentos foram conduzidos na safra 2007 em áreas de solo sob vegetação de cerrado, localizadas nos municípios de Aquidauana; Anaurilândia; Campo Grande e Dourados, todos situados no Estado de Mato Grosso do Sul. As áreas de instalação dos experimentos pertenciam respectivamente à UEMS-Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Fazenda São José, UNIDERP-Universidade Para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal e a na Embrapa Agropecuária Oeste. Para todos os ensaios o delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 10 tratamentos e quatro repetições. Foram testados os seguintes tratamentos: T1 (controle), T2 (adubação nitrogenada com 80 kg ha⁻¹ de N), T3 (estirpe CIAT 899 - SEMIA 4077) + 20 kg ha⁻¹ de N, T4 (estirpe CIAT 899 - SEMIA 4077), T5 (estirpe PRF 81 - SEMIA 4080), T6 (estirpe H 12 - SEMIA 4088), T7 (estirpe CPAO 2.11 L), T8 (estirpe CPAO 12.5 L2), T9 (estirpe CPAO 17.5 L2) e T10 (estirpe CPAO 56.4 L2). As parcelas experimentais foram representadas por 6 linhas de plantio com 4,0 m de comprimento e espaçadas de 0,50 m. A semeadura foi feita manualmente, distribuídas cerca de 15 sementes por metro de sulco. A cultivar de feijoeiro utilizada foi a Pérola, do grupo comercial carioca. O número e a massa de nódulos por planta foram influenciados de forma negativa pela adubação nitrogenada, enquanto as plantas resultantes de sementes inoculadas apresentaram maiores médias para número e massa de nódulos. Não foram observadas diferenças quanto à produção de grãos e o teor de N na fitomassa da parte aérea. Todos os tratamentos apresentaram maior massa de 100 grãos quando comparado ao controle. As maiores produtividades do feijoeiro foram observadas quando se fez a inoculação das sementes com as estirpes CPAO 56.4 L2 e CPAO 12.5 L2, que não diferiram da adubação nitrogenada. Comparando com a resposta média obtida com os inoculantes comerciais, as novas estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L determinaram respectivamente, produtividades 25, 19, 9 e 8% superiores. As receitas líquidas obtidas com as culturas inoculadas com essas estirpes foram superiores àquela obtida com a adubação nitrogenada (80 kg ha⁻¹ de N).

Palavras – chave: *Phaseolus vulgaris*. *Rhizobium tropici*. Inoculantes. Fixação biológica de nitrogênio. Receita econômica.

EVALUATION OF *Rhizobium sp* STRAINS FOR INOCULATION COMMON BEAN

3.2 ABSTRACT

Maximizing biological nitrogen fixation in the common bean crop depends on the plant's genetic characteristics, the activity and effectiveness of the nitrogen-fixing bacteria and environmental factors. The aim of the study was to evaluate and select

different strains of *Rhizobium sp* native to the bean producing regions of Central Brazil. The experiments were conducted during the 2007 crop season in soil under Cerrado (savanna) vegetation, in the municipalities of Aquidauana, Anaurilândia, Campo Grande and Dourados, in the Brazilian state of Mato Grosso do Sul. The experimental areas belong to the State University of Mato Grosso do Sul (UEMS), the São José farm, the University for the Development of the State and Region of the Pantanal (UNIDERP) and Embrapa Agropecuária Oeste (Brazilian Agricultural Research Corporation, Western Division). A fully randomized block design was used with 10 treatments and four replications. The following treatments were tested: T1 (control), T2 (mineral-N fertilizer at 80 kg ha⁻¹ N), T3 (bacterial strain CIAT 899 - SEMIA 4077) + 20 kg ha⁻¹ N, T4 (strain CIAT 899 - SEMIA 4077), T5 (strain PRF 81 - SEMIA 4080), T6 (strain H 12 - SEMIA 4088), T7 (strain CPAO 2.11 L), T8 (strain CPAO 12.5 L2), T9 (strain CPAO 17.5 L2) and T10 (strain CPAO 56.4 L2). The experimental plots consisted of 6 crop rows 4.0 m long, spaced at 0.50 m. The crop was sown manually, distributing around 15 seeds per meter. The common bean cultivar used was Perola, from the carioca commercial group. The number and weight of nodules per plant was adversely influenced by mineral-N fertilization, whereas the inoculated plants exhibited higher averages for number and mass of nodules. No difference was observed in the grain yield and content of N in the aerial part. All treatments produced higher weight figures for 100 grains than the control. The highest yield figures were obtained from inoculation with CPAO 56.4 L2, and CPAO 12.5 L2, which did not differ from the mineral-N fertilizer treatments. Compared with the average response to commercial inocula, the new strains (CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2, and CPAO 2.11 L) increased yields by 25, 19, 9 and 8% respectively. The net incomes obtained by inoculating with these strains were higher than those obtained using mineral-N fertilizer (80 kg ha⁻¹ N).

Key – words: *Phaseolus vulgaris*. *Rhizobium tropici*. Inocula. Biological nitrogen fixation. Economic income.

3.3 INTRODUÇÃO

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L) no Brasil assume grande importância social e econômica, pois, além de ser uma das principais fontes protéicas para a população, constitui fonte de renda para milhares de produtores rurais, notadamente aqueles de base familiar. Apesar da redução no consumo *per capita* observada recentemente, de 18,0 para 16,5 kg hab⁻¹ ano⁻¹ entre os anos 1972 e 2009, o Brasil ainda é considerado o maior produtor e consumidor mundial de feijão comum (FAO, 2011).

Dentre os diferentes aspectos relacionados aos sistemas de cultivo e produção do feijoeiro, o manejo da adubação se destaca devido aos elevados custos dos fertilizantes. Além disso, deve-se considerar as possibilidades de contaminação ambiental pela adoção de técnicas inadequadas de manejo, como indicado por

Cantarella (2007). O nitrogênio é o nutriente que o feijoeiro requer em maior quantidade (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007; COBRA NETO; ACCORSI; MALAVOLTA, 1971; HAAG et al., 1967) e o seu fornecimento geralmente é feito mediante a aplicação de fertilizantes minerais. Por outro lado, não se deve desconsiderar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN), que no caso do feijoeiro é feita através da simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*.

Apesar disso, tem-se observado baixa frequência de resposta do feijoeiro à FBN. Segundo Mercante et al. (2004) este fato pode ser atribuído à interação de fatores relacionados à planta, bactéria fixadora do N e às condições ambientais do local de cultivo. Em relação à planta, têm-se observado variações entre linhagens e cultivares quanto à capacidade de absorver e acumular nitrogênio (VOSS, 1989). Cultivares de maturação tardia apresentam tendência de maior acúmulo de N fixado biologicamente (CIAT, 1975 citado em FRANCO et al., 2002). Há ainda variações de resposta entre os conjuntos gênicos andinos e meso-americanos (FRANCO et al., 2002) e a promiscuidade do feijoeiro em se deixar colonizar por várias bactérias nativas, porém não eficientes (STRALIOTTO; TEIXEIRA, 2000). Quanto aos aspectos relacionado ao ambiente, maiores destaques tem sido dado ao estresse hídrico (MNASRI; AOUANI; MHAMDI, 2007; MORAES et al., 2010), temperatura e acidez do solo (MERCANTE, 1993; PINTO et al., 1998) bem como a disponibilidade de fósforo, cobalto, molibdênio e do próprio nitrogênio, pois, a fixação biológica do nitrogênio só ocorre quando há deficiência de N mineral no solo (CAMPANHARO et al., 2010; FRANCO; DOBEREINER, 1988; KUBOTA et al., 2008; PESSOA et al., 2001).

Com relação à bactéria fixadora, por muito tempo se acreditou que o feijoeiro apresentava nodulação específica, ou seja, ocorria apenas em associação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984 citado em MERCANTE et al., 1999), mas com o avanço da biologia molecular e desenvolvimento de estudos envolvendo estirpes de diversos locais, observaram-se diferenças significativas entre os microorganismos envolvidos a ponto de se estabelecer uma nova classificação dividindo-os em dois grupos: Tipo I e Tipo II (BROM et al., 1988; MARTÍNEZ et al., 1985, 1988).

As estirpes classificadas como Tipo I são aquelas que apresentam uma pequena faixa de hospedeiros, diversas cópias dos genes da nitrogenase, *nifH* (MARTÍNEZ et al., 1985) e que, devido ao rearranjo genético, confere certa

instabilidade na fixação de N₂. As estirpes do Tipo II são aquelas que apresentam maior amplitude de hospedeiros, por exemplo a *Leucaena leucocephala* e *Macroptilium atropurpureum*, somente uma cópia do gene *nifH*. Em trabalhos comparativos mais detalhados, verificou-se que as estirpes do Tipo I apresentam diferenças genéticas entre isolados provenientes do México e da Europa, o que levou à classificação de uma nova espécie a *Rhizobium etli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTÍNEZ-ROMERO, 1993). As estirpes do Tipo II também foram reclassificadas em função de diferenças fisiológicas e genéticas, surgindo outra espécie, a *Rhizobium tropici*, que foi subdividida em dois grupos: IIA e IIB (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991).

As características gerais dos tipos IIA e IIB, estão relacionados que o primeiro, requerem cálcio para crescimento em meio PY, não crescem em meio “Luria broth” – LB e a temperatura de máxima de crescimento é de 37° C. Por outro lado, as estirpes do tipo IIB não requerem cálcio, crescem em meio LB e a temperatura máxima de crescimento é de aproximadamente 40° C (SAMBROOK et al., 1989 citado por MERCANTE, 1993).

A maior estabilidade genética e menor reiteração dos genes *nif* foram as características fundamentais que levaram os pesquisadores reunidos na VI RELARE “ Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação de Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*” de 1994, a se decidirem pela recomendação de uso exclusivo da espécie *R. tropici* para produção de inoculantes comerciais para o feijoeiro no Brasil (HUNGRIA; ARAÚJO, 1995).

Atualmente, apenas as estirpes CIAT 899 e PRF 81 de *R. tropici* são indicadas para produção de inoculantes comerciais no Brasil, conforme estabelecido na VII RELARE. Porém, como enfatizou Mercante et al. (2004), a diversidade de resposta do feijoeiro à inoculação pode estar associada à utilização das mesmas estirpes para produção de inoculantes, não levando em consideração as variações edafoclimáticas e nem as estirpes nativas, destacando assim a importância de se buscar a seleção de novas estirpes regionalmente mais eficientes para produção de inoculantes.

Nesse sentido, vale destacar o trabalho realizado pela Embrapa Agropecuária Oeste que amostrou solo de lavouras de feijão em 34 municípios do Mato Grosso do Sul e um do Mato Grosso, abrangendo 84 locais, obtendo cerca de 1500 isolados de rizóbio, sendo 65% recuperados de nódulos de leucena (*Leucaena*

leucocephala) e 35% de nódulos de feijoeiro usadas como plantas iscas. Estes materiais foram utilizados para estudos de seleção de tolerância do rizóbio a altas temperaturas, quanto ao crescimento em meio LB (“Luria-Bertani”) e crescimento “*in vitro*” a 40 °C, além dos teste de eficiência simbiótica das estirpes de rizóbio sob condições controladas de casa de vegetação. De acordo com Mercante et al. (2004), observou-se que os isolados nativos superaram a estirpe CIAT 899 quanto à produção de massa seca, número de nódulos e matéria seca de parte aérea do feijoeiro em 50%, 76% e 78% dos casos, respectivamente. Algumas das estirpes promissoras observadas nesses experimentos (CPAO 2.11 L, CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2 e CPAO 17.5 L2) fazem parte deste estudo.

Trabalhos realizados por Pinto, Hungria e Mercante (2007) mostram a alta similaridade das estirpes CPAO 2.11 L e CPAO 12.5 L2 com o *Rhizobium tropici*, além disso, apresentaram crescimento adequado em meio de cultura a 40 °C e a pH 4,0, indicando possíveis adaptações a ambientes de altas temperaturas e à alta acidez do solo. Entretanto, estas estirpes não cresceram em meio LB, característica das estirpes tipo II A (MERCANTE, 1997). Para Fernandes Júnior e Reis (2008), para a seleção de estirpes para ambientes estressantes, como o do cerrado brasileiro, deve-se considerar não apenas os aspectos produtivos ou agrônômicos do feijoeiro, mas também a tolerância ou adaptação das estirpes em condições adversas do ambiente como ocorrência de secas, altas temperaturas e elevada acidez do solo.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência em nodular e fixar N em feijoeiro de estirpes nativas de *Rhizobium sp.*

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na safra 2007, em áreas de produção de feijão localizadas em quatro municípios do Estado de Mato Grosso do Sul: Aquidauana (20°28'S; 55°47'W; 147m); Anaurilândia (22°11'S; 52°43'W; 312m); Campo Grande (20°26'S; 54°38'W, 532m) e Dourados (22°16'S; 54°49'W; 408m). As áreas selecionadas para instalação dos experimentos pertenciam respectivamente à estação experimental da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Fazenda São José, estação experimental da Universidade Para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (UNIDERP) e à estação experimental da Embrapa

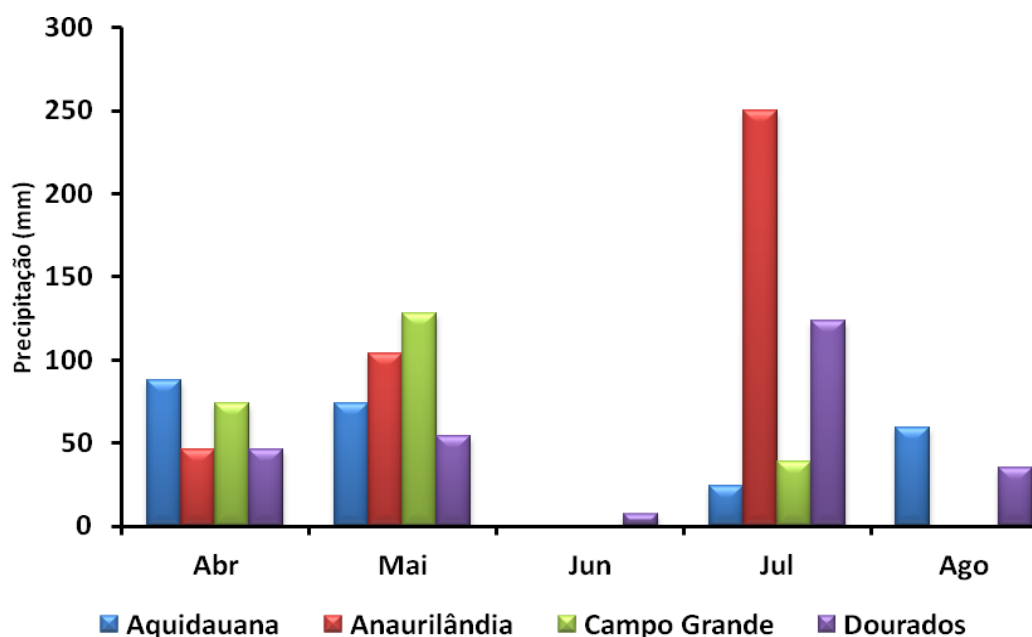
Agropecuária Oeste. Os solos das diferentes áreas foram classificados como Argissolo-Vermelho-Amarelo distrófico, textura arenosa, Argissolo Vermelho-Amarelo, textura média, Latossolo Vermelho distrófico, textura argilosa e Latossolo Vermelho distroférico, textura argilosa, respectivamente. Resultados das análises químicas de amostras de terra coletadas na camada de 0-20 cm de cada solo encontram-se na tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Características químicas do solo das áreas experimentais.

Locais	pH H ₂ O	M.O. g kg ⁻¹	P (Mehlich-1) mg dm ⁻³	Al ³⁺ -----	Ca ²⁺ cmol _c dm ⁻³	Mg ²⁺ -----	K ⁺ -----	V %
Aquidauana	5,6	15,9	47,2	0,0	2,7	0,6	0,26	50,0
Anaurilândia	6,0	21,0	11,0	0,0	1,7	0,6	0,48	62,0
Campo Grande	6,1	31,2	9,0	0,0	3,9	1,7	0,57	58,0
Dourados	5,9	35,1	23,2	0,0	4,8	2,0	0,71	56,0

Os valores das precipitações pluviárias mensais ocorridas durante o período experimental encontram-se apresentados na Figura 3.1.

Figura 3.1 – Valores das precipitações pluviométricas mensais ocorridas durante o período experimental, nas diferentes áreas de instalação dos experimentos.



Fonte: UEMS (Aquidauana); Secretaria Municipal de Desenvolvimento Econômico de Anaurilândia, UNIDERP (Campo Grande) e Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados).

Para instalação dos experimentos os solos das áreas de Aquidauana, Anaurilândia e Campo Grande foram preparados combinando uma operação de aração com arados de disco e duas gradagens, na área de Dourados utilizou-se a semeadura direta. A cultivar de feijoeiro utilizada foi a Pérola, do grupo comercial carioca. A semeadura foi feita manualmente, distribuindo 15 sementes por metro linear visando obter cerca de 10 plantas m^{-1} . As semeaduras foram realizadas em 08/05, 17/04, 19/04 e 04/04 da safra de 2007, em Aquidauana, Anaurilândia, Campo Grande e Dourados, respectivamente. As adubações de plantio foram feitas pela aplicação de 300 $kg\ ha^{-1}$ do formulado 00-20-20, nos municípios de Anaurilândia, Dourados e Campo Grande, ao passo que, em Campo Grande, a dose foi de 270 $kg\ ha^{-1}$. Para o nitrogênio foi feita a aplicação de 40 $kg\ ha^{-1}$ na semeadura e a mesma quantidade em cobertura, aos 30 dias após a germinação e a fonte utilizada foi a uréia.

Para os quatro experimentos, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 10 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos testados foram os seguintes: T1 (controle, sem inoculação e sem adubação nitrogenada), T2 (adubação nitrogenada com 80 $kg\ ha^{-1}$ de N), T3 estirpe

CIAT 899 (SEMIA 4077) + 20 kg ha⁻¹ de N na semeadura, T4 estirpe CIAT 899 (SEMIA 4077), T5 estirpe PRF 81 (SEMIA 4080), T6 estirpe H 12 (SEMIA 4088), T7 (estirpe CPAO 2.11 L), T8 (estirpe CPAO 12.5 L2), T9 (estirpe CPAO 17.5 L2) e T10 (estirpe CPAO 56.4 L2).

A inoculação foi feita utilizando um inoculante turfoso comercial contendo cerca de 10⁹ células g⁻¹ que foi aplicado às sementes na proporção de 500 g para 50 kg de sementes. Adicionaram-se 300 mL de solução de açúcarada a 10% (m/v), para facilitar a aderência do inoculante à superfície das sementes

A condução dos experimentos foi feita seguindo-se as recomendações técnicas para controle de pragas e doenças e sem irrigação.

Foram realizadas as seguintes avaliações:

- a. Contagem do número de nódulos por planta, seguindo-se a mesma metodologia proposta em Cardoso et al. (2009).
- b. Matéria seca de nódulos por planta (mg pl⁻¹), após secagem em estufa a 50°C até obtenção de massa constante.
- c. Matéria seca de parte aérea (g pl⁻¹) após secagem a 50°C até obtenção de massa constante, do material colhido da parte aérea das plantas de feijão na época do pleno florescimento.
- d. Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg⁻¹ de MS), seguindo a metodologia descrita em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).
- e. Massa de 100 grãos (g).
- f. Produtividade da cultura (kg ha⁻¹), estimada com base na colheita de duas linhas centrais das parcelas experimentais, rejeitando-se as duas primeiras plantas das extremidades de cada linha. A produtividade obtida foi corrigida para umidade de 13%.

Para a realização da análise econômica, foram considerados apenas os custos do inoculante, do fertilizante (uréia) e das aplicações (em sulco e cobertura a lanço). Os demais custos, como a operação de preparo de solo, semeadura, a adubação com P e K e tratos culturais não foram considerados por serem comuns para todos os tratamentos. O preço da uréia, apurada no comércio no período de maio/2011, foi de R\$ 1.028,00/tonelada ou R\$ 2,28 por quilo de N. O custo da aplicação foi estimado considerando 0,1 Hm ha⁻¹ (hora máquina por hectare), ou R\$ 3,11 ha⁻¹ e o custo do inoculante foi de R\$ 5,00 por hectare. Para o preço do feijão considerou-se a cotação de Irecê-BA, por ser uma região produtora tradicional e

formadora do preço de comercialização do produto. O valor médio de comercialização em 26/05/2011 era de R\$ 97,50 por saca de 60 kg de feijão carioca ou de R\$ 1,63 o quilo (AGROLINK, 2011).

Tomando estes dados como referência, procedeu-se as comparações entre os tratamentos testados considerando o incremento na produtividade, o custo da produção, o acréscimo na receita bruta e o acréscimo da receita líquida, em relação ao controle. O acréscimo na produtividade correspondeu à diferença de produção de grãos obtida no tratamento considerado e a produção do tratamento controle. O acréscimo da receita bruta foi determinado pelo acréscimo na produtividade multiplicado pelo valor comercialmente pago ao produto. O acréscimo da receita líquida consistiu na diferença entre o acréscimo da receita bruta subtraído dos custos do inoculante, do fertilizante nitrogenado e da sua aplicação.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância simples por local e conjunta, nas situações em que a relação dos quadrados médios dos resíduos de cada variável foi menor ou igual a 7,0, conforme preconizado em Banzato e Kronka (1992). Quando necessário as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ficou evidenciado na análise conjunta dos dados, para as diferentes variáveis avaliadas, em função dos locais (Tabela 3.2) a variabilidade ambiental entre os locais de condução dos experimentos. Essa característica, conforme determina o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA por meio da Instrução Normativa DAS 13, de 25/03/2011, é um dos critérios fundamentais utilizados para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica de inoculantes e tecnologias associadas ao processo de fixação biológica de nitrogênio em leguminosas, visando a seleção e recomendação de inoculantes para a cultura do feijoeiro no Brasil.

Tabela 3.2 – Variáveis agronômicas e produtividade do feijoeiro (cv. Pérola) em quatro localidades do estado de Mato Grosso do Sul. Safra 2007.

Variáveis	Locais			
	Aquidauana	Anaurilândia	Campo Grande	Dourados
⁽¹⁾ Nódulos pl^{-1}	10,84 b	20,24 a	1,05 c	1,24 c
⁽¹⁾ MS de nódulos (mg pl^{-1})	10,82 a	11,16 a	1,68 b	3,11 b
MS de parte aérea (g pl^{-1})	4,05 b	3,21 c	5,91 a	2,88 c
N na parte aérea (g kg^{-1})	39,17 ab	40,22 a	37,57 b	38,31 b
Massa de 100 grãos (g)	29,36 b	28,09 c	36,82 a	24,00 d
Produtividade (kg ha^{-1})	1.088 b	1.154 b	2.447 a	1.172 b

(1) Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. MS=matéria seca, N=nitrogênio.

Os resultados da análise conjunta para número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea, nitrogênio na parte aérea, massa de 100 grãos e produtividade de grãos encontram-se na Tabela 3.3, e para análises individuais nas Tabelas 3.4, 3.5, 3.6 e 3.7.

Pode-se observar que os tratamentos com adubação nitrogenada (T2 e T3) apresentaram os menores números de nódulos, em todos os locais, indicando efeito negativo da adubação nitrogenada na nodulação. Esses resultados corroboram aqueles observados por Araújo et al. (2007), Ferreira et al. (2000) e Pelegrin et al. (2009). Para Mercante et al. (1992) e Schultze et al. (1994) a FBN seria uma via facultativa e, provavelmente, devido ao seu alto custo energético, não é a via preferencial para a assimilação de nitrogênio, de forma que a disponibilidade de N-mineral pode afetar a interação rizóbio-leguminosa, não produzindo nódulos ou até cessando a FBN de plantas noduladas.

O aumento na capacidade de nodular é um fator importante no processo de seleção de estirpes visando aumento na FBN, embora não seja considerado como medida da eficiência do funcionamento dos nódulos. Nesse sentido, as estirpes CPAO 17.5 L2, CPAO 12.5 L2 e CIAT 899 foram as que se destacaram em Aquidauana, ao passo que a H 12 em Anaurilândia, a CPAO 56.4 L2 em Campo Grande e as CPAO 12.5 L2, CIAT 899, CPAO 17.5 L2 e H12 em Dourados. Na análise geral, sobressaíram as estirpes H12, CPAO 17.5 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 2.11 L, CIAT 899 e CPAO 56.4 L2. Deve ser ressaltado o potencial

das estirpes nativas avaliadas que se assemelharam às estirpes comerciais H12 e CIAT 899 e foram superiores à PRF 81.

Em Aquidauana, todos os tratamentos em que se utilizou a inoculação, diferiram tanto do controle como dos tratamentos que utilizou a adubação mineral, embora esses dois últimos, não tenham diferido entre si (Tabela 3.4), em Anaurilândia destacou-se as estirpes H 12 e CPAO 2.11 L; em Campo Grande não se observou diferenças entre os tratamentos estudados, ao passo que em Dourados, sobressaíram as estirpes CPAO 12.5 L2, CIAT 899, CIAT 17.5 L2 e CPAO 56.4 L2. Quando se analisa conjuntamente (Tabela 3.3), todas as estirpes nativas e CIAT 899 e H 12, apresentaram maior massa de nódulos e os menores valores ficaram para a estirpe PRF 81, o controle, os tratamentos que continha N-mineral, o que está de acordo com Silva et al. (2009) que observaram decréscimo linear na massa seca de nódulos à medida em que se aumentou o fornecimento de N-mineral. Para esses autores, há uma faixa de concentração foliar de nitrato onde se observam grandes reduções no tamanho dos nódulos.

A presença de nódulos nas plantas do tratamento controle indica a existência de estirpes nativas de *Rhizobium spp*, em todos os locais, porém, tanto o número quanto a massa seca de nódulos, foram significativamente menores que nas plantas inoculadas com as estirpes testadas, indicando que a seleção de estirpes eficientes é necessária para a busca da maximização da FBN na cultura do feijoeiro.

Quanto à massa seca de parte aérea, não foram observadas diferenças significativas entre locais e entre tratamentos testados. Nos tratamentos inoculados com as diferentes estirpes foram obtidas produções de massa de parte aérea semelhantes ao tratamento com adubação nitrogenada (80 kg ha^{-1} de N), muito embora também não tenham diferido do controle. Estes resultados se assemelham àqueles observados por Ferreira et al. (2000) e por Araújo et al. (2007), mesmo usando o dobro da dose de inoculante tecnicamente recomendada. Por outro lado, os resultados obtidos diferem daqueles observados por Soares et al. (2006) que verificaram maior produção de massa seca da parte aérea nos tratamentos em quem se utilizou a adubação mineral (70 kg ha^{-1}) em comparação à inoculação com diferentes estirpes de rizóbio.

Independentemente do local considerado, os tratamentos testados não influenciaram os teores de nitrogênio da matéria seca da parte aérea do feijoeiro (Tabelas 3.2 e 3.3). Nesse sentido, Lemos et al. (2003) também não observaram

diferenças nos teores de N da matéria seca entre genótipos de feijoeiro que receberam ou não a inoculação com rizóbios. A inexistência de diferença entre o tratamento controle e a adubação nitrogenada (80 kg ha^{-1} de N) difere dos resultados de Binotti et al. (2010) que verificaram incremento nos teores de N da matéria seca. Entretanto este resultado indica que ocorreu alguma restrição ao aproveitamento do N aplicado ou as estirpes nativas foram eficientes para fixar biologicamente o N e atender igualmente a demanda das plantas.

Para a massa de 100 grãos (Tabela 3.4 a 3.7), com exceção de Dourados, onde não foi observada diferença entre os tratamentos, nos demais locais, o tratamento controle apresentou os menores valores. Esses resultados se assemelham a vários trabalhos que demonstraram o efeito positivo do nitrogênio na massa de 100 grãos (ALVAREZ et al., 2005; BINOTTI et al., 2009; RAPASSI et al., 2003; SILVA et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005). Porém, Bassan et al. (2001) observaram maiores valores nos tratamentos inoculados em relação aos não inoculados e atribuíram o resultado à não existência de estirpes nativas eficientes. Com isso, pode-se inferir que as estirpes avaliadas neste estudo foram também competitivas e eficientes no fornecimento de N, possibilitando a obtenção de massa de 100 grãos equivalente àquela obtida no tratamento com adubação nitrogenada com 80 kg ha^{-1} .

Com relação à produtividade de grãos (Tabelas 3.4 a 3.7), as médias obtidas com os diferentes tratamentos em cada localidade onde foram implantados os experimentos, podem ser consideradas satisfatórias em razão da semeadura ter sido realizada no final do período recomendado para o cultivo do feijoeiro de acordo com o zoneamento edafo-climático, porém ainda utilizada pelos produtores locais, e condições de distribuição pluviométrica irregular durante o período experimental (Figura 3.1). As produtividades obtidas ficaram acima da média estadual que é de 877 kg ha^{-1} para a segunda safra (IBGE/CEPAGRO, 2010). A análise conjunta dos dados (Tabela 3.3) indicou que a inoculação com as estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2 e a adubação nitrogenada (80 kg ha^{-1} de N) foram os tratamentos que apresentaram as maiores produtividades. Há ainda, outro grupo formado pelas estirpes comerciais (CIAT 899, PRF 81 e H 12) e as nativas (CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L), além da CIAT 899 + 20kg de N, que diferiram do controle.

Outra análise que merece atenção especial é a comparação das performances entre as estirpes nativas testadas e as comerciais recomendadas

indistintamente para todo o território nacional. Na Figura 3.2 pode-se observar os acréscimos na produtividade do feijoeiro determinados pela inoculação com as estirpes coletadas no Brasil Central, em relação a média das estirpes comerciais CIAT 899 (SEMIA 4077), PRF 81 (SEMIA 4080) e H 12 (SEMIA 4088). Observa-se que todas as novas estirpes avaliadas foram superiores às utilizadas nos inoculantes comerciais. Os destaques foram a CPAO 56.4 L2 e CPAO 12.5 L2 que determinaram 25% e 19% de aumento na produtividade do feijoeiro, respectivamente. Ainda foram significativos os resultados apresentados pela CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L com 9% e 8% de aumentos, respectivamente. De acordo com o protocolo estabelecido pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento para análise dos resultados para indicação de estirpes para recomendação no Brasil, as estirpes nativas CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L podem ser indicadas para produção de novos inoculantes para o feijoeiro no Brasil, uma vez que determinaram produtividades superiores às obtidas com o inoculante atualmente comercializado.

O uso da análise financeira em trabalhos de pesquisa com o feijoeiro e as diferentes formas de suprimento de nitrogênio para essa cultura é cada vez mais frequente devido às grandes variações de preço dos adubos nitrogenados (BINOTTI et al., 2009; BINOTTI et al., 2010; PELEGRIN et al., 2009). Por outro lado, o aumento da receita líquida, que deve ser o objetivo final dos produtores rurais nem sempre está vinculada à tecnologia ou processo que possibilite maior produtividade, como observa Binotti et al. (2009). Estes autores constataram que as doses de sulfato de amônio que determinaram as maiores produtividades do feijoeiro não resultaram nos maiores valores de renda líquida, em razão dos altos custos dos adubos nitrogenados. Pelegrin et al. (2009) observaram que o acréscimo de 795 kg ha⁻¹ na produtividade do feijoeiro com uma adubação nitrogenada de 160 kg ha⁻¹ de N foi equivalente financeiramente ao acréscimo de apenas 373 kg ha⁻¹ proporcionado pela inoculação (*Rhizobium tropici* (CIAT 899- SEMIA4077)) associada à adubação nitrogenada de apenas 20 kg ha⁻¹ de N, aplicado na semeadura.

Na tabela 3.8 estão apresentados os dados referentes à análise financeira dos tratamentos utilizados neste estudo. Observa-se que todos os tratamentos proporcionaram acréscimos na receita líquida em relação ao tratamento controle. Os maiores acréscimos foram obtidos quando se inoculou as sementes do

feijoeiro com as estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2, CPAO 2.11 L, que determinaram aumentos na receita líquida por hectare de cultivo de R\$ 1.281,63; R\$ 1.076,00; R\$ 853,00 e R\$ 840,00, respectivamente. Nesta situação, os acréscimos na receita líquida foram superiores àquele obtido com a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N, que foi de apenas R\$ 786,25 ha⁻¹. É interessante observar ainda que as estirpes utilizadas em inoculantes comerciais (CIAT 899, PRF 81 e H 12) apresentaram incrementos da renda líquida inferiores ao obtido com a adubação nitrogenada. Esses resultados indicam com comprovação experimental que as novas estirpes avaliadas neste estudo (CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L) podem ser utilizadas na preparação dos inoculantes comerciais para a cultura do feijoeiro. A indicação de uso destas novas estirpes para todas as regiões produtoras de feijão do território nacional depende ainda da realização de ensaios de validação em todas as regiões produtoras.

Figura 3.2 – Percentagem de acréscimos na produtividade do feijoeiro pelas novas estirpes de rizóbio nativas de solos do Brasil Central em relação à média das estirpes comerciais CIAT 899 (SEMIA 4077), PRF 81 (SEMIA 4080) e H 12 (SEMIA 4088), em quatro localidades do Estado do Mato Grosso do Sul (Aquidauana, Anaurilândia, Campo Grande e Dourados). Safra 2007.

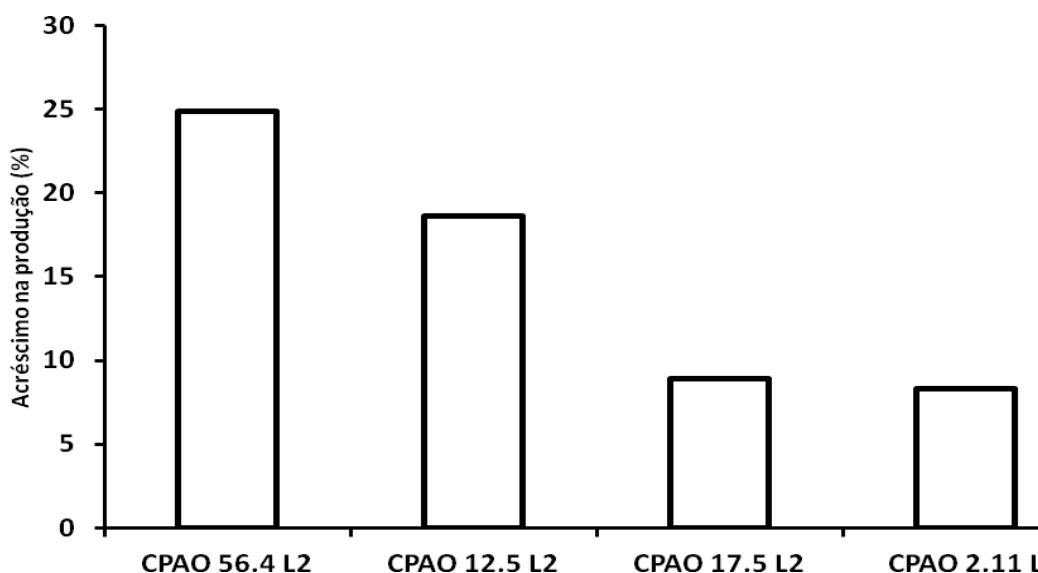


Tabela 3.3 – Análise conjunta para número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de matéria seca de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função dos diferentes tratamentos testados. Médias de quatro locais (Aquidauana-MS, Anaurilândia-MS, Campo Grande-MS e Dourados-MS). Safra 2007.

Tratamentos	Variáveis					
	⁽¹⁾ Número de nódulos/pl	⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg)	Massa seca de parte aérea (g)	N na MS da parte aérea (g kg ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Controle ⁽²⁾	5,4 b	3,0 b	4,2 a	38,7 a	27,8 b	1.002 c
Adubação nitrogenada ⁽³⁾	2,0 c	1,7 b	4,0 a	38,9 a	30,9 a	1.600 a
CIAT 899 + 20kg de N	5,5 b	3,1 b	3,6 a	38,4 a	30,3 a	1.367 b
CIAT 899	8,7 a	7,0 a	3,9 a	38,0 a	30,0 a	1.412 b
PRF 81	7,6 b	5,3 b	4,3 a	39,7 a	29,3 a	1.409 b
H 12	13,6 a	13,1 a	4,3 a	39,1 a	29,7 a	1.394 b
CPAO 2.11 L	10,2 a	9,2 a	4,3 a	39,1 a	29,8 a	1.522 b
CPAO 12.5 L2	10,7 a	8,5 a	3,9 a	39,4 a	29,1 a	1.667 a
CPAO 17.5 L2	12,0 a	9,3 a	4,0 a	37,9 a	29,4 a	1.530 b
CPAO 56.4 L2	7,9 a	6,7 a	3,7 a	39,0 a	29,4 a	1.755 a
CV (%)	21,3	31,5	22,0	8,4	6,6	17,6

⁽¹⁾Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. ⁽²⁾Sem adubação nitrogenada e sem inoculação. ⁽³⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura). Médias seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3.4 – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa seca de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Aquidauana – MS. Safra 2007.

Tratamentos	Variáveis					
	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl)	⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg)	Massa seca de parte aérea (g)	Nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Controle ⁽²⁾	6,5 c	6,2 b	3,81 a	39,08 a	25,4 b	649 b
Adubação nitrogenada ⁽³⁾	2,6 d	1,6 b	4,14 a	37,55 a	31,0 a	1.307 a
CIAT 899 + 20kg de N	6,0 c	4,5 b	3,65 a	40,11 a	28,4 b	1.160 a
CIAT 899	15,7 a	15,2 a	4,35 a	38,13 a	32,3 a	1.299 a
PRF 81	7,3 c	10,6 a	4,80 a	39,60 a	28,2 b	945 b
H 12	12,1 b	19,1 a	4,19 a	37,94 a	28,6 b	927 b
CPAO 2.11 L	13,1 b	9,2 a	4,65 a	38,34 a	30,5 a	968 b
CPAO 12.5 L2	16,3 a	15,8 a	2,99 a	39,80 a	31,1 a	1.187 a
CPAO 17.5 L2	18,5 a	16,3 a	4,02 a	40,79 a	30,1 a	1.257 a
CPAO 56.4 L2	10,3 b	9,9 a	3,91 a	40,32 a	27,9 b	1.182 a
CV (%)	13,8	24,9	21,8	5,7	8,6	24,1

⁽¹⁾Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. ⁽²⁾Sem adubação nitrogenada e sem inoculação. ⁽³⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura). Médias seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3.5 – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Anaurilândia – MS. Safra 2007.

Tratamentos	Variáveis					
	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl)	⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg)	Massa seca de parte aérea (g)	Nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Controle ⁽²⁾	14,4 c	5,2 b	3,5 a	39,6 a	27,0 b	1.267 a
Adubação nitrogenada ⁽³⁾	4,7 d	1,4 b	3,1 a	41,7 a	29,8 a	982 a
CIAT 899 + 20kg de N	14,6 c	7,0 b	2,9 a	38,9 a	30,9 a	1.067 a
CIAT 899	16,2 c	6,1 b	3,3 a	41,9 a	26,6 b	1.137 a
PRF 81	22,2 b	8,4 b	3,8 a	42,3 a	28,6 b	1.056 a
H 12	39,5 a	27,5 a	3,1 a	40,5 a	27,1 b	1.048 a
CPAO 2.11 L	25,3 b	23,9 a	3,3 a	38,5 a	27,8 b	1.213 a
CPAO 12.5 L2	23,4 b	10,9 b	2,8 a	38,5 a	28,0 b	1.071 a
CPAO 17.5 L2	26,6 b	14,7 b	3,1 a	39,6 a	27,9 b	1.195 a
CPAO 56.4 L2	15,3 c	6,8 b	3,2 a	40,7 a	27,2 b	1.505 a
CV (%)	18,9	27,2	28,8	9,5	4,7	17,5

⁽¹⁾Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. ⁽²⁾Sem adubação nitrogenada e sem inoculação. ⁽³⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura). Médias seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3.6 – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Campo Grande – MS. Safra 2007.

Tratamentos	Variáveis					
	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl)	⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg)	Massa seca de parte aérea (g)	Nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Controle ⁽²⁾	0,3 b	0,3 a	6,4 a	38,8 a	34,6 b	1.082 b
Adubação nitrogenada ⁽³⁾	0,4 b	3,3 a	5,9 a	38,5 a	37,8 a	2.803 a
CIAT 899 + 20kg de N	1,2 b	0,7 a	5,1 a	36,7 a	37,9 a	2.108 a
CIAT 899	0,3 b	0,3 a	5,6 a	33,5 a	37,8 a	2.252 a
PRF 81	0,3 b	0,6 a	5,3 a	38,5 a	35,6 b	2.599 a
H 12	0,7 b	3,1 a	7,1 a	38,4 a	38,6 a	2.587 a
CPAO 2.11 L	1,3 b	1,7 a	6,0 a	38,6 a	36,9 a	2.686 a
CPAO 12.5 L2	0,3 b	0,5 a	6,6 a	38,6 a	35,2 b	2.664 a
CPAO 17.5 L2	0,7 b	0,9 a	5,7 a	34,5 a	35,1 b	2.506 a
CPAO 56.4 L2	5,0 a	5,5 a	5,4 a	39,6 a	38,7 a	3.187 a
CV (%)	31,4	46,1	25,3	9,6	5,9	14,7

⁽¹⁾Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. ⁽²⁾Sem adubação nitrogenada e sem inoculação. ⁽³⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura). Médias seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3.7 – Número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, massa de parte aérea por planta, massa de 100 grãos, nitrogênio na parte aérea e produtividade de grãos de feijoeiro (cv. Pérola) em função de fornecimento de nitrogênio mineral e/ou inoculação das sementes com diferentes estirpes de rizóbio comercial e selecionados de solos do Brasil Central, em Dourados – MS. Safra 2007.

Tratamentos	Variáveis					
	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl)	⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg pl ⁻¹)	Massa seca de parte aérea (g pl ⁻¹)	Nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Controle ⁽²⁾	0,2 b	0,2 b	3,0 a	37,6 a	24,3 a	1.010 b
Adubação nitrogenada ⁽³⁾	0,1 b	0,4 b	2,9 a	37,8 a	24,8 a	1.303 b
CIAT 899 + 20kg de N	0,2 b	0,3 b	3,0 a	37,8 a	24,1 a	1.134 a
CIAT 899	2,5 a	6,4 a	2,5 a	38,5 a	23,3 a	960 b
PRF 81	0,5 b	1,8 b	3,2 a	38,3 a	24,8 a	1.036 a
H 12	2,1 a	2,6 b	2,6 a	39,3 a	24,3 a	1.012 b
CPAO 2.11 L	1,0 b	2,3 b	3,2 a	40,9 a	24,1 a	1.221
CPAO 12.5 L2	2,8 a	7,0 a	3,3 a	40,8 a	22,0 a	1.745 a
CPAO 17.5 L2	2,1 a	5,3 a	3,1 a	36,9 a	24,6 a	1.161 b
CPAO 56.4 L2	1,2 b	4,7 a	2,1 a	35,3 a	23,7 a	1.145 b
CV (%)	28,1	38,2	25,3	8,2	6,5	14,1

⁽¹⁾Dados transformados por $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística. ⁽²⁾Sem adubação nitrogenada e sem inoculação. ⁽³⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura). Médias seguidas das mesmas letras nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3.8 – Variação de receita financeira em função da aplicação de N-mineral e inoculação de sementes de feijoeiro com diferentes estirpes de *Rhizobium*, em relação ao tratamento sem inoculação e sem adubação (controle), média dos locais: Aquidauana-MS, Anaurilândia-MS, Campo Grande-MS e Dourados-MS. Safra 2007.

Tratamento	⁽¹⁾ Acréscimo de produtividade (kg ha ⁻¹)	⁽²⁾ Acréscimo de receita bruta (R\$ ha ⁻¹)	⁽³⁾ Custo total da adubação (R\$ ha ⁻¹)	Acréscimo de receita líquida (R\$ ha ⁻¹)
N-mineral (80 kg ha ⁻¹)	598	971,75	185,50	786,25
CIAT 899 + 20kg de N	365	593,13	50,60	542,53
CIAT 899	410	666,25	5,00	661,25
PRF 81	407	661,38	5,00	656,38
H 12	392	637,00	5,00	632,00
CPAO 2.11 L	520	845,00	5,00	840,00
CPAO 12.5 L2	665	1.081,00	5,00	1.076,00
CPAO 17.5 L2	528	858,00	5,00	853,00
CPAO 56.4 L2	753	1.223,63	5,00	1.218,63

⁽¹⁾Acréscimo de produtividade em relação do controle. ⁽²⁾Considerando R\$ 97,50 a saca de 60kg de feijão carioca. ⁽³⁾Custo do inoculante por dose de R\$ 5,00; custo do N de R\$2,28 o quilo; custo de aplicação da uréia em cobertura R\$ 3,11.

3.6 CONCLUSÕES

A inoculação do feijoeiro com estirpes nativas CPAO 56.4 L2 e CPAO 12.5 L2, resultou na produção de grãos semelhante à obtida com adubação de 80 kg ha⁻¹ de N.

De acordo com as normas do Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, as estirpes nativas CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L podem ser indicadas para produção de novos inoculantes para o feijoeiro, uma vez que determinaram produtividades superiores àquelas obtidas com o inoculante atualmente comercializado no Brasil

As estirpes CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11 L aumentaram a receita líquida por hectare de feijoeiro em R\$ 1.281,63; 1.076,00; 853,00 e 840,00, respectivamente, em relação ao controle sem adubação e sem inoculação, além de superar também a adubação nitrogenada com 80 kg ha⁻¹ de N e as estirpes comerciais.

4 ARTIGO B

**PRODUTIVIDADE E NODULAÇÃO DE LINHAGENS PROMISSORAS DE
FEIJOEIRO DO GRUPO CARIOCA INOCULADAS COM *Rhizobium tropici* OU
SUPRIDAS COM ADUBO NITROGENADO.**

PRODUTIVIDADE E NODULAÇÃO DE LINHAGENS PROMISSORAS DE FEIJOEIRO DO GRUPO CARIOCA INOCULADAS COM *Rhizobium tropici* OU SUPRIDAS COM ADUBO NITROGENADO.

4.1 RESUMO

O trabalho teve por objetivo avaliar a produtividade de grãos de linhagens promissoras de feijoeiro quando submetidas à inoculação com *Rhizobium tropici* ou adubação nitrogenada. Os experimentos foram conduzidos em Dourados, MS nos anos agrícolas de 2008 e 2009. Os materiais estudados foram provenientes do programa de melhoramento genético da Embrapa Arroz e Feijão e faziam parte dos ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições em um esquema fatorial 2x14, em que os fatores foram as duas formas de fornecimento de nitrogênio (N-mineral e inoculação) e 27 diferentes linhagens de feijoeiro (26 novas linhagens e o controle). As sementes foram inoculadas com uma mistura das estirpes de *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077), recomendada indistintamente para a cultura do feijoeiro no Brasil. O inoculante foi preparado visando conter, em média, uma densidade de 10^9 células g^{-1} de turfa. Para a maioria das novas linhagens testadas não se observou diferenças de produtividades entre a inoculação com *R. tropici* e adubação com 80 kg ha^{-1} de N. A linhagem CNFC 11946 foi mais produtiva quando inoculada com *R. tropici*, indicando a possibilidade de se suprimir a adubação nitrogenada do feijoeiro. As linhagens que se destacaram em termos de produtividade somente com a inoculação com *R. tropici* deverão ser utilizadas em novos experimentos regionais para futura seleção de cultivares. Entre as linhagens testadas, a única que apresentou maior produtividade quando adubada com N foi a CNFC 10762, ao passo que a CNFC 11946 apresentou maior produção quando inoculada.

Palavras – Chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio. Produtividade de grãos. Genótipos.

YIELD AND NODULATION IN PROMISING LINES OF CARIOCA GROUP COMMON BEAN INOCULATED WITH *RHIZOBIUM TROPICI* OR TREATED WITH NITROGENATED FERTILIZER.

4.2 ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the grain yield of promising lines of common bean inoculated with *Rhizobium tropici* or treated with mineral-N fertilizer. The experiments were conducted in Dourados, Brazilian state of Mato Grosso do Sul during the 2008 and 2009 cropping seasons. The materials studied were obtained from the Embrapa (Brazilian Agricultural Research Corporation) Rice and Bean breeding program, produced within the framework of Value for Cultivation and Use (VCU) trials. The experimental design consisted of randomized blocks with three replications in a 2x14 factorial management, with two methods of supplying nitrogen (mineral-N or inoculation) and 27 different lines of common bean (26 new lines and the control). The seeds were inoculated with a mixture of strains of *R. tropici* CIAT

899 (SEMIA 4077), indiscriminately recommended for the common bean crop in Brazil. The inocula was prepared to contain an average density of 10^9 cells per g^{-1} peat. For the majority of the new lines tested, no differences in yield were observed between inoculation with *R. tropici* or fertilizing with 80 kg ha^{-1} of N. The yield for the CNFC 11946 line was higher when inoculated with *R. tropici*, indicating potential for dispensing the mineral-N fertilization for common bean. The lines with the highest yields *R. tropici* will be investigated in new regional experiments for future cultivar selection. Among the lineages tested the only one that showed higher yield when fertilized with mineral N was the CNFC10762, while the CNFC11946 showed higher yield when inoculated.

Key – words: *Phaseolus vulgaris*. Biological nitrogen fixation. Grain yield. Genotypes.

4.3 INTRODUÇÃO

O feijão é cultivado em mais de 100 países, com diferentes espécies e variedades, sob diversos sistemas de produções, o que para Ruas (2008) dificulta uma análise comparativa mais profunda e detalhada quanto à qualidade e os indicadores de produtividade.

Segundo a FAO (2011), o Brasil é o maior produtor e consumidor mundial do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), constituindo junto com o arroz a dieta básica da população brasileira, como a principal fonte protéica vegetal. Cerca de 60% da produção brasileira de feijão é oriunda de áreas ou propriedades onde se pratica a agricultura familiar, o que, para a Comissão Técnica Sul Brasileira de Feijão (2010) explica a falta de especialização do setor. Por outro lado, os grandes produtores utilizam o feijoeiro como cultura alternativa, visando lucros imediatos em tempos de desabastecimento do mercado doméstico de feijão.

O cultivo do feijoeiro no Brasil se dá em três épocas distintas de semeadura: “época das águas” ou primeira safra (agosto a novembro); “época da seca” ou segunda safra (janeiro a março) e “época de inverno” ou terceira safra (abril a julho), para aqueles produtores que dispõem de equipamento e disponibilidade de água para irrigação (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

O hábito alimentar diversificado entre as diferentes regiões brasileiras faz com que a sua preferência por tipos, variedades e classes sejam diferenciadas. No Brasil, 63% da produção global de feijão é representada pelos feijões de cor, com destaque para o carioca. A produção de feijão do grupo ou tipo

preto responde por 18% e o caupi (macaçar) por 19%. De acordo com dados da Comissão Técnica Sul Brasileira de Feijão (2010) o feijão carioca é o mais consumido no Brasil.

No final dos anos 60, o Instituto Agronômico de Campinas (IAC) acrescentou ao seu banco de germoplasma um novo material que apresentava o tegumento com listras escuras e sinuosas semelhante aos desenhos das calçadas da praia de Copacabana no Rio de Janeiro, o que deu origem à denominação de feijão Carioca. Estudos posteriores indicaram que o novo material apresentava produtividades superiores às dos materiais disponíveis. Em 1976 já era a mais cultivada e comercializada no Estado de São Paulo (VICENTE et al., 2000).

Dada a preferência dos brasileiros, os programas de melhoramento genético do feijoeiro têm dado especial destaque à busca de cultivares adaptados aos diversos ambientes de cultivo e sistemas de produções para o feijão carioca. A seleção de novos materiais genéticos passou a ser feita com base nas exigências do comércio e dos consumidores, pois, somente a produtividade se mostrou insuficiente para a consolidação de genótipos com alto potencial de produção, sendo a cultivar “Carioca 80” um exemplo clássico. Essa cultivar apesar de apresentar excelentes produtividades, possuía halo, ao redor do hilo, de coloração alaranjada, que não agradava aos consumidores. Por este motivo foi necessário retirá-la do mercado em razão da baixa demanda e principalmente porque os atacadistas pagavam menos para este tipo de grãos. Outros materiais (Aporé e Carioca MG) passaram pelo mesmo processo, apesar da alta produtividade (FARINELLI, 2006). Atualmente, aspectos tecnológicos como o tempo de cozimento, tamanho, forma, coloração e resistência do tegumento, expansividade, capacidade de hidratação e teor protéico dos grãos são utilizados nos trabalhos de melhoramento para seleção de genótipos promissores (LEMOS et al., 2004; FARINELLI, 2006). Avaliações destas características são exigidas para se fazer o registro de novas cultivares junto ao Serviço de Proteção de Cultivares do Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA).

Apesar das cultivares modernas apresentarem alto potencial de produção, a produtividade média do feijão no Brasil ainda é baixa, 852 kg ha⁻¹ em 2007 (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2010) . Diversos fatores ligados aos sistemas de produção tem sido apontados como a causa desta baixa produtividade, dentre os quais se destacam o manejo incorreto dos nutrientes,

principalmente do nitrogênio que é o nutriente exigido em maiores quantidades pelo feijoeiro (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

Vários trabalhos relacionam o efeito positivo da adubação nitrogenada na produtividade do feijoeiro: quando aplicado em cobertura (GOMES JUNIOR et al., 2005; LEMOS et al., 2003), sob irrigação (BARBOSA FILHO; FAGERIA; SILVA, 2001), em plantio direto (BINOTTI et al., 2010) e na safra das águas (ANDREOTTI et al., 2005). Entretanto, o uso descontrolado ou o manejo inadequado dos fertilizantes nitrogenados, pode resultar em poluição das águas superficiais e subterrâneas.

Deve-se destacar ainda que na fabricação dos adubos nitrogenados há grande consumo de energia proveniente de combustíveis fósseis, e depois de aplicados ao solo pode ocorrer grandes perdas por lixiviação, volatilização ou desnitrificação, diminuindo a eficiência agrônômicas destes adubos (CANTARELLA, 2007).

Apesar de o nitrogênio ser o principal componente da atmosfera terrestre, nenhum organismo superior é capaz de utilizá-lo diretamente. Entretanto, as leguminosas em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* conseguem aproveitar esse imenso reservatório de N através da fixação biológica de nitrogênio (FBN), podendo, como no caso da cultura da soja, dispensar totalmente a necessidade de adubação nitrogenada.

Na cultura do feijoeiro o desafio atual enfrentado pelos melhoristas e fitotecnistas está relacionado à seleção de cultivares de feijoeiro eficientes na fixação biológica do N, visando, sobretudo, a minimização ou eliminação da adubação nitrogenada mineral ou orgânica.

A baixa eficiência da FBN na cultura do feijoeiro tem sido atribuída a diferentes fatores, entre os quais pode se destacar o estresse hídrico (MNASRI; AOUANI; MHAMDI, 2007 e MORAES et al., 2010), as temperaturas elevadas (MERCANTE, 1993; PINTO et al., 1998), a acidez e a baixa disponibilidade de nutrientes como o fósforo, cobalto, molibdênio e do próprio nitrogênio nos solos, uma vez que a FBN só ocorre em situações de baixas concentrações de nitrogênio disponíveis no solo (CAMPANHARO et al., 2010; FRANCO; DOBEREINER, 1988; KUBOTA et al., 2008; PESSOA et al., 2001).

Com relação às bactérias fixadoras do N, várias espécies tais como: *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*,

Rhizobium etli e *Rhizobium tropici* são capazes de nodular o feijoeiro (FRANCO et al., 2002), porém, a instabilidade genética de muitas estirpes de rizóbio ocasiona a perda de eficiência ou capacidade de nodulação, o que justifica em parte, a grande diversidade de resultados obtidos com a inoculação do feijoeiro.

Dada a maior estabilidade genética e menor reiteração dos genes *nif* no *R. tropici*, na VI RELARE (Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação de Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*) de 1994, decidiu-se que apenas a espécie *R. tropici* deveria ser utilizada na produção de inoculantes para feijoeiro (HUNGRIA; ARAÚJO, 1995). Atualmente, apenas as estirpes CIAT 899 e a PRF 81 de *R. tropici* são indicadas para produção de inoculantes comerciais no Brasil.

Com relação aos aspectos ou características desejáveis da planta de feijoeiro, os programas de melhoramento genético do Brasil têm privilegiado a resposta de novos materiais à adubação nitrogenada mineral em detrimento a FBN. A maioria dos trabalhos que avaliam adaptabilidade e estabilidade de novas linhagens e cultivares de feijoeiro emprega a adubação nitrogenada mineral como técnica de manejo das parcelas experimentais (BERTOLDO et al., 2009; ELIAS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2004; ROCHA et al., 2010). Se o desejo é a seleção de materiais eficientes na FBN, a prática da adubação nitrogenada deve ser eliminada das áreas experimentais, para permitir a seleção de genótipos adaptados às diferentes regiões produtoras. Para Fernandes Júnior e Reis (2008) o sucesso obtido com a cultura da soja deve ser creditado à busca incessante por estirpes de rizóbio eficientes e de cultivares responsivos à FBN.

O feijoeiro é considerado uma espécie promíscua, apresenta baixa seletividade e especificidade com bactérias do gênero *Rhizobium* podendo estabelecer associações com rizóbios nativos (STRALIOTTO; TEIXEIRA; MERCANTE, 2002), e por isso, tende a apresentar menor eficiência na FBN (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008).

Franco et al. (2002) obtiveram respostas diferenciadas entre as cultivares de feijoeiro quanto à FBN, assim como os trabalhos realizados pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) indicaram que as cultivares de maturação tardia apresentavam tendência de acumular maiores quantidades de N fixado simbioticamente. Alguns grupos gênicos, como aqueles de origem meso-americana apresentam tendência de formar nódulos mais rapidamente com estirpes

de *R. etli* enquanto os materiais dos Andes da Argentina e do Peru formam nódulos mais rapidamente com *R. tropici* (KIPE-NOLT; MONTEALEGRE; THOME, 1992), indicando maior compatibilidade entre estes grupos.

Moraes et al. (2010), avaliando a FBN em diferentes genótipos de feijoeiro tolerantes a seca, concluíram que a utilização de estirpes eficientes em materiais nodulantes de feijoeiro podem dispensar a adubação nitrogenada mineral de cobertura, sem a perda da produtividade das culturas.

O trabalho teve por objetivo avaliar diferentes linhagens de feijoeiro do grupo carioca quanto à inoculação com *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) ou adubação nitrogenada mineral.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nas safras 2008 (experimento 1) e 2009 (experimento 2), no município de Dourados-MS (22°16'S, 54° 49'W, 408 m). O experimento 1 foi implantado na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, enquanto que o experimento 2 a instalação se deu na área experimental da Faculdades Anhanguera de Dourados (FAD). Nas duas áreas experimentais o solo predominante era o Latossolo Vermelho distroférrico, textura argilosa. Os resultados das análises químicas dos solos de cada área encontram-se apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Os resultados das análises químicas dos solos das áreas experimentais antes da instalação dos experimentos. *

Ano	pH (água)	M.O. g kg ⁻¹	P mg dm ⁻³	Al ³⁺ -----	Ca ²⁺ cmol _c dm ⁻³ -----	Mg ²⁺ -----	K	V %
2008	5,9	32,7	12,3	0,0	7,1	2,7	0,82	69
2009	6,0	21,7	3,7	0,0	3,7	1,3	0,38	58

* Análises realizadas pelo laboratório da Embrapa Agropecuária Oeste. MO= Walkley e Black, P e K=Mehlich-1, Al, Ca e Mg= KCl 1molL⁻¹. V (%)=(SB/T) x 100

As adubações de plantio foram feitas pela aplicação de 300 kg ha⁻¹ do formulado 00-20-20. A adubação nitrogenada (N-mineral), nos tratamentos em que não houve inoculação, constou da dose de 80 kg ha⁻¹ de N, sendo 40 kg ha⁻¹ no

plântio e o restante, em cobertura, 30 dias após a germinação, utilizando a uréia como fonte de N.

No experimento 1 empregou-se o sistema de plântio direto, ao passo que no experimento 2 utilizou-se o sistema convencional de preparo do solo com uma aração e duas gradagens. Nos dois experimentos a sementeira das parcelas experimentais foi feita manualmente e logo após a colheita do milho em uma área (experimento 1) e após o pousio em outra (experimento 2). Na área de pousio havia várias plantas espontâneas, com predomínio de *Brachiaria brizantha*. Para cada sementeira distribuíram-se 15 sementes por metro linear, e os sulcos foram espaçados de 0,50 m. A parcela experimental foi constituída por seis linhas, com quatro metros de comprimento, das quais duas foram utilizadas para amostragem de produtividade e uma para avaliação de nodulação. Para avaliação da nodulação, empregou-se metodologia descritas em Cardoso et al. (2009). As sementeiras do primeiro e segundo experimentos foram realizadas em setembro/2008 e outubro/2009, respectivamente.

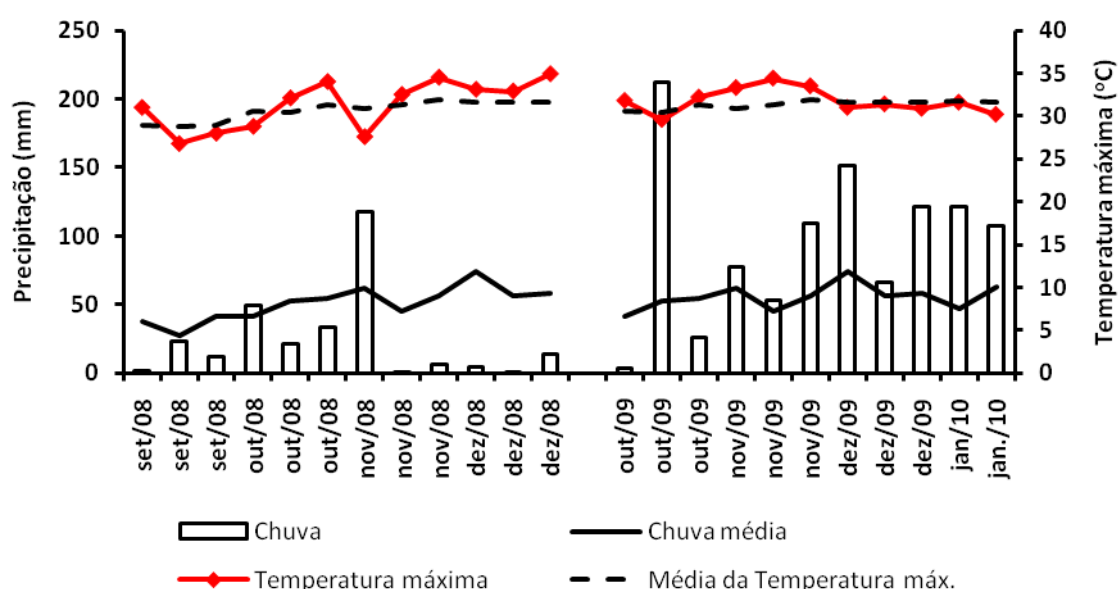
O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos testados, em cada experimento (1 e 2), resultaram de um arranjo fatorial de 2x14, sendo que os fatores foram duas formas de fornecimento de nitrogênio (adubação nitrogenada mineral e inoculação com *Rhizobium tropici*) e diferentes linhagens de feijoeiro que foram provenientes do programa de melhoramento genético de feijoeiro da Embrapa Arroz e Feijão, através dos ensaios de VCU (Valor de Cultivo e Uso). Com o objetivo de ampliar as linhagens estudadas, utilizou-se os materiais dos ensaios VCU de 2008 e de 2009, o que totalizou 26 novas linhagens e o controle (médias das variedades BRS Cometa, BRS Estilo, IPR Juriti e Pérola). Dessa forma, em cada experimento avaliou-se 14 materiais, sendo 13 novas linhagens e o controle. As linhagens avaliadas em cada experimento foram:

Experimento 1/2008: CNFC 10703, CNFC 10713, CNFC 10716, CNFC 10721, CNFC 10729, CNFC 10733, CNFC 10742, CNFC 10753, CNFC 10757, CNFC 10758, CNFC 10762, CNFC 10763 e CNFC 10813.

Experimento 2/2009: CNFC 10429, CNFC 11944, CNFC 11945, CNFC 11946, CNFC 11948, CNFC 11951, CNFC 11952, CNFC 11953, CNFC 11954, CNFC 11956, CNFC 11959, CNFC 11962 e CNFC 11966.

Quando se empregou a inoculação, as sementes foram inoculadas com estirpe de *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077), recomendada comercialmente para o feijoeiro no Brasil. O inoculante utilizado foi preparado com uma densidade de 10^9 células g^{-1} de turfa. O inoculante foi aplicado na dose de 500 g para 50 kg de sementes, acrescentando-se 300 mL de uma solução açucarada a 10% (p:v), visando aumentar a aderência do mesmo às sementes (Pelegri et al., 2009). Os dados climáticos relativos às variações de temperatura e distribuição das chuvas, durante a fase experimental, encontram-se indicados na Figura 4.1 (CPAO, 2011).

Figura 4.1 – Variações das temperaturas máximas e distribuição das chuvas durante o período experimental, por decêndio nos anos 2008 e 2009, e médias históricas de precipitação e temperatura máxima. Dourados-MS. Fonte: Estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste.



Foram realizadas as seguintes avaliações: número de nódulos, matéria seca de nódulos e da parte aérea (secagem em estufa a 50 e 65 °C, respectivamente, até obtenção de massa constante,), teor de N na parte aérea total e nos grãos (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997), número de vagem por planta, número de grãos por vagem e produtividade (corrigido a 13% de umidade). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância com desdobramentos das interações, conforme Barbin (2003). Quando necessário, as médias foram comparada pelos testes de F e Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se comparou o efeito da inoculação e da aplicação de N-mineral, para o número de nódulos por planta, no experimento 1 (2008), observou-se que a maioria das linhagens não apresentaram diferenças, ao passo que as linhagens CNFC 10813 e CNFC 10716 apresentaram maior número de nódulos quando inoculados e a linhagem CNFC 10758 apresentou maior número de nódulos quando recebeu adubação nitrogenada mineral (Tabela 4.2), corroborando com os resultados apresentados por Moraes et al. (2010). Fernandes Júnior e Reis (2008) salientam que estirpes altamente eficientes podem apresentar nodulação precária, quando inoculadas em áreas com estirpes nativas competitivas. Raposeiras et al. (2006), constatou esse fato avaliando a estirpe PRF 81 da *R. tropici*. No experimento 2 (tabela 4.4), as linhagens CNFC 11959, CNFC 11945, CNFC 11962, CNFC 11952, CNFC 11951, CNFC 11954, apresentaram maior número de nódulos quando inoculados, se assemelhando ao resultados observados por Silva et al. (2009) e Ferreira et al. (2000).

Se a comparação é feita entre as linhagens avaliadas, dentre aquelas que foram inoculados no experimento 1, apenas a CNFC 10813, CNFC 10716 e a CNFC 10733, apresentaram maiores números de nódulos que as demais que, por sua vez, não diferiram entre si (Tabela 4.2). Nos tratamentos com adubação mineral não foram observadas quaisquer diferenças significativas entre as linhagens. Para o experimento 2, quando se utilizou a adubação mineral, as linhagens CNFC 10429, CNFC 11946 e CNFC 11956 apresentaram os maiores números de nódulos e quando se utilizou a inoculação, as linhagens CNFC 10429, CNFC 11945, CNFC 11951, CNFC 11952, CNFC 11954, CNFC 11959 e CNFC 11962 se destacaram. Respostas diferenciadas entre materiais quanto ao número de nódulos foram obtidos por Franco et al. (2002), provavelmente porque diversos fatores interagem para que ocorra a completa formação dos nódulos (ARAÚJO; MUNHOZ; HUNGRIA; 1996). Neste estudo o número de nódulos observados nas plantas adubadas com N mineral diferiram daqueles apresentados por Araújo et al. (2007), Ferreira et al. (2000), Pelegrin et al. (2009) e Valadão et al. (2009). Segundo Mercante et al. (1992), a FBN é uma via facultativa utilizada pelas plantas leguminosas para assimilação do nitrogênio necessário a seu desenvolvimento, mas quando no substrato de crescimento há disponibilidade de N mineral, a nodulação pode ser

inibida ou totalmente suprimida, dado o seu alto custo energético. Por outro lado, Mercante e Franco (2000), avaliando a eficiência da inoculação com *R. tropici* (CIAT 899) em feijoeiro, observaram a ocorrência de nodulação mesmo nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada mineral quando estas foram acrescidas de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa*.

Quanto à produção de massa seca de nódulos, pode-se observar que no experimento 1 a linhagem CNFC 10753 (Tabela 4.2) e no experimento 2, as linhagens CNFC 11952, CNFC 11954, CNFC 11962 e CNFC 11951 apresentaram maiores produções quando inoculadas do que aquelas que receberam N-mineral (Tabela 4.2). Silva et al. (2009) observaram redução na massa seca de nódulos à medida em que se aumentava a dose do N aplicado. Quanto às linhagens que foram inoculadas, a CNFC 11952, a CNFC 11954, a CNFC 10429 e a CNFC 11962 foram que apresentaram maiores valores para produção de massa seca de nódulos e diferiram das demais.

Avaliando a produção da massa seca de parte aérea do feijoeiro, foi possível observar que as linhagens CNFC 10716, CNFC 10763, no experimento 1 (Tabela 4.2) e as linhagens, CNFC 11956, CNFC 11954, CNFC 11945 e o tratamento controle no experimento 2 (Tabela 4.4), apresentaram as maiores produções quando receberam adubação nitrogenada mineral, o que está de acordo com os resultados apresentados por Souza, Straliozzo e Teixeira (2004) e Pasqualini (2008). Estes autores verificaram que alguns genótipos de feijoeiro respondiam à adubação nitrogenada enquanto outros eram indiferentes, ou seja, não apresentavam produções diferentes entre as plantas inoculadas e aquelas adubadas com N. Dentre aquelas que receberam adubação com N-mineral, as linhagens CNFC 11954, CNFC 11956, CNFC 11945, CNFC 11946, CNFC 10429, CNFC 11953, CNFC 11959, CNFC 11948 e o controle apresentaram maiores produções de massa seca da parte aérea no experimento 2 (Tabela 4.4). Para os tratamentos com inoculação das sementes do feijoeiro com *R. tropici*, não foram observadas quaisquer diferenças entre as linhagens avaliadas nos dois experimentos do estudo.

Os teores de nitrogênio na matéria seca da parte aérea variaram entre 2,98 e 4,74% e 2,5 a 4,2%, respectivamente, para os experimentos 1 e 2 (Tabelas 4.2 e 4.4). De acordo com Fancelli e Dourado Neto (2007) estes teores podem ser considerados adequados para o feijoeiro. Os teores de nitrogênio nos grãos, no experimento 1 (Tabela 4.3), variaram de 3,78 e 4,69% e estão de acordo

com Pessoa et al. (1996), que estabeleceram como nível crítico o teor de 3,47%. No experimento 2 (Tabela 4.5), os teores variaram entre 2,0 e 4,8%, a ocorrência de períodos com altas temperaturas (acima de 34° C) durante as fases de crescimento vegetativo e floração (Figura 4.1), pode ter contribuído para redução do teor de N nos grãos, pois de acordo com Didonet e Silva (2004), a ocorrência de altas temperaturas durante o ciclo da cultura altera as fases fenológicas do feijoeiro, afetando a produção e a distribuição de fotoassimilados. Além disso, altas temperaturas diminuem a eficiência da FBN (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008; MERCANTE, 1993), o que poderia justificar os resultados obtidos.

As linhagens CNFC 10721, CNFC 10729 e CNFC 10742 apresentaram maiores números de vagens por planta quando adubadas com N mineral do que quando inoculadas (Tabela 4.3), contrariando as observações de Araújo et al. (2007) que não verificaram diferenças e de Lemos et al. (2003) que obtiveram maiores números de vagens nas plantas de feijoeiro inoculadas. Porém, independentemente do ano de cultivo, quando se comparam as linhagens dentro de cada tratamento (adubação ou inoculação), estas se comportaram de maneira semelhante, não apresentando diferenças para número de vagens por planta (Tabelas 4.3 e 4.5).

Para o número de grãos por vagem, apenas as linhagens CNFC 10763, no experimento 1, e CNFC 11966, no experimento 2, diferiram quanto à inoculação ou adubação nitrogenada, sendo que a primeira respondeu à adubação mineral e a segunda à inoculação com *R. tropici* (Tabelas 4.3 e 4.5). Quando se avalia o efeito das linhagens dentro de cada um destes fatores ou tratamentos, verifica-se que quando foi empregada a inoculação com *R. tropici* houve um comportamento diferenciado entre elas, com destaques para as seguintes linhagens CNFC 10733, CNFC 10713, CNFC 10757 e CNFC 10703 no experimento 1 e CNFC 10429, CNFC 11944, CNFC 11952, CNFC 11956, CNFC 11945, CNFC 11966 e CNFC 11953, no experimento 2, quando apresentaram entre 3,2 e 4,7 grãos por vagem para o experimento 1 e de 2,4 e 3,6 grãos por vagem no experimento 2 (Tabelas 4.3 e 4.5). Os valores máximos e mínimos para número de grãos por vagem observados neste estudo se assemelham aos encontrados por Lemos et al. (2004), muito embora esses autores tenham salientado que a média de 3,3 grãos por vagem verificada em um ano experimental, ficou abaixo do anterior (4,5), devido

a ocorrência de altas temperaturas naquele ano, condição idêntica à ocorrida nesse trabalho (figura 4.1).

Comparando a inoculação com *R. tropici* e a adubação com N mineral não foram observadas diferenças entre as linhagens de feijoeiro quanto à massa de 100 grãos. Estes resultados se assemelham aos observados por Lemos et al. (2003) e Vieira et al. (2000) porém difere daqueles apresentados por Bassan et al. (2001) que observaram maiores valores para massa de 100 grãos nos tratamentos com adubação nitrogenada mineral, porém, ressalva-se que as linhagens utilizadas nesses trabalhos diferem deste. Deve-se ressaltar que os valores médios obtidos neste estudo nos dois experimentos ficaram abaixo daqueles observados por Lemos et al. (2004). O que pode ser atribuído às condições climáticas desfavoráveis ocorridas durante os períodos de condução dos experimentos. Em 2008, as precipitações e temperaturas ficaram respectivamente, abaixo e acima das médias locais, durante a fase de enchimento de grãos (Figura 4.1). Em 2009 tanto as precipitações como as temperaturas médias ficaram acima das médias locais, favorecendo a ocorrência de doenças como a mela (*Thanatephorus cucumeris*), que prejudicou o desenvolvimento da cultura. Quando se faz a comparação da massa de 100 grãos dentro da inoculação ou da adubação nitrogenada, verifica-se que dentre os materiais testados no experimento 2, as linhagens CNFC 11966, CNFC 11948, CNFC 11945, CNFC 11954, CNFC 10429, CNFC 11962 e CNFC 11952 apresentaram maiores valores do que os demais, somente no tratamento com adubação nitrogenada mineral. Isso indica que além de apresentar bons níveis de produtividade só com a inoculação, estas linhagens são mais eficientes no aproveitamento do N aplicado.

Tabela 4.2 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* em algumas variáveis relativas à nodulação e das plantas do feijoeiro carioca. Experimento 1. Dourados-MS, 2008.

Linhagens	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl ⁻¹)		⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg pl ⁻¹)		Massa seca de parte aérea (g pl ⁻¹)		Nitrogênio na parte aérea (%)	
	Adubação ⁽²⁾	Inoculação ⁽³⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽⁴⁾	6,3 a A	1,7 b A	2,2 a A	1,1 a A	13,1 a A	13,2 a A	4,05 a A	3,83 a A
CNFC 10703	3,1 a A	5,4 b A	2,6 a A	3,3 a A	9,3 a A	11,6 a A	4,61 a A	3,71 a B
CNFC 10713	3,9 a A	1,5 b A	1,3 a A	1,4 a A	13,2 a A	14,0 a A	3,80 a A	3,75 a A
CNFC 10716	3,6 a B	12,8 a A	2,3 a A	4,2 a A	17,1 a A	10,4 a B	4,07 a A	3,62 a A
CNFC 10721	8,7 a A	2,0 b A	6,8 a A	6,5 a A	13,3 a A	14,5 a A	4,03 a A	3,22 a A
CNFC 10729	6,5 a A	4,2 b A	2,1 a A	4,0 a A	15,1 a A	9,5 a A	3,82 a A	3,84 a A
CNFC 10733	7,4 a A	8,7 a A	1,0 a A	1,7 a A	16,2 a A	11,8 a A	4,20 a A	3,71 a A
CNFC 10742	6,3 a A	2,3 b A	1,2 a A	0,9 a A	15,2 a A	9,6 a A	4,19 a A	3,96 a A
CNFC 10753	0,5 a A	4,5 b A	0,2 a B	4,6 a A	15,3 a A	13,3 a A	3,84 a A	3,75 a A
CNFC 10757	6,6 a A	4,8 b A	3,0 a A	1,3 a A	13,3 a A	11,8 a A	3,52 a A	2,98 a A
CNFC 10758	7,4 a A	1,3 b B	2,3 a A	1,4 a A	14,9 a A	11,5 a A	4,29 a A	4,11 a A
CNFC 10762	0,8 a A	3,2 b A	0,8 a A	1,8 a A	13,9 a A	11,3 a A	3,71 a A	3,77 a A
CNFC 10763	3,3 a A	3,4 b A	2,5 a A	0,9 a A	19,8 a A	12,8 a B	4,74 a A	4,16 a A
CNFC 10813	4,3 a B	16,8 a A	1,2 a A	3,7 a A	19,5 a A	16,8 a A	4,07 a A	3,70 a A
CV (%)	36,24		35,74		28,78		13,77	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾Dados originais, médias transformadas $(x+1)^{1/2}$; ⁽²⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽³⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽⁴⁾Média das cultivares comerciais BRS Cometa, BRS Estilo, IPR Juriti e Pérola.

Tabela 4.3 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* em algumas variáveis de produção e nos teores de N dos grãos do feijoeiro carioca. Experimento 1. Dourados-MS, 2008.

Linhagens	Número de vagem (pl ⁻¹)		Grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)		Nitrogênio no grão (%)	
	Adubação ⁽¹⁾	Inoculação ⁽²⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽³⁾	13,2 a A	9,3 a A	3,8 a A	3,6 b A	23,5 a A	22,0 a A	4,08 a A	4,13 a A
CNFC 10703	14,9 a A	10,8 a A	3,6 a A	4,0 a A	21,4 a A	21,3 a A	3,89 a A	4,15 a A
CNFC 10713	10,7 a A	9,1 a A	4,4 a A	4,4 a A	18,4 a A	18,9 a A	4,08 a A	4,50 a A
CNFC 10716	8,9 a A	10,1 a A	3,8 a A	3,4 b A	19,8 a A	18,4 a A	4,59 a A	4,18 a A
CNFC 10721	13,3 a A	7,5 a B	4,1 a A	3,5 b A	24,0 a A	22,7 a A	4,20 a A	4,61 a A
CNFC 10729	13,3 a A	7,4 a B	3,8 a A	3,8 b A	23,5 a A	25,1 a A	4,69 a A	4,22 a A
CNFC 10733	11,3 a A	7,6 a A	4,1 a A	4,7 a A	22,4 a A	20,1 a A	4,49 a A	4,26 a A
CNFC 10742	14,0 a A	9,2 a B	3,8 a A	3,4 b A	22,4 a A	22,2 a A	4,19 a A	4,11 a A
CNFC 10753	12,5 a A	8,7 a A	3,6 a A	3,6 b A	25,4 a A	23,6 a A	4,08 a A	4,32 a A
CNFC 10757	13,1 a A	10,3 a A	3,6 a A	4,1 a A	20,8 a A	20,2 a A	4,51 a A	4,36 a A
CNFC 10758	13,8 a A	9,9 a A	3,9 a A	3,7 b A	24,3 a A	21,8 a A	4,37 a A	4,39 a A
CNFC 10762	13,3 a A	9,4 a A	3,6 a A	3,6 b A	25,5 a A	22,1 a A	3,78 a A	3,82 a A
CNFC 10763	10,9 a A	8,7 a A	4,0 a A	3,2 b B	25,1 a A	24,7 a A	4,19 a A	4,50 a A
CNFC 10813	8,0 a A	11,0 a A	3,3 a A	3,8 b A	21,5 a A	24,2 a A	4,33 a A	4,25 a A
CV (%)	25,00		9,92		12,39		10,41	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽²⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽³⁾Média das cultivares comerciais BRS Cometa, BRS Estilo, IPR Juriti e Pérola.

Tabela 4.4 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* em algumas variáveis relativas à nodulação e das plantas do feijoeiro carioca. Experimento 2. Dourados-MS, 2009.

Linhagens	⁽¹⁾ Número de nódulos (pl ⁻¹)		⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg pl ⁻¹)		Massa seca de parte aérea (g pl ⁻¹)		Nitrogênio na parte aérea (%)	
	Adubação ⁽²⁾	Inoculação ⁽³⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽⁴⁾	3,0 b A	7,1 b A	4,1 a A	13,7 b A	14,4 a A	9,4 a B	3,7 b A	3,3 a B
CNFC 10429	16,5 a A	30,1 a A	17,3 a A	29,1 a A	14,4 a A	10,7 a A	3,5 b A	3,3 a A
CNFC 11944	0,5 b A	6,8 b A	0,5 a A	12,2 b A	10,4 b A	14,5 a A	3,9 a A	2,8 b B
CNFC 11945	2,3 b B	22,3 a A	7,7 a A	18,7 b A	14,6 a A	9,7 a B	3,4 b A	2,9 b B
CNFC 11946	8,4 a A	1,7 b A	10,7 a A	12,3 b A	14,5 a A	12,2 a A	3,5 b A	2,9 b B
CNFC 11948	3,2 b A	3,8 b A	4,9 a A	2,6 b A	12,5 a A	10,5 a A	3,7 b A	3,0 b B
CNFC 11951	1,8 b B	14,9 a A	4,5 a B	19,6 b A	10,6 b A	8,8 a A	4,2 a A	3,5 a B
CNFC 11952	3,0 b B	18,0 a A	2,4 a B	42,0 a A	10,1 b A	12,0 a A	3,5 b A	3,1 b A
CNFC 11953	0,7 b A	5,1 b A	2,2 a A	7,3 b A	13,6 a A	10,1 a A	3,9 a A	3,2 a B
CNFC 11954	0,0 b B	12,4 a A	0,0 a B	31,2 a A	16,4 a A	6,8 a B	4,2 a A	3,5 a B
CNFC 11956	6,8 a A	1,3 b A	11,1 a A	3,5 b A	16,4 a A	7,9 a B	3,6 b A	2,5 b B
CNFC 11959	3,3 b B	26,4 a A	3,2 a A	9,5 b A	12,6 a A	10,0 a A	3,4 b A	3,2 a A
CNFC 11962	3,5 b B	21,2 a A	5,0 a B	26,1 a A	10,1 b A	9,0 a A	4,1 a A	3,6 a B
CNFC 11966	0,0 b A	1,2 b A	0,0 a A	2,0 b A	9,1 b A	13,3 a A	3,9 a A	3,3 a B
CV (%)	37,16		58,28		23,56		8,23	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾ Dados originais, médias transformadas $(x+1)^{1/2}$; ⁽²⁾ 80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽³⁾ CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽⁴⁾ Média das cultivares comerciais BRS Cometa, BRS Estilo, IPR Juriti e Pérola.

Tabela 4.5 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação das sementes com *Rhizobium tropici* em algumas variáveis de produção e nos teores de N dos grãos do feijoeiro carioca. Experimento 2. Dourados-MS, 2009.

Linhasgens	Número de vagem (pl ⁻¹)		Grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)		Nitrogênio no grão (%)	
	Adubação ⁽¹⁾	Inoculação ⁽²⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽³⁾	11,8 a A	13,7 a A	2,7 a A	2,7 b A	21,4 b A	20,7 a A	3,7 a A	3,5 a A
CNFC 10429	15,0 a A	14,1 a A	2,9 a A	3,6 a A	24,3 a A	20,6 a A	3,8 a A	2,4 a B
CNFC 11944	9,8 a A	12,9 a A	3,3 a A	3,4 a A	20,4 b A	22,2 a A	4,0 a A	3,1 a A
CNFC 11945	14,1 a A	12,4 a A	2,7 a A	3,3 a A	24,6 a A	22,6 a A	2,9 b A	3,3 a A
CNFC 11946	11,0 a A	15,3 a A	3,1 a A	2,5 b A	21,7 b A	22,1 a A	1,9 b B	4,0 a A
CNFC 11948	12,3 a A	13,3 a A	2,7 a A	2,4 b A	25,0 a A	23,4 a A	2,3 b A	3,3 a A
CNFC 11951	9,7 a A	9,2 a A	2,3 a A	2,8 b A	20,2 b A	21,7 a A	4,8 a A	3,1 a B
CNFC 11952	11,7 a A	9,9 a A	3,2 a A	3,4 a A	22,4 a A	22,9 a A	2,0 b A	2,7 a A
CNFC 11953	14,3 a A	12,9 a A	3,3 a A	3,3 a A	21,0 b A	18,6 a A	4,1 a A	2,1 a B
CNFC 11954	12,3 a A	15,0 a A	2,8 a A	2,4 b A	24,3 a A	24,3 a A	3,1 b A	4,1 a A
CNFC 11956	10,5 a A	9,9 a A	3,2 a A	3,4 a A	17,0 b A	18,3 a A	2,1 b A	2,8 a A
CNFC 11959	10,5 a A	13,3 a A	3,5 a A	3,0 b A	19,9 b A	21,8 a A	4,0 a A	3,2 a A
CNFC 11962	13,1 a A	11,9 a A	2,9 a A	2,8 b A	22,7 a A	21,5 a A	3,8 a A	2,8 a A
CNFC 11966	14,5 a A	13,2 a A	2,6 a B	3,6 a A	25,0 a A	22,8 a A	3,1 b A	2,2 a A
CV (%)	25,07		17,76		13,02		23,17	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽²⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽³⁾Média das cultivares comerciais BRS Cometa, BRS Estilo, IPR Juriti e Pérola.

As produtividades médias das culturas de feijoeiro nos dois experimentos (1.634 e 1.728 kg ha⁻¹) podem ser consideradas satisfatórias quando comparadas com a produtividade média estadual da cultura que é de 877 kg ha⁻¹ (IBGE/CEPAGRO, 2010). Entretanto, este valor ainda fica abaixo daqueles observados por Farinelli (2006), que alcançaram valores acima de 5.000 kg ha⁻¹, em condições experimentais. Como indicado anteriormente, fatores climáticos desfavoráveis (altas temperaturas e excesso de chuvas) e doenças como a mela, que ocorreram durante as fases de enchimento de grãos (Figura 4.1), contribuíram para impedir a expressão máxima do potencial produtivo das linhagens testadas. As relações desses fatores com reduções de produtividade na cultura do feijoeiro são bem reportadas em trabalhos como os de Cardoso, Rava e Sartorato (1996), Didonet e Silva (2004), Fancelli e Dourado Neto (2007) e Portes (1996).

Quando se compara o efeito da inoculação e da adubação nitrogenada mineral, para cada linhagem, nos dois experimentos, as linhagens CNFC-10762 (2008) e CNFC-11946 (2009), apresentaram comportamentos opostos. Enquanto a primeira apresentou maior produtividade quando adubada com N-mineral, a segunda apresentou maior produtividade quando inoculada com *R. tropici*, indicando maior adaptação ao clima local e melhor interação planta-*Rhizobium*. Essa linhagem merece atenção especial e deve ser incluída em futuros trabalhos de melhoramento genético do feijoeiro voltados especificamente para avaliação da eficiência da FBN. A variabilidade de respostas entre cultivares de feijoeiro quanto à habilidade de fixar biologicamente o N já foi detectada desde os primeiros trabalhos realizados no Brasil (DOBEREINER; RUSCHEL, 1961; FRANCO; DOBEREINER, 1967). Entretanto, como relata PASQUALINI, (2008), os programas atuais de melhoramento do feijoeiro, selecionam as linhagens que respondem a adubação nitrogenada mineral.

Os demais materiais não apresentaram diferenças entre si quando foram inoculados ou adubados com N-mineral, o que corrobora os resultados obtidos por Araújo et al. (2007), Bassan et al. (2001) e Valadão et al. (2009). Esse fato deve ser considerado, pois, o preço de comercialização dos inoculantes é significativamente inferior ao dos adubos nitrogenados, podendo com isso reduzir os custos de produção e aumentar a receita líquida dos produtores (PELEGRIN et al., 2009). Além disso, evita-se o uso de fontes potencialmente poluidoras do ambiente como são os adubos nitrogenados quando usados inadequadamente.

Tabela 4.6 – Produtividade de grãos (kg ha⁻¹) de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial carioca, quando submetidos à inoculação com *Rhizobium tropici* e N-mineral, em duas safras. Dourados-MS. Experimento 1 (2008) e Experimento 2 (2009).

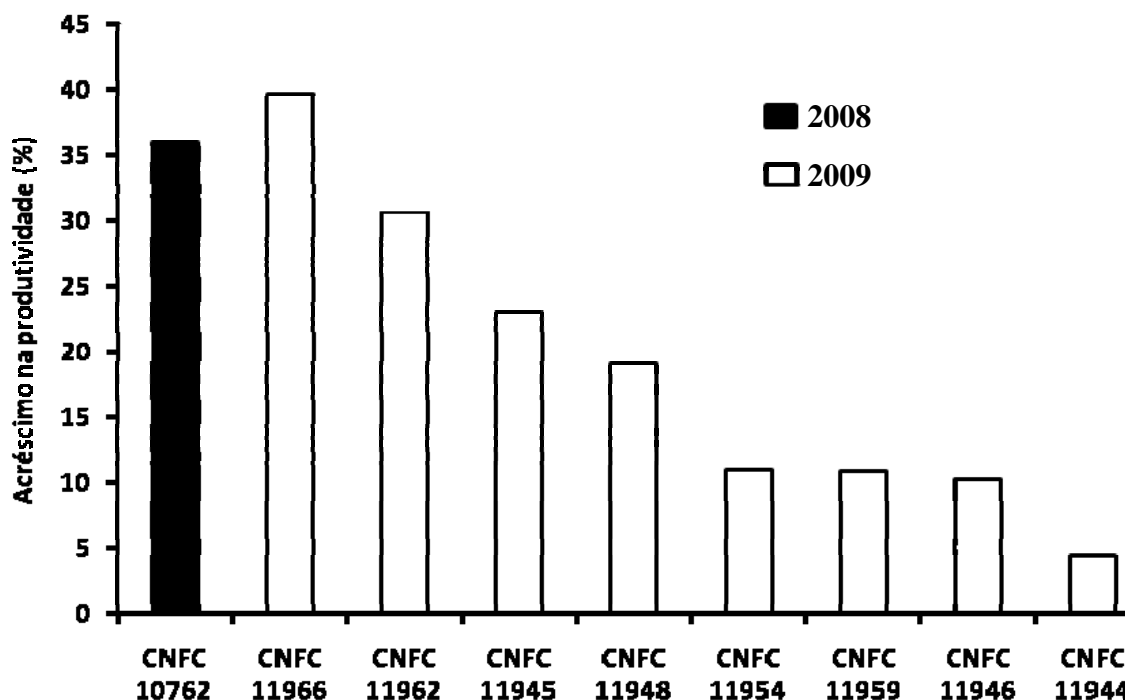
Linhagens	2008		Linhagens	2009	
	N-mineral ⁽¹⁾	Inoculado ⁽²⁾		N-mineral	Inoculado
Controle ⁽³⁾	1.854 b A	1.676 a A	Controle	1.597 b A	1.659 b A
CNFC 10703	1.548 c A	1.409 b A	CNFC 10429	1.508 b A	1.743 a A
CNFC 10713	1.847 b A	1.675 a A	CNFC 11944	1.668 a A	2.091 a A
CNFC 10716	1.474 c A	1.642 a A	CNFC 11945	1.964 a A	1.943 a A
CNFC 10721	1.861 b A	1.791 a A	CNFC 11946	1.760 a B	2.272 a A
CNFC 10729	1.679 c A	1.534 a A	CNFC 11948	1.902 a A	1.643 b A
CNFC 10733	1.350 c A	1.540 a A	CNFC 11951	1.326 b A	1.453 b A
CNFC 10742	1.524 c A	1.346 b A	CNFC 11952	1.545 b A	1.950 a A
CNFC 10753	1.657 c A	1.891 a A	CNFC 11953	1.220 b A	1.351 b A
CNFC 10757	1.493 c A	1.627 a A	CNFC 11954	1.772 a A	1.781 a A
CNFC 10758	1.510 c A	1.277 b A	CNFC 11956	1.009 b A	1.376 b A
CNFC 10762	2.521 a A	1.976 a B	CNFC 11959	1.770 a A	1.839 a A
CNFC 10763	1.958 b A	1.954 a A	CNFC 11962	2.087 a A	1.796 a A
CNFC 10813	1.229 c A	901 b A	CNFC 11966	2.230 a A	2.122 a A
CV(%)	17,56		CV(%)	16,82	

Médias seguidas de mesma letra minúsculas, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott e, maiúsculas, na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade, dentro de cada safra, respectivamente.

⁽¹⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽²⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽³⁾Média das cultivares BRS Estilo, BRS Cometa, IPR Juriti e Pérola.

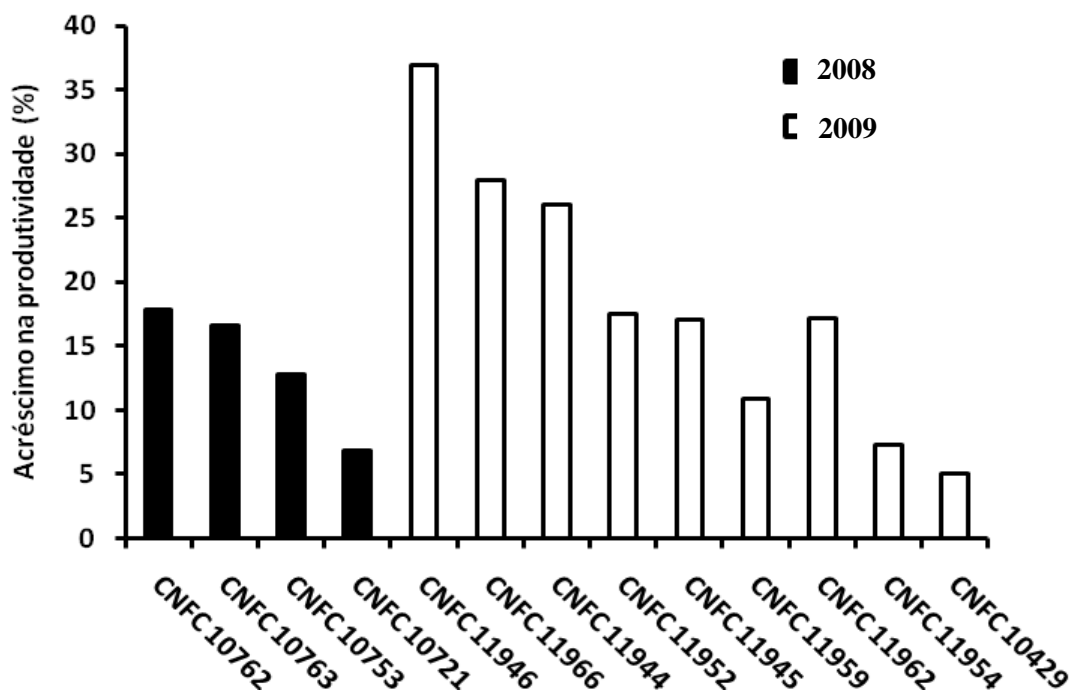
Numa avaliação global dos resultados obtidos para o tratamento com adubação nitrogenada mineral da cultura de feijoeiro, pode-se deduzir que as linhagens que apresentaram melhor desempenho agrônômico foram: CNFC 10762 no experimento 1 e as linhagens CNFC 11966, CNFC 11962, CNFC 11945, CNFC 11948, CNFC 11954, CNFC 11959, CNFC 11946 e CNFC 11944, no experimento 2. Todas produziram mais que o controle e os aumentos de produtividade variaram de 5 a 40% (Figura 4.2). Isso indica que estas linhagens apresentam potencial produtivo equivalente ou superior ao das cultivares comerciais, atualmente utilizadas pelos agricultores do Mato Grosso do Sul. Eventualmente estas linhagens poderão ser lançadas como novas cultivares para atender às necessidades dos agricultores que adotam a tecnologia da adubação nitrogenada mineral.

Figura 4.2 – Percentual médio de acréscimos de produtividade de diferentes linhagens de feijoeiro carioca em relação ao controle, representado pela média das cultivares comerciais cultivadas na região (BRS Estilo, BRS Cometa, IPR Juriti e Pérola), quando adubadas com 80 kg ha^{-1} de N mineral, nos experimentos realizados em 2008 e 2009. Dourados-MS.



Por outro lado, quando se analisam os acréscimos na produtividade (acima de 5%) das linhagens com a inoculação com *R. tropici* em comparação com o controle, observa-se comportamento diferente dos materiais avaliados, sendo que no experimento 1 (2008) se destacaram as linhagens CNFC 10762, CNFC 10763, CNFC 10753 e CNFC 10721, que produziram cerca de 18, 17, 13 e 7%, respectivamente, a mais que o controle, representado pela média das cultivares comerciais cultivadas na região. No experimento 2 (2009), as linhagens que sobressaíram foram: CNFC 11946, CNFC 11966, CNFC 11944, CNFC 11952, CNFC 11945, CNFC 11959, CNFC 11962, CNFC 11954 e CNFC 10429 que também produziram mais que o controle. Neste caso os acréscimos de produtividade foram de 37, 28, 26, 18, 17, 11, 17, 7,5 e 5% respectivamente (Figura 4.3).

Figura 4.3 – Percentual médio de acréscimos de produtividade de diferentes linhagens de feijoeiro carioca em relação ao controle, representado pela média das cultivares comerciais cultivadas na região (BRS Estilo, BRS Cometa, IPR Juriti e Pérola), quando inoculadas com *Rhizobium tropici* (CIAT 899), nos experimentos realizados em 2008 e 2009. Dourados-MS.



As linhagens que apresentaram desempenho superior, tanto para o caso da adoção da tecnologia da adubação nitrogenada mineral como para a inoculação com *R. tropici*, apresentam potencial para substituir as atuais cultivares comerciais, bastando apenas seguir as normas preconizadas para ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) para registro das novas cultivares de feijão junto ao Serviço de Proteção de Cultivares (SNPC), do Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento do Brasil, conforme descrição apresentada por Ribeiro et al. (2004).

4.6 CONCLUSÕES

Para a maioria das novas linhagens testadas não se observaram diferenças de produtividades entre a inoculação com *Rhizobium tropici* e a adubação com 80 kg ha⁻¹ de N.

A linhagem CNFC 11946 é mais produtiva quando inoculada com *Rhizobium tropici*, indicando a possibilidade de se eliminar a adubação nitrogenada em seu cultivo.

As linhagens que se destacaram em termos de produtividade somente com a inoculação com *Rhizobium tropici* deverão ser utilizadas em novos experimentos regionais para futura seleção regional de cultivares.

Entre as linhagens testadas, a CNFC 10762 foi a única que apresentou maior produtividade quando adubada com N mineral.

As cultivares que apresentaram produtividades maiores que o controle, possuem potencial para substituir a cultivares comerciais atualmente utilizadas na região.

5 ARTIGO C

**LINHAGENS DE FEIJOEIRO DO TIPO PRETO, SUBMETIDAS À INOCULAÇÃO
COM *Rhizobium tropici* E A ADUBAÇÃO NITROGENADA.**

LINHAGENS DE FEIJOEIRO DO TIPO PRETO, SUBMETIDAS À INOCULAÇÃO COM *Rhizobium tropici* E A ADUBAÇÃO NITROGENADA.

5.1 RESUMO

A fixação biológica de nitrogênio é um processo natural de substituição da adubação nitrogenada mineral que proporciona manutenção e às vezes aumentos de produtividades de espécies leguminosas proporcionando reduções dos custos de produção e o conseqüente aumento da receita líquida e do lucro dos produtores. O trabalho teve por objetivo avaliar as respostas de linhagens de feijoeiro do tipo preto submetidas à inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada. Para isso, dois experimentos (1 e 2) foram conduzidos em Dourados, MS nos anos agrícolas de 2008 e 2009. Os materiais estudados provieram do programa de melhoramento genético da Embrapa Arroz e Feijão e compunham os ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições em um esquema fatorial 2x11, em que os fatores foram 2 formas de fornecimento de nitrogênio (N-mineral e inoculação) e 11 cultivares de feijoeiro tipo preto (10 novas linhagens e o controle) para cada experimento, totalizando 21 linhagens estudadas.. Para o fornecimento de nitrogênio foi feita a inoculação das sementes com estirpes de *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) ou adubação nitrogenada utilizando a uréia como fonte de N. As produtividades das linhagens quando inoculadas com *R. tropici* foram semelhantes àqueles que receberam adubação com 80 kg ha⁻¹ de N, com exceção das linhagens CNFP 10793 e da CNFP 11994, que apresentaram maiores produtividades quando inoculado e adubação nitrogenada mineral, respectivamente.

Palavras – Chave: *Phaseolus vulgaris*. Fixação biológica de nitrogênio.
Produtividade de grãos. Genótipos.

BLACK BEAN LINES INOCULATED WITH *Rhizobium tropici* AND TREATED WITH NITROGENATED FERTILIZER.

5.2 ABSTRACT

BIOLOGICAL nitrogen fixation is a natural process for replacing N-mineral fertilizer for maintaining and, in some cases, increasing legume grain yields, decreasing production costs and increasing producer net income and profit. The aim of the study was to evaluate the responses of black bean lines to inoculation with *Rhizobium tropici* and mineral-N fertilization. Two experiments (1 and 2) were conducted in Dourados in the years 2008 and 2009. The materials were obtained from the breeding program of Embrapa Rice and Beans and tests comprised Value for Cultivation and Use (VCU). The experimental design was randomized blocks with three replications in a factorial 2x11, where the factors were two forms of nitrogen supply (N-mineral and inoculation) and 11 black bean cultivars (10 new lines and control) for each experiment, for a total of 20 strains studied . The supply of nitrogen was made through seeds inoculation with strains of *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) or N-mineral using urea as a source of N. The productivities of the strains

when inoculated with *R. tropici* were similar to those that were fertilized with 80 kg N ha⁻¹, with the exception of strains CNFP 10793 and CNFP 11994, which had higher yields when inoculated and mineral N fertilization, respectively.

Key – words: *Phaseolus vulgaris*. Biological nitrogen fixation. Grain yield. Genotypes.

5.3 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e consumidor de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do mundo (FAO, 2011), alimento básico e importante fonte de proteína da sua população. Nos grãos, os teores de proteína variam de 16,3 a 23,9%, dependendo da variedade, condições de cultivo, armazenamento e outros fatores (FARINELLI, 2006).

A cultura do feijoeiro, do ponto de vista socioeconômico, é muito importante para a nossa sociedade em razão do grande contingente de pequenos produtores que a cultiva e tem na exploração dessa leguminosa a única fonte de renda. Segundo a Comissão Técnica Sul-Brasileira de Feijão (2010) 60% da produção nacional é oriunda de áreas de exploração familiar.

O cultivo do feijoeiro no Brasil se dá em três épocas distintas de semeadura: “época das águas” ou primeira safra (agosto a novembro); “época da seca” ou segunda safra (janeiro a março) e “época de inverno” ou terceira safra (abril a julho), essa sob condições de irrigação (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007). Do total produzido anualmente, cerca de 63% é de feijão do tipo cor (grupo comercial cores) com destaque para o carioca, ao passo que o feijão do tipo preto responde por 18% e o caupi (macaçar) por 19%. O hábito alimentar diversificado entre as regiões brasileiras faz com que as preferências por tipos, variedades e classes sejam também diferenciados. O consumo do feijão preto é maior nos Estados do Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e, em menor escala, nos estados do Paraná, Santa Catarina e Espírito Santo (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2010).

A produtividade média nacional de 877 kg ha⁻¹ (IBGE/CEPAGRO, 2010), considerada muito baixa quando comparada com o potencial da cultura, pois em condições experimentais Farinelli (2006) já obteve produtividade de até 5.000 kg ha⁻¹. Para Coimbra et al. (2009), o desempenho produtivo do feijoeiro é altamente

influenciado pelas condições ambientais, o que resulta em produtividades instáveis ao longo dos anos, pois estas dependem diretamente da sensibilidade de cada genótipo às oscilações dos fatores ambientais. Bertoldo et al. (2009a) observaram que o ambiente é o componente fenotípico que mais interfere na produtividade do feijão preto. Nesse sentido, vários trabalhos têm procurado avaliar os efeitos da interação genótipo x ambiente, bem como os melhores métodos de avaliação desta interação (COIMBRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2004; ROCHA et al., 2010).

Dentre os fatores que podem incrementar a produtividade do feijoeiro, destaca-se o melhoramento genético para seleção de cultivares adaptados ao ambiente de cultivo (ZIMMERMANN et al., 1996). Para Coelho et al. (2010), a utilização de variedades melhoradas é uma exigência atual que visa atender as necessidades de aumento de produção de alimentos.

Na região centro sul do Brasil, maior produtora de feijão preto, há diferentes instituições que desenvolvem programas de melhoramento específicos para esse grupo de feijoeiro e que já selecionaram e recomendam cultivares ou variedades específicas para a região (COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO, 2010).

Apesar das cultivares modernas apresentarem alto potencial produtivo, fatores associados aos sistemas de produção adotados pelos agricultores têm sido apontados como a causa das baixas produtividades observadas na cultura do feijão. Dentre estes destaca-se o manejo da adubação nitrogenada, pois de acordo com Fancelli e Dourado Neto (2007), o nitrogênio é o nutriente que é exigido em maiores quantidades pela cultura do feijoeiro.

Vários trabalhos relatam o efeito positivo da adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro, destacando a aplicação em cobertura (GOMES JUNIOR et al., 2005; LEMOS et al., 2003), a adubação nitrogenada em culturas irrigadas (BARBOSA FILHO; FAGERIA; SILVA, 2001) ou em plantio direto (BINOTTI et al., 2010) ou ainda na safra das águas (ANDREOTTI et al., 2005). Além disso, a adubação nitrogenada pode melhorar a qualidade do produto colhido aumentando os teores de proteína nos grãos (GOMES JUNIOR et al., 2005). Por outro lado, o uso descontrolado dos fertilizantes nitrogenados pode resultar em problemas ambientais como poluição das águas de reservatórios, mananciais e do lençol freático (RESENDE, 2002).

Outras considerações que devem ser feitas com relação aos adubos nitrogenados estão relacionadas aos processos de fabricação dos mesmos que são dependentes de energia de derivados do petróleo e quando aplicados ao solo se perdem com grande facilidade, o que diminui a sua eficiência (CANTARELLA, 2007) e acaba por onerar os custos das adubações.

Por ser uma leguminosa, o feijoeiro pode entrar em simbiose com microrganismos presentes no solo e assim, conseguir mediante a fixação biológica, aproveitar do N atmosférico (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006) suprimindo total ou parcialmente a demanda da cultura.

As respostas do feijoeiro à fixação biológica do nitrogênio (FBN) são muito variáveis, uma vez que os fatores limitantes podem estar relacionados à planta, ao rizóbio (bactéria simbiote) e ao ambiente ou a interação entre eles. Entre os fatores ambientais destacam-se estresse hídrico (MNASRI; AOUANI; MHAMDI, 2007; MORAES et al., 2010), a temperatura do solo (MERCANTE, 1993; PINTO et al., 1998), a acidez do solo e a disponibilidade de nutrientes como o fósforo, cobalto, molibdênio e do próprio nitrogênio (CAMPANHARO et al., 2010; FRANCO; DOBEREINER, 1988; KUBOTA et al., 2008; PESSOA et al., 2001).

Quanto ao rizóbio, atualmente três espécies são reconhecidas por infectar e formar nódulos eficientes em feijoeiro: *Rhizobium tropici* (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991), *R. etli* (SEGOVIA; YOUNG; MARTÍNEZ-ROMERO, 1993) e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (JORDAN, 1984). Em razão da sua maior estabilidade genética, os pesquisadores brasileiros reunidos na VI Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* de 1994, decidiram pela recomendação de uso exclusivo da espécie *R. tropici* para produção de inoculantes comerciais para feijoeiro (HUNGRIA; ARAÚJO, 1995).

Quanto aos fatores associados à planta, pode-se dizer que o feijoeiro é considerado hospedeiro promíscuo com relação ao rizóbio, uma vez que muitas espécies podem se associar simbioticamente com as raízes das plantas e não contribuir eficientemente para a FBN.

Já foi observado que as cultivares de ciclo curto tendem a apresentar menor capacidade de fixar N (DUQUE et al., 1985) uma vez que o declínio da FBN ocorre próximo ao florescimento, época em que as plantas mais necessitam do elemento. Graham e Rosas (1977) verificaram que as cultivares trepadoras de ciclo de cultivo mais longo apresentam maior nodulação e maior

capacidade fixadora do que aquelas de crescimento arbustivo e determinado, de ciclo mais curto. Além disso, tem que se considerar também a possível resposta diferenciada dos grupos comerciais de feijão. Stralio et al. (2002), comparando diferentes linhagens de feijoeiro dos grupos comerciais jalo, roxo/rosinha, mulatinho, iraiá, carioca e preto, submetidos à adubação nitrogenada e à inoculação, observaram que os grupos jalo e iraiá, não apresentaram diferenças de produção de grãos. Nos grupos roxo/rosinha, mulatinho, carioca e preto a produção foi maior quando adubados com N mineral. Aproveitando estes resultados Souza, Stralio e Teixeira (2004), selecionaram linhagens que sobressaíram entre aquelas do grupo jalo e submeteram a uma nova avaliação sob inoculação com estirpes de *Rhizobium tropici* IIB, *R. tropici* IIA, *R. etli* e *Sinorhizobium* sp.. Os resultados não confirmaram os bons desempenhos verificados anteriormente.

Segundo Hungria, Joseph e Phillips (1991), as trocas de sinais moleculares entre a planta hospedeira e o microrganismo simbiote nas primeiras etapas da nodulação se dá pela exsudação de indutores dos genes da nodulação (genes *nod*) do rizóbio pela planta, cujos compostos são identificados como flavonóides, que por sua vez, estão associados à cor do tegumento do grão. Nesse sentido, Araújo, Munhoz e Hungria (1996) observaram que os exsudatos de cultivares com tegumento de cor bege (carioca) apresentaram maior atividade de indução dos genes *nod*, enquanto que as cultivares de grãos preto apresentaram os menores valores. Esses autores observaram também que as cultivares de grãos com tegumento de coloração bege (carioca) ou amarela (jalo) apresentavam maior potencial de nodulação nas raízes secundárias do que aqueles do grupo preto.

Além de todos os fatores comentados anteriormente, tem-se que destacar ainda que os programas de melhoramento genético do feijoeiro no Brasil têm priorizado a seleção de materiais que respondem à adubação nitrogenada e que na maioria dos trabalhos que foram realizados visando à seleção de novas linhagens e cultivares de feijoeiro adaptadas às diferentes regiões do país, os pesquisadores utilizaram a adubação nitrogenada como forma de fornecimento do nitrogênio (BERTOLDO et al., 2009b; ELIAS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2004; ROCHA et al., 2010), limitando ou mesmo impedindo a seleção de genótipos eficientes quanto à FBN.

Como se observa, a superação das limitações que envolvem a FBN em feijoeiro passa pela caracterização dos fatores envolvidos, bem como por uma

boa compreensão de todas das etapas que envolvem as interações entres os mesmos. Só assim será possível obter e selecionar materiais que sejam eficientes na FBN e que possam contribuir para a expansão do cultivo, com o aumento da produção de feijão no Brasil.

Diante do exposto, o trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar as respostas de linhagens de feijoeiro do tipo preto à inoculação com *Rhizobium tropici* e à adubação nitrogenada.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os dois experimentos que fazem parte deste estudo foram conduzidos nas safras 2008 (Experimento 1) e 2009 (Experimento 2), no município de Dourados-MS (22°16'S, 54° 49'W, 408 m). O experimento 1 foi implantado na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, enquanto que o experimento 2 foi instalado na área experimental da Faculdades Anhanguera de Dourados (FAD), ambos em áreas com Latossolo Vermelho distroférico. Os resultados das análises químicas dos solos encontram-se na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Características químicas do solo das áreas experimentais¹.

Experimento	pH	M.O.	P (Mehlich-1)	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K	V
	(água)	g kg ⁻¹	mg dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³ -----				%
1	5,9	32,7	12,3	0,0	7,1	2,7	0,82	69
2	6,0	21,7	3,7	0,0	3,7	1,3	0,38	58

As adubações de semeadura para fósforo e potássio seguindo as recomendações técnicas para a cultura do feijão com base nos resultados das análises químicas dos solos das áreas de instalação dos experimentos e consistiu na aplicação de 300 kg ha⁻¹ do formulado 00-20-20. A adubação nitrogenada (N-mineral), nos tratamentos em que não houve inoculação, constou da dose de 80 kg ha⁻¹ de N, sendo 40 kg ha⁻¹ na semeadura e 40 kg ha⁻¹ em cobertura, 30 dias após a germinação, utilizando a uréia como fonte de N.

¹ Análises realizadas no laboratório da Embrapa Agropecuária Oeste, seguindo as metodologias descritas em Machado (2005).

No experimento 1, realizado na Embrapa Agropecuária Oeste, a área utilizada foi ocupada anteriormente com a cultura do milho e no experimento 2, realizado na FAD, utilizou-se uma área que estava em pousio (várias plantas espontâneas, com predomínio de *Brachiaria brizantha*). No experimento 1 foi feita a semeadura direta na palha, enquanto na segunda adotou-se o sistema convencional com preparo do solo, através de uma aração e duas gradagens. Nos dois experimentos adotou-se a distribuição manual de 15 sementes por metro linear em sulcos que foram abertos com espaçamento de 0,50 m entre sulcos. A parcela experimental constou de seis linhas, com quatro metros de comprimento, das quais duas foram utilizadas para avaliação da produtividade e uma para avaliação de nodulação seguindo a metodologia semelhante àquela proposta por Cardoso et al. (2009). Neste caso a avaliação foi realizada entre 40 e 45 dias após a emergência (DAE). No experimento 1 a semeadura ocorreu no mês de setembro de 2008 e no experimento 2 a semeadura foi feita no mês de outubro de 2009.

Antes de cada semeadura, as sementes foram inoculadas com as estirpes de *R. tropici* CIAT 899 (SEMIA 4077) recomendada comercialmente para o feijoeiro no Brasil, utilizando um inoculante preparado com uma densidade média de 10^9 células g^{-1} de turfa. O inoculante foi aplicado às sementes na proporção de 500g para 50 kg de sementes, acrescentando-se 300 mL de solução açucarada a 10% (massa/volume), visando aumentar a aderência do mesmo à superfície das sementes (Pelegri et al., 2009).

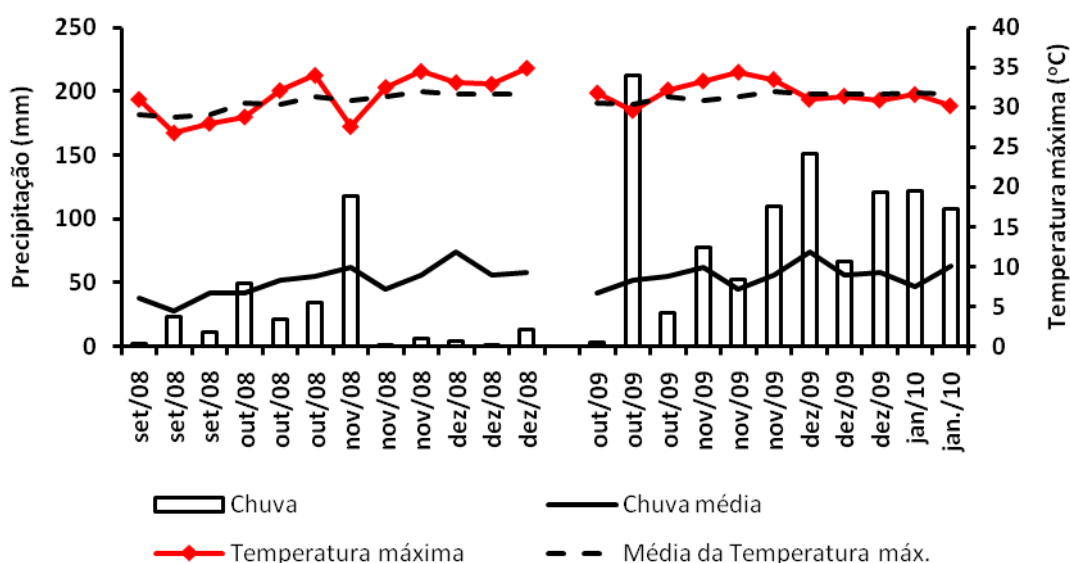
O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos testados, em cada experimento (1 e 2), resultaram de um arranjo fatorial de 2×11 , sendo que os fatores foram duas formas de fornecimento de nitrogênio (adubação nitrogenada mineral e inoculação com *Rhizobium tropici*) e diferentes linhagens de feijoeiro que foram provenientes do programa de melhoramento genético de feijoeiro da Embrapa Arroz e Feijão, através dos ensaios de VCU (Valor de Cultivo e Uso). Com o objetivo de ampliar as linhagens estudadas, utilizou-se os materiais dos ensaios VCU de 2008 e de 2009, o que totalizou 20 novas linhagens e o controle (médias das variedades BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo). Dessa forma, em cada experimento avaliou-se 11 materiais, sendo 10 novas linhagens e o controle. As linhagens avaliadas em cada experimento foram:

Experimento 1 (2008) – CNFP 10025, CNFP 10214, CNFP 10221, CNFP 10793, CNFP 10794, CNFP 10799, CNFP 10800, CNFP 10805, CNFP 10806 e CNFP 10807.

Experimento 2 (2009) – CNFP 11973, CNFP 11976, CNFP 11978, CNFP 11979, CNFP 11983, CNFP 11984, CNFP 11852, CNFP 11991, CNFP 11994 e CNFP 11995.

Os dados sobre as variações de temperatura e precipitações pluviométricas ocorridas durante o período experimental encontram-se na Figura 5.1 (CPAO, 2011).

Figura 5.1 – Variações das temperaturas máximas e distribuição das chuvas por decêndios durante o período experimental nos anos 2008 e 2009. Dourados-MS. Fonte: Estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO, 2011).



Para avaliar os efeitos dos tratamentos testados foram realizadas as seguintes avaliações: número de nódulos, produção de massa seca de nódulos (secagem em estufa a 50 °C, até peso constante), produção de massa seca de parte aérea (secagem em estufa a 50° C, até peso constante), teor de N na massa seca da parte aérea (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997), teor de N na massa seca de grãos (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997), número de vagem por planta, número de grãos por vagem e produtividade (corrigido a 13% de umidade).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com desdobramento das interações (Barbin, 2003), e as médias quando necessário foram comparadas pelos testes F e de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número e a massa seca de nódulos obtidos neste estudo (Tabelas 5.2 e 5.4), ficaram abaixo daqueles apresentados por Valadão et al. (2009), que foram de 90,5 nódulos e de 63 mg de massa seca de nódulos por plantas no tratamento com inoculação com *R. tropici*. Estas diferenças de valores podem estar associadas às metodologias de coleta utilizadas. Neste estudo os nódulos foram coletados na região da coroa das raízes, como aqueles realizados por Cardoso et al. (2009). Além disso, deve-se considerar as variações de clima como altas temperaturas e o estresse hídrico que ocorreram durante a fase experimental (Figura 1). De acordo com Fernandes Junior e Reis, (2008) e com Pessoa et al. (2001) variações no fatores climáticos podem reduzir o ciclo da cultura e reduzir o número e massa de nódulos. Outro fator que merece destaque são as características do feijoeiro do grupo preto que apresentam menor potencial de nodulação, quando comparados com outros grupos, por exemplo, bege ou amarela (ARAÚJO; MUNHOZ; HUNGRIA, 1996).

No experimento 1 (2008) houve nodulação significativa das plantas adubadas com nitrogênio, com destaque para as linhagens CNFP 10025 e CNFP 10221 (Tabela 5.2). Este fato merece destaque, uma vez que a literatura é rica na apresentação de resultados que apontam na direção contrária, ou seja, a adubação com N teria um efeito restritivo à nodulação, reduzindo o número e a eficiência dos nódulos formados, como indicam os trabalhos de Araújo et al. (2007), Ferreira et al. (2000) e Soares et al. (2006) porém, em todos esses, havia a presença de nódulos nos tratamentos com N, mesmo que em números reduzidos, pela presença de estirpes nativas, o que pode ter sido o caso desse trabalho. Por outro lado, Mercante e Franco (2000) também verificaram nodulação em feijoeiro, mesmo na presença de N-mineral, porém quando associado a exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa*.

No experimento 2 (2009), as linhagens CNFP 11985, CNFP 11976, CNFP 11991, CNFP 11995, CNFP 11979 e CNFP 11984 (Tabela 5.4) apresentaram maior número de nódulos no tratamento em que houve a inoculação, se

assemelhando aos resultados observados por Araújo et al. (2007) e Pelegrin et al. (2009).

De modo geral os resultados para massa seca de nódulos, se assemelharam com aqueles obtidos para o número de nódulos, no experimento 1 (2008) a linhagem CNFP 10221 (Tabela 5.2) apresentou maior massa de nódulos quando cultivada em área que recebeu adubação nitrogenada o que deve estar associado à presença de estirpes nativas de rizóbios, da forma como explicado anteriormente. No experimento 2 (2009), confirmado a normalidade da ocorrência de nodulação somente nos tratamentos com inoculação ocorreram as maiores produções de massa seca para nódulos (Tabela 5.4). Nesta situação destacaram as linhagens CNFP 11979, CNFP 11984, CNFP 11976, CNFP 11985 e CNFP 11991, por produzirem massa de nódulos muito maiores, diferindo das demais.

Quando se observa a massa seca de parte aérea, verifica-se que não houve diferenças entre a inoculação ou N-mineral (Tabelas 5.2 e 5.4), o que corrobora com as observações verificadas por Ferreira et al. (2000), e nem entre as linhagens dentro de cada tratamento. Campanharo et al. (2010) acreditam que a nodulação não influencia nas características de desenvolvimento das plantas e citam trabalho de Brose (1994) que não observou correlação entre a matéria fresca de nódulos com a produção de matéria seca de parte aérea.

Os teores de N na parte aérea e nos grãos (Tabelas 5.2, 5.3, 5.4 e 5.5), que variaram de 2,9 a 4,9 %, e de 3,1 a 5,6% respectivamente, podem ser considerados satisfatórios de acordo com as indicações de Fancelli e Dourado Neto (2007) e Pessoa et al. (1996), entretanto, deve-se destacar que nos dois experimentos avaliados a maioria das linhagens avaliadas apresentaram os maiores teores de N na massa seca da parte aérea no tratamento correspondente à adubação nitrogenada diferindo dos resultados obtidos por Araújo et al. (2007), Ferreira et al. (2000) e Lemos et al. (2003) que não verificaram estas diferenças.

Para o número de vagens por planta (Tabelas 5.3 e 5.5), em ambos os experimentos, não se observaram diferenças entre a inoculação e a adubação nitrogenada, o que corrobora com observações feitas por Araújo et al. (2007). Para esses autores, a explicação está no fato de que este componente de produção apresenta alta herdabilidade genética, estando intrinsecamente ligados à característica da cultivar.

Avaliando os resultados para número de grãos por vagem, a única diferença significativa observada ocorreu entre a inoculação e a adubação nitrogenada para a linhagem CNFP 10800 e no experimento 1 (Tabela 5.3), quando o valor obtido para o tratamento com adubação nitrogenada foi maior que aquele obtido com a inoculação. Este fato pode ser atribuído a um possível efeito de compensação em razão de uma pequena diferença que ocorreu para o número de vagens por planta desta linhagem na situação considerada. De maneira geral, o número de grãos por vagem observados em 2009 foram ligeiramente inferior aos obtidos em 2008, além das diferenças genéticas dos materiais, em 2009 ocorreram períodos de altas temperaturas e umidade o que favoreceu a ocorrência generalizada de mela ou murcha da teia micélica, que em caso de infecção precoce, geram grãos mal formados (CARDOSO; RAVA; SARTORATO, 1996). Em trabalho realizado por Didonet e Silva (2004), os autores observaram que a ocorrência de períodos de altas temperaturas entre a floração ao início da fase de enchimento de grãos aumentou a massa da parte aérea mas diminuiu o número e a massas de grãos secos.

Apesar de não ter ocorrido diferença entre a inoculação e a adubação nitrogenada para a massa de 100 grãos (Tabelas 5.3 e 5.5), as variações entre os valores obtidos é um indicativo da variabilidade genética dos materiais. Este resultado difere daquele obtido por Coelho et al. (2010) que observaram que a massa de 100 grãos foi a característica que apresentou a maior contribuição para o estudo da divergência genética entre genótipos, apresentando elevado poder discriminador, provavelmente por ser um caráter de herança qualitativa, pouco influenciado pelo ambiente e controlado por poucos genes (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMAN, 1993).

Dentre as linhagens que receberam a inoculação destacaram a CNFP 10793 e a CNFP 10794, em 2008 e as linhagens CNFP 11995 e CNFP 11976 em 2009.

Entre aquelas que receberam adubação nitrogenada se destacaram as linhagens CNFP 10793 e CNFP 10794, em 2008 e as linhagens CNFP-11995, o controle, CNFP-11976, CNFP-11979, CNFP-11994, CNFP-11985 e CNFP 11991, em 2009.

Tabela 5.2 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com *Rhizobium tropici* das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores agrônômicos. Dourados-MS, 2008. Experimento 1.

Linhagens	⁽¹⁾ Número de nódulos por planta		⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg pl ⁻¹)		Massa seca de parte aérea (g pl ⁻¹)		Nitrogênio na parte aérea (%)	
	Adubação ⁽²⁾	Inoculação ⁽³⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽⁴⁾	2,6 b A	2,1 a A	1,4 a A	0,8 a A	16,0 a A	13,4 a A	4,3 b A	3,7 a B
CNFP 10025	8,3 a A	0,5 a B	1,1 a A	0,3 a A	13,5 a A	12,6 a A	4,4 b A	3,4 a B
CNFP 10214	3,8 b A	2,2 a A	1,4 a A	1,1 a A	14,3 a A	13,0 a A	4,0 b A	3,4 a B
CNFP 10221	3,2 b A	0,0 a B	3,4 a A	0,0 a B	15,4 a A	15,6 a A	4,9 a A	3,8 a B
CNFP 10793	2,1 c A	1,9 a A	1,0 a A	0,5 a A	16,9 a A	15,1 a A	3,9 b A	3,6 a A
CNFP 10794	2,2 c A	1,2 a A	1,5 a A	0,3 a A	10,6 a A	15,1 a A	4,0 b A	3,5 a A
CNFP 10799	0,0 c A	0,0 a A	0,0 b A	0,0 a A	15,7 a A	17,3 a A	4,2 b A	3,9 a A
CNFP 10800	0,0 c A	1,5 a A	0,0 b A	0,8 a A	13,2 a A	13,8 a A	4,8 a A	3,8 a B
CNFP 10805	0,0 c A	0,1 a A	0,0 b A	0,9 a A	15,5 a A	13,6 a A	4,4 b A	3,5 a B
CNFP 10806	0,1 c A	0,1 a A	0,6 b A	0,1 a A	14,7 a A	12,5 a A	4,1 b A	3,5 a B
CNFP 10807	0,0 c A	0,0 a A	0,0 b A	0,0 a A	15,9 a A	13,1 a A	4,1 b A	3,5 a B
CV (%)	33,65		25,50		25,84		7,12	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

⁽¹⁾Dados originais, médias transformadas $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística; ⁽²⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽³⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽⁴⁾Média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo

Tabela 5.3 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com *Rhizobium tropici* das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores de produção. Dourados-MS, 2008. Experimento 1.

Linhagens	Número de vagem por planta		Número de grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)		Nitrogênio no grão(%)	
	Adubação ⁽¹⁾	Inoculação ⁽²⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽³⁾	9,3 a A	10,2 a A	4,3 a A	4,4 a A	21,1 b A	20,9 b A	3,9 a A	4,1 a A
CNFP 10025	11,3 a A	12,2 a A	4,5 a A	4,0 a A	15,1 d A	15,1 d A	3,1 a A	3,7 a A
CNFP 10214	9,7 a A	11,1 a A	4,3 a A	4,1 a A	21,6 b A	21,3 b A	4,0 a A	4,0 a A
CNFP 10221	7,5 a A	11,7 a A	4,5 a A	5,1 a A	16,3 d A	16,3 d A	4,0 a A	3,9 a A
CNFP 10793	10,7 a A	11,9 a A	3,9 a A	3,9 a A	23,9 a A	25,3 a A	3,4 a A	4,1 a A
CNFP 10794	8,9 a A	10,1 a A	4,1 a A	4,0 a A	23,1 a A	23,7 a A	4,0 a A	3,8 a A
CNFP 10799	8,8 a A	9,1 a A	4,3 a A	4,6 a A	19,4 c A	18,7 c A	3,9 a A	4,7 a A
CNFP 10800	9,0 a A	11,3 a A	4,8 a A	4,0 a B	18,9 c A	17,2 d A	4,0 a A	4,5 a A
CNFP 10805	9,7 a A	8,2 a A	4,6 a A	4,2 a A	17,5 c A	18,2 c A	4,2 a A	4,4 a A
CNFP 10806	11,0 a A	11,9 a A	4,6 a A	4,4 a A	17,7 c A	16,9 d A	4,0 a A	3,7 a A
CNFP 10807	10,1 a A	12,3 a A	4,0 a A	4,3 a A	20,5 b A	19,7 c A	3,8 a A	4,1 a A
CV (%)	29,26		11,01		5,45		17,64	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

⁽¹⁾ 80 kg ha⁻¹ de N (40 kg.ha⁻¹ no plantio e 40 kg.ha⁻¹ em cobertura); ⁽²⁾ CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽³⁾ Média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo

Tabela 5.4 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com *Rhizobium tropici* das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores agronômicos. Dourados-MS, 2009. Experimento 2.

Linhagens	⁽¹⁾ Número de nódulos/planta		⁽¹⁾ Massa seca de nódulos (mg pl ⁻¹)		Massa seca de parte aérea (g pl ⁻¹)		Nitrogênio na parte aérea (%)	
	Adubação ⁽²⁾	Inoculação ⁽³⁾	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽⁴⁾	1,4 a A	9,7 b A	1,6 a A	48,6 b A	12,8 a A	7,8 a B	4,0 a A	3,2 a B
CNFP 11973	0,0 a A	0,0 b A	0,0 a A	0,0 b A	12,5 a A	11,5 a A	3,9 a A	3,5 a A
CNFP 11976	0,2 a B	16,1 a A	0,1 a B	175,4 a A	11,6 a A	10,5 a A	3,2 a A	3,6 a A
CNFP 11978	3,6 a A	9,6 b A	4,2 a A	16,4 b A	11,6 a A	7,5 a A	4,0 a A	2,9 a B
CNFP 11979	0,0 a B	16,4 a A	0,0 a B	183,6 a A	9,7 a A	7,3 a A	4,1 a A	3,3 a B
CNFP 11983	0,5 a A	6,2 b A	0,7 a A	13,1 b A	10,1 a A	6,7 a A	4,0 a A	3,1 a B
CNFP 11984	0,0 a B	10,8 b A	0,0 a B	118,1 a A	9,2 a A	11,7 a A	4,1 a A	3,2 a B
CNFP 11985	0,0 a B	25,9 a A	0,0 a B	31,9 b A	9,5 a A	8,7 a A	3,7 a A	3,3 a A
CNFP 11991	0,0 a B	15,7 a A	0,0 a B	37,5 b A	11,3 a A	7,6 a A	3,7 a A	3,4 a A
CNFP 11994	0,0 a A	7,6 b A	0,0 a A	13,5 b A	10,9 a A	6,0 a A	4,2 a A	3,5 a B
CNFP 11995	0,0 a B	11,1 a A	0,0 a A	24,6 b A	11,9 a A	9,1 a A	4,1 a A	3,2 a B
CV (%)	45,48		71,71		28,37		11,64	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

⁽¹⁾Dados originais, médias transformadas $(x+1)^{1/2}$ para análise estatística; ⁽²⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽³⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽⁴⁾Média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo.

Tabela 5.5 – Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com *Rhizobium tropici* das sementes de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto sobre diferentes fatores de produção. Dourados-MS, 2009. Experimento 2.

Linhagens	Número de vagem por planta		Número de grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)		Nitrogênio no grão (%)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
Controle ⁽³⁾	10,8 a A	11,9 a A	3,0 a A	3,4 a A	19,5 a A	18,5 b A	4,8 a A	4,3 a A
CNFP 11973	8,9 a A	12,8 a A	2,8 a A	3,4 a A	16,9 b A	18,2 b A	4,9 a A	3,5 a B
CNFP 11976	11,1 a A	11,9 a A	3,2 a A	3,6 a A	19,1 a A	21,7 a A	5,3 a A	4,5 a A
CNFP 11978	10,1 a A	6,8 b A	2,4 a A	3,3 a A	15,5 b A	16,2 b A	4,9 a A	4,7 a A
CNFP 11979	5,3 a A	6,2 b A	2,7 a A	2,6 a A	18,4 a A	15,0 b A	5,4 a A	4,8 a A
CNFP 11983	11,5 a A	11,1 a A	4,2 a A	3,3 a A	15,1 b A	17,0 b A	5,0 a A	4,5 a A
CNFP 11984	10,7 a A	11,3 a A	2,9 a A	2,7 a A	16,0 b A	16,4 b A	5,2 a A	4,2 a A
CNFP 11985	11,2 a A	9,3 b A	3,4 a A	3,2 a A	18,2 a A	15,3 b A	4,8 a A	3,7 a A
CNFP 11991	11,9 a A	9,3 b A	2,9 a A	3,5 a A	17,8 a A	17,6 b A	5,0 a A	4,0 a A
CNFP 11994	8,1 a A	7,3 b A	2,2 a A	2,6 a A	18,3 a A	15,8 b A	5,6 a A	4,4 a B
CNFP 11995	11,8 a A	12,8 a A	2,6 a A	2,8 a A	21,3 a A	22,3 a A	5,0 a A	4,9 a A
CV (%)	28,23		22,11		12,03		14,52	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, maiúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

⁽¹⁾80 kg ha⁻¹ de N (40 kg no plantio e 40 kg em cobertura); ⁽²⁾CIAT 899 (SEMIA 4077); ⁽³⁾Média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo

Diferenças de produtividade (Tabela 5.6) entre a inoculação com *R. tropici* e a adubação nitrogenada só foram observadas para as linhagens CNFP-10025 e CNFP-10806 que apresentaram maiores produtividades quando adubadas com N. Entretanto dentro de cada tratamento nos dois experimentos avaliados, observa-se que só ocorreram distinção entre as linhagens quando se utilizou a inoculação com *R. tropici*. Nesta situação as linhagens que apresentaram as maiores produtividades foram: CNFP-10793, CNFP-10805, CNFP-10794 e CNFP-10806 que superaram o controle no experimento 1 e as linhagens CNFP-11973, CNFP-11976, CNFP-11983, CNFP-11984, CNFP-11852, CNFP-11991 e CNFP-11995 no experimento 2. Mas neste caso não diferiram do controle.

Tabela 5.6 – Produtividade de grãos de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo comercial preto, quando submetidos à inoculação com *Rhizobium tropici* e N-mineral. Dourados-MS.

Linhagens	2008		Linhagens	2009	
	Adubação ⁽¹⁾	Inoculação ⁽²⁾		Adubação	Inoculação
Controle ⁽³⁾	1.932 a A	1.832 b A	Controle	1.283 a A	1.624 a A
CNFP 10025	2.140 a A	1.632 b B	CNFP 11973	1.261 a A	1.164 a A
CNFP 10214	1.817 a A	1.995 b A	CNFP 11976	1.417 a A	1.352 a A
CNFP 10221	2.018 a A	1.782 b A	CNFP 11978	1.048 a A	792 b A
CNFP 10793	1.801 a B	2.466 a A	CNFP 11979	1.276 a A	841 b A
CNFP 10794	2.361 a A	2.219 a A	CNFP 11983	1.386 a A	1.479 a A
CNFP 10799	1.924 a A	1.969 b A	CNFP 11984	1.465 a A	1.184 a A
CNFP 10800	1.781 a A	1.936 b A	CNFP 11985	1.238 a A	1.184 a A
CNFP 10805	2.173 a A	2.244 a A	CNFP 11991	1.329 a A	1.344 a A
CNFP 10806	1.991 a A	2.093 a A	CNFP 11994	1.454 a A	713 b B
CNFP 10807	1.756 a A	1.704 b A	CNFP 11995	1.186 a A	1.258 a A
CV(%)	12,59		CV(%)	26,68	

Dentro de cada experimento, médias seguidas de mesma letra minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott e, por letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade. ⁽¹⁾40 kg ha⁻¹ de N no plantio e 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura; ⁽²⁾CIAT 899 (SEMIA4077); ⁽³⁾Média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo.

As produtividades médias observadas neste trabalho, nas duas safras, (Tabela 5.6), apesar de estar abaixo do potencial produtivo da cultura de feijão, podem ser consideradas satisfatórias quando comparadas com a produtividade média do estado do Mato Grosso do Sul que é de 877 kg ha⁻¹ (IBGE/CEPAGRO, 2010).

Fatores climáticos adversos ocorridos durante o período experimental (Figura 5.1) como a falta de chuva e altas temperaturas na fase de enchimento de grãos, no experimento 1, e as altas temperaturas e os excessos de

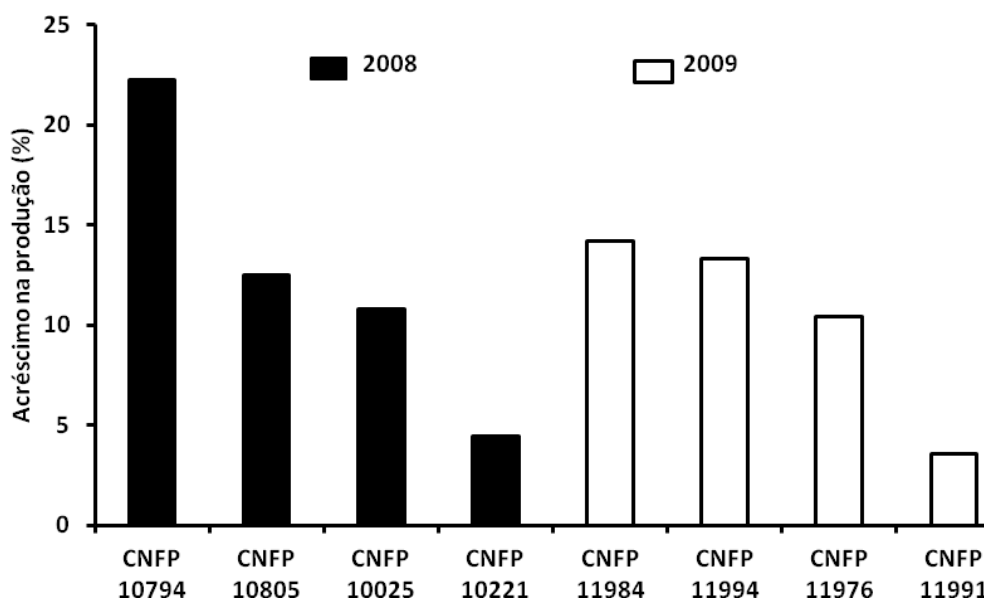
chuvas ocorridos durante o florescimento e fase final de cultivo, no experimento 2, influenciaram de forma direta contribuindo para os valores de produtividade observados. De acordo com Bertoldo et al. (2009a), o ambiente é o fator que apresenta maior influencia no dimensionamento da produtividade do feijoeiro. As relações desses fatores climáticos que fundamentam o exposto estão bem reportados em Cardoso, Rava e Sartorato (1996), Didonet e Silva (2004), Fancelli e Dourado Neto (2007) e Portes (1996).

Em testes locais ou regionais para seleção e recomendação de novas cultivares são feitas comparações entre as novas linhagens e as variedades ou cultivares utilizadas pelos agricultores com o objetivo de indicar os materiais mais adaptados às características edafoclimáticas daqueles locais ou regiões.

Considerando este tipo de avaliação foram elaboradas as Figuras 5.2 e 5.3 considerando apenas as diferenças de produtividades entre o controle, representada pela média das quatro principais variedades de feijão preto cultivadas na região, e as linhagens que se destacaram neste estudo, tanto nas avaliações com inoculação com *R. tropici* quanto nas avaliações para adubação nitrogenada.

Quando se utilizou a adubação nitrogenada (Figura 5.2), situação semelhante à utilizada atualmente nos testes de VCU (Valor de Cultivo e Uso) para o feijoeiro no Brasil destacaram-se as linhagens CNFP 10794 (22,2%), CNFP 11984 (14,2%), CNFP 11994 (13,3%), CNFP 10805 (12,5%), CNFP 10025 (10,8%), CNFP 11976 (10,4%), CNFP 10221 (4,5%) e CNFP 11991 (3,6%).

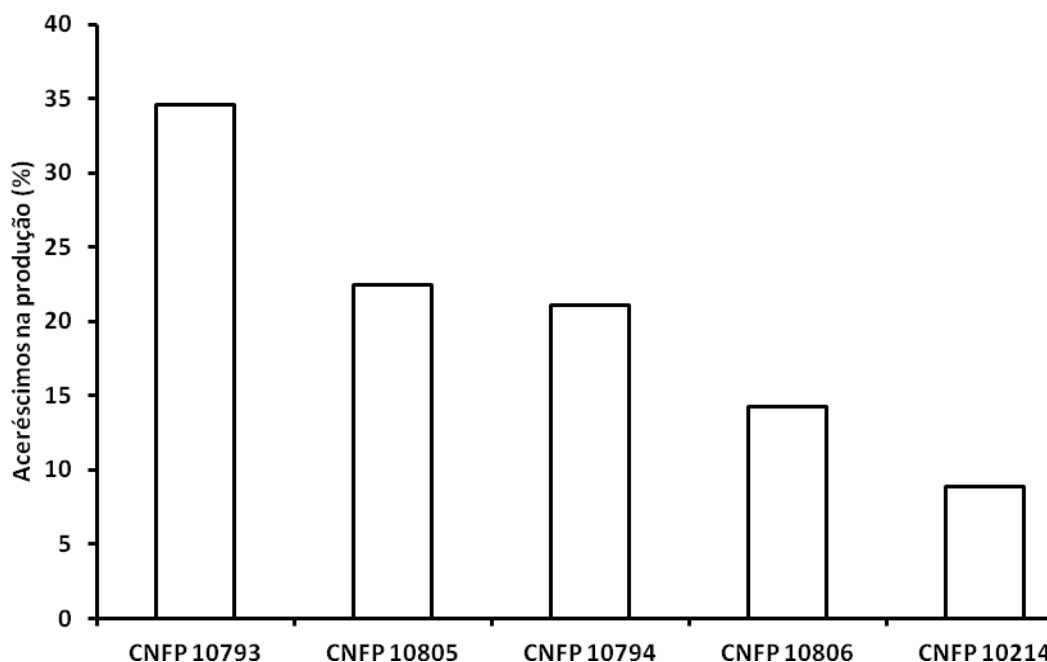
Figura 5.2 – Acréscimo na produção de grãos, em porcentagem, de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo preto, comparados com o controle (média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo), quando supridas com N-mineral (80 kg ha^{-1}) em 2008 e 2009. Dourados-MS.



Quando as comparações são feitas para a situação de uso da inoculação com *R. tropici* (Figura 5.3) destacaram-se as CNFP-10793 (34,6%), CNFP-10805 (22,5%), CNFP-10794 (21,2%), CNFP-10806 (14,2%) e CNFP-10214 (8,9%) no experimento 1. Nenhuma linhagem testada no experimento 2 apresentou produtividade superior à média do controle.

A seleção e recomendação de cultivares de feijão responsivos à inoculação com *R. tropici* é muito importante para o setor agrícola brasileiro, uma vez que coloca o Brasil na linha da produção sustentável de alimentos, minimiza as agressões ao ambiente pela eliminação a necessidade de aplicação de adubos nitrogenados e ao mesmo tempo garante maior rentabilidade aos agricultores pela redução dos custos de produção.

Figura 5.3 – Acréscimo na produção de grãos, em porcentagem, de diferentes linhagens de feijoeiro do grupo preto, comparados com o controle (média das cultivares BRS Campeiro, BRS Esplendor, IPR Uirapuru e BRS Supremo), quando inoculadas com *Rhizobium tropici* (CIAT 899), em 2008. Dourados-MS.



5.6 CONCLUSÕES

Há diversidade entre as linhagens estudadas quanto a produtividade quando adubadas com N-mineral e inoculadas com *Rhizobium tropici*;

A inoculação pode proporcionar, em linhagens adaptadas, produtividades de grãos semelhantes à aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N;

A linhagem CNFP 10793 apresenta maior produtividade quando inoculada;

A linhagem CNFP 11994 apresenta maior produtividade quando adubada com N-mineral.

6 CONCLUSÕES GERAIS

A seleção de estirpes de *Rhizobium tropici* proporciona produtividade de grãos semelhante aos obtidos com a adubação com 80 kg ha⁻¹ de N e maior ganho econômico.

As estirpes nativas CPAO 56.4 L2, CPAO 12.5 L2, CPAO 17.5 L2 e CPAO 2.11L poderão ser indicadas para produção de novos inoculantes do feijoeiro no Brasil.

Há diversidade de resposta de produtividade, entre as linhagens de feijoeiro, quer seja do grupo carioca como preto, quanto à inoculação ou adubação mineral com N.

As linhagens CNFC 11946 e CNFP 10793 apresentam maior produtividade de grãos quando inoculadas com *Rhizobium tropici*.

Para a maximização da fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro, é estratégico que se tenham programas de melhoramento genético que visem a obtenção de genótipos responsivos.

REFERÊNCIAS

- Agrolink. Cotações: feijão (2011). Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/cotacoes/graos/feijao>>. Acessado em: 26 maio 2011.
- ALVAREZ, A.C.C.; ARF, O.; ALVAREZ, R.C.F.; PEREIRA, J.C.R. Resposta do feijoeiro à aplicação de doses e fontes de nitrogênio em cobertura no sistema plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, n.1, p. 69-75, 2005.
- ANDREOTTI, M.; NAVA, I.A.; WIMMER NETO, L.; GUIMARÃES, V.F.; FURLANI JUNIOR, E. Fontes de nitrogênio e modos de adubação em cobertura sobre a produtividade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) na “safra das águas”. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, n.4, p.595-602, 2005.
- ARAÚJO, F.F. de; CARMONA, F.G.; TIRITAN, C.S.; CRESTE, J.E. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.29, n.4, p. 535-540, 2007.
- ARAÚJO, F.F.de; MUNHOZ, R.E.V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.6, p. 435-443. 1996.
- BANZATO, D.A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP. 1992. 247 p.
- BARBIN, D. **Planejamento e análise de experimentos agrônômicos**. Arapongas: Midas, 2003. 208 p.
- BARBOSA FILHO, M.P.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F. da. **Aplicação de nitrogênio em cobertura no feijoeiro irrigado**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2001. 8p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 49).
- BASSAN, D.A.Z.; ARF, O.; BUZETTI, S.; CARVALHO, M.A.C. de; SANTOS, N.C.B. dos; SÁ, M.E. de. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.23, n.1, p. 76-83. 2001.
- BERTOLDO, J.G.; COIMBRA, J.L.M.; GUIDOLIN, A.F.; NODARI, R.O.; ELIAS, H.T.; BARILI, L.D.; VALE, N.M. do; ROZZETTO, D.S. Rendimento de grãos em feijão preto: o componente que mais interfere no valor fenotípico é o ambiente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p.1974-1982, 2009a.
- BERTOLDO, J.G.; COIMBRA, J.L.M.; TAVARES, H.E.; HEMP, S.; VOGT, G.A.; ROCHA, F. da; STAHELIN, D. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica para o caráter tempo de cocção do feijão preto. **Revista Ceres**, Viçosa, v.56, n.3, p. 315-321, 2009b.

BINOTTI, F. da S.; ARF, O.; CARDOSO, E.D.; SÁ, M.E. de; BUZETI, S.; NASCIMENTO, V. do. Fontes e doses e de nitrogênio em cobertura no feijoeiro de inverno irrigado no sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.5, p. 770-778, 2010.

BINOTTI, F. da S.; ARF, O.; SÁ, M.E. de; BUZETI, S.; ALVAREZ, A.C.C.; KAMIMURA, K.M. Fontes, doses e modo de aplicação de nitrogênio em feijoeiro no sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p. 473-481, 2009.

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

BROM, S.; MARTÍNEZ, E., D'ÁVILA, G.; PALACIOS, R. Narrow and broad-host-range symbiotic plasmids of *Rhizobium spp.* strains that nodulate *Phaseolus vulgaris*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, p. 1280-1283. 1988.

CAMPANHARO, M.; LIRA JUNIOR, M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; STAMFORD, N.P.; FREIRE, F.J.; COSTA, J.V.T. da. Acidez do solo na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro comum. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.5, n.3, p. 285-290. 2010.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F. de; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. eds. **Fertilidade de solos**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 376-470.

CARDOSO, J.D.; GOMES, D.F.; GOES, K.C.G.P.; FONSECA JUNIOR, N. da S.; DORIGO, O.F.; ANDRADE, D.S. Relationship between total nodulation and nodulation at the root crown of peanut, soybean and common bean plants. **Soil Biology & Biochemistry**. Oxford, v. 41, p. 1760-1763, 2009.

CARDOSO, J.E.; RAVA, C.A.; SARTORATO, A. Doenças causadas por fungos de solo. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O. (Coord). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS, 1996. 786p. p.701-722.

CHAVERRA, M.H.; GRAHAM, P.H. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. **Crop Science**, Madison, v.26, p. 911-916, 1992.

COBRA NETO, A., ACCORSI, W.R., MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. var Roxinho). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz**. Piracicaba, v.28, p. 257-273, 1971.

COELHO, C.M.M.; ZILIO, M.; SOUZA, C.A.; GUIDOLIN, A.F.; MIQUELLUTI, D.J. Características morfo-agronômicas de cultivares crioulas de feijão comum em dois anos de cultivo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, suplemento 1, p. 1177-1186, 2010.

COIMBRA, J.L.M.; BERTOLDO, J.G.; ELIAS, H.T.; HEMP, S.; VALE, N.M. do; TOALDO, D.; ROCHA, F. da; BARILI, L.D.; GARCIA, S.H.; GUIDOLIN, A.F.; KOPP, M.M. Mineração da interação genótipo x ambiente em *Phaseolus vulgaris* L. para o Estado de Santa Catarina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2, p. 355-363. 2009.

COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO (CTSBF). **Informações técnicas para o cultivo do feijão na Região Sul brasileira 2009**. Florianópolis: Epagri, 2010. 164p.

CONAB, 2011a. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Feijao/15_reuniao/Consumo.pdf>. Acesso em: 03 maio 2011a.

CONAB, 2011b. Séries Históricas: feijão total (1a, 2a e 3a.safras) – Brasil.

Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&ordem=produto&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 03 maio 2011.

CPAO. Clima MS – Médias e Normais. (2011). Disponível em:

<http://www.cpaio.embrapa.br/clima/index.php?intervalo=2&dados=tmax&Submit=Mostrar&pg=resultado_normal>. Acesso em: 29 junho 2011.

DIAZ, C.L.; MELCHER, L.S.; HOOYKAAS, P.J.J.; LUGTENBERG, B.J.J.; KIJNE, J.W. **Root lectin as a determinat host-plant specificity in the Rhizobium-legume symbiosis**. *Nature*, London, p. 338-579, 1989.

DIDONET, A.D.; SILVA, S.C. da. Elementos climáticos e produtividade do feijoeiro.

Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.25, n.233, p. 13-19. 2004.

DOBEREINER, J.; RUSCHEL, A.P. **Fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. *I-Influência do solo e da variedade*. Rio de Janeiro: Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, 1961. 16p. (IEEA. Comunicado Técnico, 10).

DUARTE, J.B.; ZIMMERMANN, M.J.O. Adaptabilidade e estabilidade de rendimento de genótipos de feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.1, p.25-32, 1994.

DUQUE, E.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L.; BODDEY, R.M.; The response of Field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using 15N. **Plant Soil**, Hague, v.88, p.333-343, 1985.

ELIAS, H.R.; BACKES, R.L.; VIDIGAL, M.C.G.; BALBINOT JR, A.A.; HEMP, S. Estabilidade e adaptabilidade de linhagens e cultivares de feijoeiro do grupo carioca. **Scientia Agraria**. Curitiba, v.8, n.4, p. 379-384, 2007.

EMBRAPA. **Atlas do Meio Ambiente do Brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI: Ed. Terra Viva. 1994. 130p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. Piracicaba: Os autores. 2007. 386p.

FAO (2009). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Roma: FAO. 184p. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/download/i0680s.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2011.

FAO (2011). <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 18 abril 2011.

FAO. *Faostat* (2011). Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 18 abril 2011.

FARINELLI, R. **Características agronômicas e tecnológicas em genótipos de feijoeiro**. 2006. Tese (Tese de Doutorado) – UNESP/FCA-Botucatu.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V.M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 33p. (Embrapa Agrobiologia, Documentos, 252).

FERREIRA, A.N.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C. de; ARAÚJO, R.S.; SÁ, M.E. de; BUZETI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.3, p. 507-512, 2000.

FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium*-feijão e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.2, p. 467-474, 1967.

FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. **Fixação biológica de nitrogênio**. Brasília: ABEAS. 1988. 54 p.

FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C.; TSAI, S.M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.8, p.1145-1150, 2002.

GOMES JUNIOR, F.G.; LIMA, E.R.; LEAL, A.J.F.; MATOS, F.A.; SÁ, M.E. de; HAGA, K.I. Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v.27, n.3, p.455-459, 2005.

GRAHAM, P. H.; ROSAS, J. C. Growth and development of indeterminate bush and climbig cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.88, p. 503-508, 1977.

GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.4, p. 93-112, 1981.

GRAHAM, P.H.; DRAEGER, K.J.; FERREY, M.L.; CONROY, M.J.; HAMMER, B.E.; MARTÍNEZ, E.; ARONS, S.R.; QUINTO, C. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.40, p. 198-207, 1994.

HAAG, H.P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H.; GARCIA BLANCO, H. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v.26, n.30, p. 381-391, 1967.

HARDARSON, G.; BLISS, F.A.; CIGALES-RIVERO, M.R.; HENSON, R.A.; KIPE-NOLT, J.A.; LONGERI, L.; MANRIQUE, A.; PENA-CABRIALES, J.J.; PEREIRA, P.A.A.; SANABRIA, C.A.; TSAI, S.M. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, p. 59-70, 1993.

- HERNANDEZ-LUCAS, I.; SEGOVIA, L.; MATÍNEZ-ROMERO, E.; PUEPPKE, S.G. Phylogenetic relationships and host range of *Rhizobium spp.* That nodulate *Phaseolus vulgaris* L. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.61, p. 2775-2779, 1995.
- HUNGRIA, M. ; CAMPO, R. J. ; MENDES, I. C. . Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.39, p. 88-93, 2003.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. de S.; CHUEIRE, L.M. de O.; PROBENZA, A.; GUTIERREZ-MANERO, F.J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, n.11/12, p. 1515-1528, 2000.
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. Relato da VI reunião de laboratórios para recomendação de estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. In: HUNGRIA, M.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. (Ed.) **Microbiologia do solo: desafios para o século XXI**. Londrina: IAPAR: EMBRAPA-CNPSO, 1995. p. 476-489.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja; Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. 48 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 35; Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 13).
- HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.149, n.1, p. 95-102, 1993.
- HUNGRIA, M.; JOSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. Anthocyanidins and flavonol, major *nod* gene inducers from seed of a black-seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Plant Physiology**, Rockville, v.97, p.751-758, 1991.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; ARAUJO, R.S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Biologia dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 189-294.
- IBGE/CEPAGRO – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Feijão – 2ª Safra. 2010. Disponível em: <http://WWW.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201009.pdf>. Acesso em: 03 junho 2011.
- JORDAN, D.C. Family III. Rhizobiaceae. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. (ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9.ed. v.1, Baltimore, London: Williams & Wilkins Co, 1984, p.234-242.
- KIPE-NOLT, J.A.; MONTEALEGRE, M.C.M; THOME, J. Restriction of nodulation by the broad host range of *Rhizobium tropici* strain CIAT 899 in wild accessions of *Phaseolus vulgaris* L. **New Phytologist**, Cambridge, v.120, n.4, p. 489-494, 1992.
- KUBOTA, F.Y.; ANDRADE NETO, A.C. de; ARAÚJO, A.P.; TEIXEIRA, M.G. Crescimento e acumulação de nitrogênio de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**. Viçosa, v.32, p. 1635-1641. 2008.

LAGREID, M.; BOCKMAN, O. C.; KAARSTAD, O. **Agriculture, fertilizers and the environment**. Cambridge: CABI. 1999, 294 p.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; MENEZES, E.W. de. Qualidade nutricional. In: : ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS, 1996. 786p. p.23-56.

LEMOS, L.B.; FORNASIERI FILHO, D.; CAMARGO, M.B.; SILVA, T.R.B. da; SORATTO, R.P. Inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada em genótipos de feijoeiro. **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.1, p.26-31, 2003.

LEMOS, L.B.; OLIVEIRA, R.S. de; PALOMINO, E.C.; SILVA, T.R.B. da. Características agrônômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, p. 319-326, 2004.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G. Fertilidade do solo e produtividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H. BARROS, N.F. de; FONTES, R.L.F.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Edit.) **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017p. p.1-64.

MACHADO, P. L. O. de A. (Coord.). **Métodos de análise de solo**. In: NOGUEIRA, A. R. de A.; SOUZA, G. B. de (Ed.). Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. p. 63-123.

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

MARTINELLI, L.A. Os caminhos do nitrogênio – Do fertilizante ao poluente. **Informações Agronômicas**. n.118, p.6-10, 2007.

MARTÍNEZ, E.; FLORES, M.; BROM, S.; ROMERO, D.; DÁVILA, G.; PALACIOS, R. *Rhizobium phaseoli*: a molecular genetics view. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.108, p. 179-184. 1988.

MARTINEZ, E.; PARDO, M.A.; PALACIOS, R.; CEVALLOS, M.A.; Reiteration of nitrogen fixation gene sequences and specificity of *Rhizobium* in nodulation and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of General Microbiology**, London, v.131, p. 1779-1786, 1985.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOIA, L.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P.; PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena spp.* Trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.41, p. 417-426, 1991.

MARTINEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P.; PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena spp.* Trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.41, p. 417-426, 1991.

MERCANTE, F.M. **Diversidade genética de rizóbio que nodula o feijoeiro e troca de sinais moleculares na simbiose com plantas hospedeiras.** 1997. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1997.

MERCANTE, F.M. **Uso de *Leucaena leucocephala* na obtenção de *Rhizobium* tolerante a temperatura elevada para inoculação do feijoeiro.** 1993. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1993.

MERCANTE, F.M.; CUNHA, C.O.; STRALIOTTO, R.; RIBEIRO-JUNIOR, W.Q.; VANDERLEYDEN, J.; FRANCO, A.A. *Leucaena leucocephala* as a trap-host for *Rhizobium tropici* strains from the brazilian "cerrado" region. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.29, n.1, p. 49-58, 1998.

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

MERCANTE, F.M.; OTSUBO, A.A.; SILVA JUNIOR, A. da; VERALDO, F. **Isolamento e seleção inicial de rizóbios obtidos de solos de Mato Grosso do Sul para inoculação em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 24 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 67) b.

MERCANTE, F.M.; OTSUBO, A.A.; STAUT, L.A. **Eficiência da fixação biológica de nitrogênio pela inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* em soja, no estado de Mato Grosso do Sul.** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 32 p. (Embrapa Agropecuária Oeste-Documentos, 68) a.

MERCANTE, F.M.; STAUT, L.A.; OTSUBO, A.A.; KURIHARA, C.H. **Nutrição nitrogenada na cultura da soja em Mato Grosso do Sul: reinoculação x adubação nitrogenada.** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2002. 6 p. (Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico, 66).

MERCANTE, F.M.; STRALIOTTO, R.; DUQUE, F.F. FRANCO, A.A. **A inoculação do feijoeiro comum com rizóbio.** Seropédica: Embrapa-CNPBS, 1992. 8 p. (EMBRAPA-CNPBS. Comunicado Técnico, 10).

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABOUD, A.C. de S.; FRANCO, A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. **Revista da Universidade Rural, série Ciência da Vida**, Seropédica, v.21, n.1-2, p. 127-146. 1999.

MNASRI, B.; AOUANI, M.E.; MHAMDI, R. Nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under water deficiency. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.39, p. 1744-1750, 2007

MORAES, W.B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G. de O., CAETANO, S. de P.; MORAES, W.B.; COSMI, F.C. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em

genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **IDESIA**, Arica-Chile, v.28, n. 1, p. 61-68, 2010.

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

MOSIER, A.; GALLOWAY, J. Setting the scene – The international nitrogen initiative. In: International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers, Frankfurt, 2005. **Proceedings**. Paris, International Fertilizer Industry Association, 2005. 10p. CD-ROM.

MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F.L.; DIAS, B.G.; VARGAS, M.A.T; HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Netherlands, v.73, p. 121-132, 2002.

OLIVEIRA, G.V.; CARNEIRO, P.C.S.; CARNEIRO, J.E. de S.; CRUZ, C.D. Adaptabilidade e estabilidade de linhagens de feijão comum em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p. 257-265, 2006.

PASQUALINI, D. **Potencial da fixação biológica de nitrogênio em feijão em função da diversidade de bactéria e da planta**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Centro de Ciências Agroveterinárias/UDESC, Lages, 2008.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, I.M.N.; OTSUBO, A.A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.33, p. 219-226. 2009.

PEREIRA, P.A.A.; ARAÚJO, R.S.; ROCHA, R.E.M.; STEINMETZ, S. Capacidade dos genótipos de feijoeiro fixar N₂ atmosférico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 811-815, 1984.

PESSOA, A.C.S.; LELLING, C.R.S.; POZZEBON, E.J.; KONIG, O.O. Concentração e acumulação de nitrogênio, fósforo e potássio pelo feijoeiro cultivado sob níveis de irrigação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.26, n.1, p. 69-74, 1996.

PESSOA, A.C.S.; RIBEIRO, A.C.; CHAGAS, J.M.; CASSINI, S.T.A. Atividades de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “Ouro Verde” em resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, Viçosa, v.24, p. 217-224, 2001.

PINTO, F.G.S.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F.M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Soil Biology & Biochemistry**. Oxford, v.39, p. 1851-1864, 2007.

PINTO, P.P.; RAPOSEIRAS, R.; MACEDO, A.M.; SELDIN, L.; PAIVA, E.; SÁ, N.M.H. Effects of high temperature on survival, symbiotic performance and genomic modifications of bean nodulating *Rhizobium* strains. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.29, n.4, p.295-300, 1998.

PORTES, T. de A. Ecofisiologia. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O. (Coord). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS, 1996. 786p. p.101-137.

RAMALHO, M.A.P., ABREU, A.F.B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, 1998. p.435-450.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.P.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: 2.ed.**Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. p.415-436.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa de plantas autótomos: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAPASSI, R.M.A.; VALÉRIO FILHO, W.V.; SÁ, A.A.B.; SÁ, M.E.; CARVALHO, M.A.C.; BUZETTI, S.; ARF, O. Níveis e fontes de nitrogênio sobre o feijoeiro de inverno. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v.12, n.1, p. 103-115, 2003.

RAPOSEIRAS, R.; MARRIEL, I.E.; MUZZI, M.R.S.; PAIVA, E.; PEREIRA FILHO, I.A.; CARVALHAIS, L.C.; PASSOS, R.V.M.; PINTO, P.P.; SÁ, N.M.H. de. Rhizobium strains competitive ness on bean nodulation in cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p. 439-447. 2006.

RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. N₂ fixation in Field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) quantified by ¹⁵N isotope dilution. II.Effect of cultivars of bean. **Agronomy Journal**, Madison, v.75, p. 645-649, 1983.

RESENDE, A.V. de. **Agricultura e qualidade de água: contaminação da água por nitrato**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002, 29p. (Documentos/Embrapa Cerrados, 57).

RIBEIRO, N.D.; CARGNELUTTI FILHO, A.; HOFFMANN JÚNIOR, L.; POSSEBON, S.B. Precisão experimental na avaliação de cultivares de feijão de diferentes hábitos de crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p. 1371-1377, 2004.

ROCHA, V.P.C.; MODA-CIRINO, V.; DESTRO, D.; FONSECA JÚNIOR, N da S.; PRETE, C.E.C. Adaptabilidade e estabilidade da característica produtividade de grãos dos grupos comerciais carioca e preto de feijão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.1, p. 39-54, 2010.

ROLFE, B.G.; GRESSHOF, P.M. Genetic analysis of legume nodule initiation. **Annual Review of plant Physiology and Molecular Biology**. Palo Alto, v.39, p. 297-319, 1988.

RUAS, J.F. Prospecção para safra 2007/2008: Feijão. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/cas/especiais/prospeccao_2007_08_feijao.pdf>. Acesso em: 30 junho 2011.

SANTOS, A.B.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F.; MELO, M.L.B. Resposta do feijoeiro ao manejo de nitrogênio em várzeas tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.11, p.1265-1271, 2003.

SANTOS, A.B.; SILVA, O.F. Manejo do nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F. (Ed.). **Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. p.207-216.

SCHULTZE, M.; KONDOROSI, E.; RATET, P.; BUIRÉ, M.; KONDOROSI, A. Cell and molecular biology of Rhizobium –plant interactions. **International Review of Cytology**, New York, v.156, p. 1-75, 1994.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J.P.W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of american *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal Systematic Bacteriology**, Washington, v.43, p. 374-377, 1993.

SILVA, E.F. da; MARCHETTI, M.E.; SOUZA, L.C.F. de; MERCANTE, F.M.; RODRIGUES, E.T.; VITORINO, A.C.T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p. 443-451. 2009.

SILVA, M.G.; ARF, O.; SÁ, M.E.; RODRIGUES, R.A.F.; BUZETTI, S. Manejo do solo e adubação nitrogenada em feijoeiro de inverno. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.16, n.3, p. 307-312, 2004.

SOARES, A.L. de L.; FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, P.A.R.; VALE, H.M.do; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B. de.; MOREIRA, F.M. de S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). II – Feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, Viçosa, v.30, p. 803-811, 2006.

SOUZA, R. de F.; STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. Especificidade entre linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo Jalo e estirpes de rizóbio. **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, Seropédica, v.24, n.1, p. 19-24. 2004.

SPRENT, J. **The biology of nitrogen-fixing organisms**. London: Mc-Graw-Hill Company Ltda. 196p. 1979.

STOCCO, P.; SANTOS, J.C.P. do; VARGAS, V.P.; HUNGRIA, M. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbioses do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p. 1107-1120, 2008.

STRALIOTTO, R.; PELOSO, M.J.D.; ZIMMERMANN, F.J.P.; ARAÚJO, A.P. TEIXEIRA, M.G. Avaliação de produtividade de linhagens de feijoeiro de diferentes tipos de grãos sob adubação nitrogenada e inoculação com rizóbio. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 15; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 9; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 7; REUNIÃO BRASILEIRA DE BILOGIA DO SOLO, 4. **Resumos...** Rio de Janeiro: UFRRJ/SBCS/SBM/EMBRAPA. Rio de Janeiro, RJ, 2002.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. **A variabilidade genética do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L):** aplicações nos estudos das interações simbióticas e patogênicas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 2000. 59p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 126).

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

TEIXEIRA, C.M.; CARVALHO, G.J.; ANDRADE, M.J.B.; FURTINI NETO, A.E.; MARQUES, E.L.S. Palhadas e doses de nitrogênio no plantio direto do feijoeiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, n.3, p. 499-505, 2005.

VALADÃO, F.C. de A.; JAKELAITIS, A.; CONUS, L.A.; BORCHART, L.; OLIVEIRA, A.A. de; VALADÃO JUNIOR, D.D. Inoculação das sementes e adubações nitrogenada e molíbdica do feijoeiro-comum, em Rolim de Moura, RO. **Acta Amazonica.** Manaus, v.39, n.4, p. 741-748, 2009.

VICENTE, J.R.; ALMEIDA, L.D.; GONÇALVES, J.S.; SOUSA, S.A.M. Feijão carioca: impactos do cultivar gerado pela pesquisa paulista. In: CASTRO, J.L.; ITO, M.F. (Coord.). **Dia de campo de feijão.**, 2000, Capão Bonito. Campinas: Instituto Agrônomo, 2000. p. 63-77.

VIEIRA, S.M.; RONZELLI JÚNIOR, P.; DAROS, E.; KOEHLER, H.S.; PREVEDELLO, B.M.S. Nitrogênio, molibdênio e inoculante para a cultura do feijoeiro. **Scientia Agrícola.** Piracicaba, v.1., n.1-2, p. 63-66. 2000.

VOSS, M. Fixação biológica de nitrogênio. In: Fundação Instituto Agrônomo do Paraná. **O feijão no Paraná.** Londrina: IAPAR, 1989. p. 101-114.

YOKOYAMA, L.P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura. IN: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: POTAFÓS, 1996. p.1-21. 786p.

ZIMMERMANN, M.J. de O.; CARNEIRO, J.E.S.; PELOSO, M.J. del.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; SARTORATO, A.; PEREIRA, P.A.A. **Melhoramento genético e cultivares.** In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O (coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: POTAFOS. 1996. p.223-273. 786p.