

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**TESE**

**Fixação Biológica de Nitrogênio em Genótipos**  
**Ancestrais de Feijão-caupi**

**Rosa Maria Cardoso Mota de Alcantara**

**2011**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS  
ANCESTRAIS DE FEIJÃO-CAUPI**

**ROSA MARIA CARDOSO MOTA DE ALCANTARA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Gustavo Ribeiro Xavier**

*e Co-orientação do Pesquisador*  
**Maurisrael de Moura Rocha**

*e da Pesquisadora*  
**Norma Gouvêa Rumjanek**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2011

635.6523

A347f

T

Alcantara, Rosa Maria Cardoso Mota de, 1958-  
Fixação biológica de nitrogênio em  
genótipos ancestrais de feijão-caupi / Rosa  
Maria Cardoso Mota de Alcantara - 2011.  
112 f.: il.

Orientador: Gustavo Ribeiro Xavier.

Tese(doutorado) - Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-  
Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 84-102.

1. Feijão-de-corda - Melhoramento  
genético - Teses. 2. Nitrogênio - Fixação  
- Teses. 3. Rizóbio - Teses. I. Xavier,  
Gustavo Ribeiro, 1973-. II. Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de  
Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

**ROSA MARIA CARDOSO MOTA DE ALCANTARA**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no  
Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

TESE APROVADA EM 23/02/2011

---

Gustavo Ribeiro Xavier. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Orientador)

---

Adelson Paulo de Araújo. Dr. UFRRJ

---

Raul de Lucena Duarte Ribeiro. Dr. UFRRJ

---

Lindete Míria Vieira Martins. Dra. UNEB

---

Kaesel Jackson Damasceno e Silva. Dr. Embrapa Meio-Norte

Ao meu pai “Seu Zé Mota” (*in memoriam*) e minha mãe “Dona Fé”, meus maiores exemplos de dignidade e perseverança e a quem devo o maior dos legados, a educação.

Ao meu amado marido Clineu pelo amor, carinho, compreensão e companheirismo e principalmente por ter abdicado dos seus sonhos para realizar o meu sonho maior.

Aos meus queridos Davi e Vivianne, meus presentes divinos, que me concederam a alegria de ser mãe.

Ao meu irmão Alaôr (*in memoriam*) pelo afeto recíproco, presença marcante e agradável convívio no início desta jornada...

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo milagre da vida e pela proteção constante e inabalável.

À Embrapa Meio-Norte, minha segunda casa, por me conceder a liberação e a oportunidade de realizar o doutorado e por me apoiar na condução dos meus experimentos de campo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a inesquecível “RURAL”, que me acolheu como aluna e me deu todo suporte acadêmico necessário.

À Embrapa Agrobiologia, minha segunda unidade, pelo acolhimento, pela disponibilização de sua infraestrutura, pelos bons momentos ali vividos e pelos amigos adquiridos.

Ao pesquisador Dr. Gustavo Ribeiro Xavier, meu orientador e colega de profissão, pelo exemplo de profissionalismo, de competência, de otimismo contagiante e pelo incentivo, dedicação e atenção que sempre teve comigo, em todos os momentos desta jornada.

Ao pesquisador Dr. Maurisrael de Moura Rocha, meu co-orientador e colega de Unidade, pela ajuda, apoio e disponibilidade concedidos.

À pesquisadora Dra. Norma Gouvêa Rumjanek, minha co-orientadora, pelos ensinamentos e pela constante disponibilidade.

Ao corpo docente do CPGA-CS, em especial à Professora Lúcia Helena, Professor Marcos Gervasio e Professor Nelson Moura, pelos ensinamentos.

Aos meus amados irmãos e minhas amadas irmãs, pelo amor incondicional, carinho recíproco e pela torcida organizada, fervorosa, amorosa e constante.

Aos meus cunhados e cunhadas, sobrinhos e sobrinhas, afilhados e afilhadas, que sempre torceram por mim e me apoiaram com afeto e carinho.

Aos meus tios e tias, primos e primas, que mesmo distantes estiveram sempre perto, apoiando-me com carinho e amizade.

À minha sogra “Dona Juliêta” (*in memoriam*) e ao meu sogro “Seu Edmo” (*in memoriam*), que me acolheram e me amaram como uma filha.

Ao amigo José Maria Freire, que com muita sabedoria orientou meus primeiros passos na bela arte que é a pesquisa científica.

A todos os colegas do curso de Pós-graduação em Agronomia - Ciência do Solo, em especial aos da turma 2007, pelas preocupações e dúvidas compartilhadas, pelas incansáveis horas de estudos divididas e também, pelos momentos de alegria e descontração vividos.

Aos meus queridos amigos e amigas da Embrapa Meio-Norte pelo apoio, amizade e ajuda constante, em especial a Mariana, grande amiga, a quem devo muita gratidão.

À equipe do Caupi da Embrapa Meio-Norte, com destaque para Jackeline, “minha estagiária” pela sua dedicação, criatividade, responsabilidade e alegria.

Ao Roberto, Marquinhos e Luciene, colegas da secretaria do CPGA-CS, pelo eficiente e dedicado atendimento antes e durante todo o curso.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Microbiana da Embrapa Agrobiologia: Rosana; Rayssa; Anelise; Débora; Silvana; Beatriz; Carolina Etienne; Carol; Fádua; Viviane; Márcia; Ediana; Daniele; Paulo Ivan; Samuel; Paulo César; Marcius; Rafael; Vinícius; Carlos, Guilherme, Elson e Bruno pela amizade, apoio e agradável convivência.

À Régia e Andréa, “minhas filhotas” muito amadas e a Jaqueline, amiga querida, pela solidariedade, atenção, apoio e carinho constantes.

À Sumaya e Nanda, minhas queridas, pela inestimável e competente ajuda na condução dos experimentos em casa de vegetação.

Ao Jakson, meu amigo JK, pelos agradáveis momentos de troca de informações e conhecimentos “caupizeiros” e por trazer o Nordeste para perto de mim, com suas “resenhas”.

À Claudinha pelos inúmeros momentos compartilhados no laboratório e principalmente pela sua dedicação ao me apoiar integralmente, inclusive nos fins de semana.

Ao João Luiz, um agradecimento especial, por ter sido meu fiel escudeiro, resolvendo sempre com bom humor todos os entraves impossíveis, intransponíveis e inimagináveis.

À Thaisinha, Robertinha, Manu e João (a galera do CAEL) que foram incansáveis e muito eficientes na ajuda com as análises de nitrogênio.

Aos colegas do setor de Casa de Vegetação da Embrapa Agrobiologia que me ajudaram na condução dos meus experimentos, em especial ao meu grande amigo, Claudinho.

À Janaína Ribeiro pela orientação e ajuda sempre bem humorada, na elaboração e entendimento das análises estatísticas.

Ao Geraldo Baêta pela atenção, dedicação, disponibilidade e colaboração em todos os momentos desta jornada.

À Monalisa e Gisele, Roberto Grégio, Altiberto, Roberto Andrade e Ednelson pela disponibilidade e ajuda nas análises químicas.

À equipe de Isótopos Estáveis do CENA/ESALQ pelo auxílio nas análises de N15.

À Anna, Lia e Polly, minha gratidão pela acolhida, hospitalidade, carinho e ajuda nos longos e saudosos períodos de condução dos experimentos de campo, em Teresina-PI.

À Vivianne, minha filha, que soube entender a necessidade e a importância das minhas ausências, nos momentos em que mais precisava da minha presença.

Ao Clineu, meu marido, pessoa fundamental no desenvolvimento e na conclusão desta tese, que esteve ao meu lado me confortando, apoiando, ajudando e incentivando, em todos os momentos desta jornada, principalmente, naqueles mais difíceis, em que nada dava certo.

## **BIOGRAFIA**

Rosa Maria Cardoso Mota de Alcântara, nascida em 07 de fevereiro de 1958 no município de Pinheiro, no estado do Maranhão, é filha de José Floriano Mota e Fé do Carmo Cardoso e Silva Mota. Ingressou no curso de Engenharia Agrônômica na Universidade Federal do Ceará - UFC, em 1977 e foi bolsista em iniciação científica no período de agosto de 1981 a dezembro de 1982, no Departamento de Ciências do Solo da UFC, em Fortaleza-CE. Graduiu-se como Engenheira Agrônoma em fevereiro de 1983 e no período de fevereiro de 1985 a novembro de 1987 foi bolsista de aperfeiçoamento do CNPq, na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará - EPACE. Foi aprovada em concurso público em março de 1988 e contratada como pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA em agosto de 1989, passando a exercer suas atividades no estado do Piauí. Em março de 1993 ingressou no curso de Pós-graduação da Universidade Federal de Lavras - UFLA, obtendo o título de Mestre em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas, em agosto de 1995, na cidade de Lavras - MG. Em março de 2007 ingressou no curso de Pós-graduação em Agronomia - Ciência do Solo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, em Seropédica - RJ, para obtenção do título de Doutor em Ciências.



## RESUMO

ALCANTARA, Rosa Maria Cardoso Mota. **Fixação biológica de nitrogênio em genótipos ancestrais de feijão-caupi**. 2011. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Devido à variabilidade encontrada nas leguminosas quanto à eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN) tem sido enfatizada a importância do melhoramento genético vegetal. O objetivo deste estudo foi identificar genótipos ancestrais da cultura do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) com potencial para a fixação biológica de nitrogênio. Este trabalho foi realizado em casa de vegetação e em campo, na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ e na Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI, respectivamente. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, com delineamento em blocos casualizados e três repetições. No primeiro experimento foram avaliadas 15 cultivares e no segundo 16 genótipos ancestrais de feijão-caupi. Nos dois experimentos foram empregadas duas estirpes de *Bradyrhizobium* (BR 3267 e 3299) avaliadas de forma isolada e em consórcio. As coletas foram realizadas no desenvolvimento vegetativo e no início da floração para determinação dos parâmetros de nodulação. A análise de variância revelou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para cultivares e para a interação cultivares x estirpes, no primeiro experimento. No segundo experimento, ocorreu diferença estatística para ancestrais e para a interação ancestrais x estirpes, em relação às variáveis de nodulação. Nos experimentos de campo foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com três repetições. No primeiro experimento foram avaliados 16 genótipos ancestrais em interação com a estirpe BR 3267. No segundo, foi utilizado fatorial 6 x 5, constituído de seis tratamentos (quatro estirpes, um tratamento com N e outro sem inoculação e sem N) e de cinco genótipos de feijão-caupi (quatro ancestrais e uma cultivar). No primeiro experimento de campo, a análise de variância dos dados de nodulação indicou efeito significativo para ancestrais, coleta e ancestrais x coleta e no segundo experimento, houve efeito significativo para ancestrais e ancestrais x estirpes. Os resultados dos experimentos em casa de vegetação indicaram que a cultivar Mauá foi superior em número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação na fase inicial da floração. O genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais, quando associado à estirpe BR 3267, em número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca da parte aérea na fase de desenvolvimento vegetativo, sob condições assépticas. Em condições de campo, os genótipos ancestrais TVu 1190, TVu 59, TVx 3777-04E e TVx 4659-03E em interação com a estirpe BR 3267 foram superiores em massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea. O genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais em peso de 100 sementes, peso e comprimento de vagem, peso de grãos por vagem e número de grãos por vagem, sob condições de campo. A FBN foi quantificada pela técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$ . Os ancestrais TVu 1190 e Alagoano apresentaram maior FBN e a maior quantidade de N derivado da FBN foi apresentada pelo genótipo Alagoano.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Rizóbio. Progenitores.

## ABSTRACT

ALCANTARA, Rosa Maria Cardoso Mota. **Biological nitrogen fixation in ancestor's genotypes of cowpea.** 2011. 112p. Thesis (Doctor Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The variability found in legumes on the efficiency of biological nitrogen fixation (BNF) has emphasized the importance of plant breeding. The objective of this study was to identify ancestor's genotypes of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) with potential for biological nitrogen fixation. This study was conducted in a greenhouse and in the field, respectively at Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ and Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI. Two experiments were conducted in greenhouse, arranged in a randomized blocks with three replications. In the first experiment 15 cultivars were evaluated and in the second, 16 ancestors genotypes of cowpea. In both experiments were used two strains of *Bradyrhizobium* (BR 3267 and 3299) evaluated in isolation and in consortium. The samples were taken at the vegetative growth stage and in early flowering stage to determine nodulation traits. Analysis of variance showed significance ( $p < 0.05$ ) for cultivars and cultivars x strains interaction in the first experiment. In the second experiment, there was statistical difference for ancestors and for ancestors x strains interaction in relation to nodulation. In field experiments the experimental design was randomized block with three replications. In the first experiment, 16 ancestral genotypes with strain BR 3267 were evaluated. In the second, a factorial 6 x 5 was used, consisting of six treatments (four strains, one treatment with N and other without inoculation and without N) and five cowpea genotypes (four ancestors and one cultivar). In the first field experiment, the variance analysis indicated a significant effect for ancestors, harvest and ancestors x harvest. In the second experiment, were observed significant effects to ancestors and ancestors x strains. The results of experiments in the greenhouse indicated that the cultivar Mauá was superior in number of nodules; nodules dry weight; shoot dry matter; nitrogen accumulated in shoots; and efficiency of nodulation in early flowering. The ancestral genotype Alagoano was higher than the others, associated with the strain BR 3267, in nodule number; nodules dry weight and shoot dry matter, during the vegetative growth, under aseptic conditions. In field conditions, the ancestors genotypes TVu 1190, TVu 59, TVx 3777-04E e TVx 4659-03E in interaction with strain BR 3267 were higher in nodules dry weight, shoot dry matter and nitrogen accumulated in shoots. The ancestral genotype Alagoano was higher than others in weight of 100 seeds, weight and length of pod, seed weight per pod and number of grains per pod, under field conditions. The FBN was measured using the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique. The largest percentage of BNF was obtained with the ancestors TVu 1190 and Alagoano and the highest amount of N derived from BNF was shown by genotype Alagoano.

**Key words :** *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Rhizobium. Parents.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Cultivares melhoradas de feijão-caupi lançadas comercialmente no período de 2000 a 2009.....	20
<b>Tabela 2.</b> Número de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.....	32
<b>Tabela 3.</b> Número de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.....	33
<b>Tabela 4.</b> Massa seca de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.....	34
<b>Tabela 5.</b> Massa seca de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase inicial de floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.....	34
<b>Tabela 6.</b> Massa seca da parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.....	35
<b>Tabela 7.</b> Massa seca da parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	36
<b>Tabela 8.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	37
<b>Tabela 9.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	37
<b>Tabela 10.</b> Eficiência de nodulação de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008 , em condições assépticas.....	39
<b>Tabela 11.</b> Eficiência de nodulação de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	39
<b>Tabela 12.</b> Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	40
<b>Tabela 13.</b> Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	41
<b>Tabela 14.</b> Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	42
<b>Tabela 15.</b> Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	42
<b>Tabela 16.</b> Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	43
<b>Tabela 17.</b> Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	44
<b>Tabela 18.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	45
<b>Tabela 19.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	46
<b>Tabela 20.</b> Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão- caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	46

<b>Tabela 21.</b> Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas. ....	47
<b>Tabela 22.</b> Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	49
<b>Tabela 23.</b> Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	50
<b>Tabela 24.</b> Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	50
<b>Tabela 25.</b> Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	51
<b>Tabela 26.</b> Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	51
<b>Tabela 27.</b> Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	52
<b>Tabela 28.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	52
<b>Tabela 29.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	53
<b>Tabela 30.</b> Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	54
<b>Tabela 31.</b> Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas. ....	54
<b>Tabela 32.</b> Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009. ....	55
<b>Tabela 33.</b> Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009. ....	56
<b>Tabela 34.</b> Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009. ....	57
<b>Tabela 35.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009. ....	58
<b>Tabela 36.</b> Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009. ....	59

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Peso de 100 sementes (P100S) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	60
<b>Figura 2.</b> Peso de vagem (PV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott- Knott a 5%. .....	60
<b>Figura 3.</b> Comprimento de vagem (CV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	61
<b>Figura 4.</b> Número de grãos por vagem (NGV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	61
<b>Figura 5.</b> Peso de grãos por vagem (PGV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .	62
<b>Figura 6.</b> Rendimento de grãos secos (RGS) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	63
<b>Figura 7.</b> Percentagem de N derivado da FBN em genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	64
<b>Figura 8.</b> Quantidade de N derivado da FBN em genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina - PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%. .....	65
<b>Figura 9.</b> Número de nódulos (NN) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	66
<b>Figura 10.</b> Número de nódulos (NN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	67
<b>Figura 11.</b> Massa seca de nódulos (MSN) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	68
<b>Figura 12.</b> Massa seca de nódulos (MSN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	69
<b>Figura 13.</b> Massa seca da parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	69
<b>Figura 14.</b> Massa seca da parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	70
<b>Figura 15.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	71
<b>Figura 16.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	71
<b>Figura 17.</b> Eficiência de nodulação (EN) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. .....	72

<b>Figura 18.</b> Eficiência de nodulação (EN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	72
<b>Figura 19.</b> Eficácia relativa (ER) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	73
<b>Figura 20.</b> Eficácia relativa (ER) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	74
<b>Figura 21.</b> Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de genótipos de feijão-caupi em três estádios de desenvolvimento da planta. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	74
<b>Figura 22.</b> Peso de vagem (PV) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	75
<b>Figura 23.</b> Comprimento de vagem (CV) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	75
<b>Figura 24.</b> Peso de grãos por vagem (PGV) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	76
<b>Figura 25.</b> Número de vagem por planta (NVP) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	76
<b>Figura 26.</b> Número de grãos por vagem (NGV) de de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	77
<b>Figura 27.</b> Peso de 100 sementes (P100S) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	78
<b>Figura 28.</b> Rendimento de grãos secos (RGS) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	78
<b>Figura 29.</b> Percentagem de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	80
<b>Figura 30.</b> Quantidade de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%. ....	80
<b>Figura 31.</b> Percentagem de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.....	81

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Importância do Uso de Insumos Biológicos .....	3
2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio .....	5
2.3. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio .....	11
2.3.1. Diferença do N-total do sistema solo-planta.....	11
2.3.2. Balanço de N-total do sistema solo-planta.....	11
2.3.3. Redução de acetileno .....	12
2.3.4. Técnicas isotópicas .....	12
2.4. Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Feijão-caupi .....	13
2.5. Melhoramento Genético da Cultura do Feijão-caupi no Brasil .....	17
2.6. Interface entre FBN e Melhoramento Genético Vegetal .....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
3.1. Interação entre Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> e Cultivares de Feijão-caupi em Condições Assépticas .....	24
3.1.1. Condução do experimento .....	24
3.1.2. Coletas e variáveis analisadas.....	24
3.1.3. Análise estatística.....	25
3.2. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> em Condições Assépticas .....	25
3.2.1. Condução do experimento .....	25
3.2.2. Coletas e variáveis analisadas.....	26
3.2.3. Análise estatística.....	26
3.3. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e a Estirpe BR 3267 em Condições de Campo .....	27
3.3.1. Condução do experimento .....	27
3.3.2. Coletas e variáveis analisadas.....	28
3.3.3. Análise estatística.....	29
3.4. Avaliação de Genótipos de Feijão-caupi em Interação com Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> em Condições de Campo .....	29
3.4.1. Condução do experimento .....	29
3.4.2. Coletas e variáveis analisadas.....	30

3.4.3. Análise estatística.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
4.1. Interação entre Cultivares de Feijão-caupi e Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> em Condições Assépticas .....	32
4.2. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> em Condições Assépticas .....	40
4.3. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e a Estirpe BR 3267 em Condições de Campo .....	55
4.4. Avaliação de Genótipos de Feijão-caupi em Interação com Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> em Condições de Campo .....	66
5. CONCLUSÕES .....	82
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	83
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	84
8. ANEXOS .....	103



## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a preocupação com a preservação da qualidade do meio ambiente vem fazendo parte das discussões cotidianas da sociedade. Nesse contexto, há uma intensificação da demanda para o desenvolvimento de tecnologias ecológicas, que possibilitem o aumento da produção de alimentos e matérias-primas, dentro de um enfoque de preservação e utilização racional dos recursos naturais.

Os insumos biológicos figuram nesse aspecto como possibilidade para uma agricultura que seja economicamente viável e mais competitiva, e que ao mesmo tempo seja socialmente justa e ecologicamente sadia. Exemplos do uso de material biológico como insumos na agricultura incluem desde o acesso ao material genético existente em bancos de germoplasma para uso em programas de melhoramento até o emprego de microrganismos na fixação biológica de nitrogênio e no controle biológico de pragas.

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é uma possibilidade de tornar o N atmosférico prontamente disponível para as culturas agrícolas e constitui a principal via de incorporação do nitrogênio à biosfera. Constitui-se em um dos processos biológicos mais importantes para a existência de vida na Terra, tanto que se estima a completa extinção dos seres vivos, em algumas décadas, caso esse processo fosse interrompido.

Na agricultura, a exploração da FBN contribui com cerca de 30% do nitrogênio necessário ao desenvolvimento das culturas, o que corresponde a 100 Tg anualmente (GALLOWAY et al., 2003).

Os benefícios da FBN são reconhecidos mundialmente e contribuíram para a transformação do Brasil em um dos principais produtores mundiais da cultura da soja, sem a necessidade de utilização de qualquer adubo nitrogenado industrializado, cujos impactos são consideráveis no agronegócio e na balança comercial brasileira. A FBN contribui de forma indireta com cerca de 30 a 40% das exportações da soja o que representou saldo comercial de US\$ 11 bilhões para o País, em 2007 (MAPA, 2008).

Em outras leguminosas como o feijão-caupi também estão comprovados os resultados positivos da FBN. No entanto, os estudos de FBN com esta cultura ainda não estão associados ao melhoramento genético, como foi o caso da soja que contou com a seleção de rizóbios específicos para diferentes condições edafoclimáticas desde o início do seu melhoramento.

A cultura do feijão-caupi, até há pouco tempo, tinha um mercado relativamente restrito e seu cultivo era feito por pequenos e médios agricultores familiares da região Nordeste. Atualmente, já alcançou produtores empresariais e está chegando a grandes polos de produção de grãos e centros de comércio e de consumo de outras regiões do país, principalmente das regiões Centro-Oeste e Sudeste. Essa ampliação das áreas de produção, com a incorporação de produtores com outro perfil tem feito surgir novas demandas, bem como resultou na exportação do produto para outros países.

As recentes demandas surgidas com a incorporação de produtores com outro perfil ao sistema de produção do feijão-caupi, tiveram como consequência a ampliação dos objetivos do melhoramento genético desta cultura.

Enquanto no início o melhoramento genético do feijão-caupi esteve voltado principalmente para o aumento da produtividade e da resistência às doenças e em um segundo momento foi direcionado à qualidade de grãos e à arquitetura da planta. Hoje, os objetivos do melhoramento estão voltados para o aumento do potencial simbiótico das cultivares com bactérias fixadoras de nitrogênio; desenvolvimento de cultivares que atendam às exigências dos mercados africano, asiático e europeu; cultivares com características para processamento industrial; cultivares com novos tipos de grãos com apelo comercial diferente do tradicional;

cultivares com inflorescência composta e cultivares superprecoces que atinjam o ponto de colheita em menos de 58 dias (FREIRE FILHO et al., 2009d).

Apesar do grande avanço, constata-se que até recentemente, o Programa de Melhoramento Genético do Feijão-caupi apresentava uma lacuna com relação à FBN. Tendo-se como exemplo o caso de sucesso da FBN na soja e suas conseqüências no agronegócio brasileiro, considera-se que é também extremamente importante e necessário que os objetivos dos estudos atuais do melhoramento genético do feijão-caupi contemplem também a fixação biológica do nitrogênio.

Com relação aos genótipos ancestrais que constituem a base genética das cultivares brasileiras do feijão-caupi não há nenhuma informação sobre o potencial desses materiais para FBN. A grande variabilidade entre esses genótipos tem sido a principal fonte de recursos genéticos para o desenvolvimento das cultivares melhoradas, que já foram lançadas e recomendadas para diferentes regiões brasileiras.

Por outro lado, observa-se que a contribuição da FBN obtida com as cultivares melhoradas de feijão-caupi é bastante variável, com respostas diferenciadas quanto à habilidade em fixar nitrogênio. Considera-se que essa variabilidade possa estar associada às características genéticas das cultivares.

Nesse contexto, a hipótese deste trabalho é que a identificação de genótipos ancestrais de feijão-caupi responsivos à FBN pode otimizar e estabilizar a contribuição da FBN em futuras cultivares.

O objetivo deste estudo foi identificar genótipos ancestrais da cultura do feijão-caupi com potencial para a fixação biológica de nitrogênio. E como meta final, a identificação de pelo menos uma associação eficiente quanto à FBN, entre genótipos ancestrais de feijão-caupi e estirpes de rizóbio, para dar suporte ao melhoramento genético vegetal.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Importância do Uso de Insumos Biológicos**

O conceito de agricultura sustentável é uma resposta relativamente recente à degradação dos recursos naturais ou à base produtiva da agricultura moderna. Os problemas da produção agrícola têm deixado de ser puramente técnicos, convertendo-se em uma questão mais complexa, envolvendo dimensões sociais, culturais, políticas e econômicas.

Além do alto custo econômico de sua manutenção, a exploração excessiva da base dos recursos naturais levou aos níveis crescentes de degradação e esgotamento dos solos, poluição das águas, intoxicações e contaminações de agricultores por agrotóxicos, além de perda da biodiversidade. Por outro lado, as políticas de desenvolvimento agrícola que viabilizaram a implementação do modelo tecnológico produtivista foram direcionadas à modernização das grandes propriedades, aprofundando ainda mais as desigualdades e a exclusão social no meio rural, principalmente em se tratando dos agricultores familiares (HESPANHOL, 2008).

O processo de incorporação tecnológica ocorrido na agricultura ao longo da história e, mais precisamente, a difusão das práticas tecnológicas da Revolução Verde, inicialmente nos países desenvolvidos e, posteriormente nos países subdesenvolvidos, produziram várias implicações sócioambientais. Apesar dos importantes avanços tecnológicos que garantiram uma maior produção de alimentos, as mudanças que ocorreram nesse período desencadearam uma série de processos e tendências preocupantes, que se manifestam pelo aumento da pobreza e da degradação ambiental.

No caso do Brasil, em particular, o processo de modernização conservadora da agricultura se, por um lado, levou a um aumento da produtividade de algumas lavouras, sobretudo daquelas destinadas à exportação, ao setor agroindustrial e/ou à produção de biocombustíveis, por outro resultou no agravamento de diversos problemas.

A degradação das terras mediante a erosão do solo, a compactação, a diminuição da matéria orgânica e da biodiversidade associada a ela, a salinização, o esgotamento das águas do subsolo, o desmatamento e a desertificação; assim como o aparecimento de pragas devido a generalização da monocultura, a uniformidade genética, a eliminação de inimigos naturais e a resistência aos agrotóxicos desenvolvida por insetos, o surgimento de ervas daninhas e doenças nos cultivos, são problemas resultantes da exploração intensiva dos recursos naturais (MÜLLER et al., 2003).

ORMOND et al. (2002) afirmam que, apesar das décadas de rápida expansão da produção de alimentos, ainda existem 786 milhões de pessoas que passam fome no mundo e que há uma grande incerteza em relação ao futuro, considerando-se a possibilidade da população humana ascender a 10 bilhões em 2050, com a consequente tendência global de aumento do consumo. Aliada a essa perspectiva, a pressão adicional da produção agrícola com a demanda crescente por biocombustíveis, tem contribuído para uma crise alimentar a nível mundial.

Os extremos climáticos, secas e inundações, trazidos pelas alterações climáticas, tornam o cenário pior. Verifica-se também que grande parte das reduções atuais das colheitas agrícolas deve-se à degradação ambiental que é consequência de décadas de práticas culturais insustentáveis e que resultaram em erosão massiva do solo; perda de fertilidade; salinização; depleção e contaminação de aquíferos; liberação de gases do efeito estufa para a atmosfera, principalmente devido ao desmatamento, e perda da biodiversidade (SOUZA, 2004).

Em termos globais, é inegável que a agricultura convencional tenha proporcionado aumentos significativos de produtividade, dobrando a produção de alimentos. No entanto,

constata-se que embora as práticas de manejo convencionais favoreçam, em curto prazo, a produtividade, por outro lado, comprometem as produtividades dos cultivos futuros (GLIESSMAN, 2000).

Atualmente, a preocupação com a preservação da qualidade do meio ambiente vem fazendo parte das discussões da sociedade. Nesse contexto, há uma intensificação da demanda para o desenvolvimento de tecnologias ecológicas, que possibilitem o aumento da produção de alimentos e matérias-primas, dentro de um enfoque de preservação e utilização racional dos recursos naturais. O manejo ecológico do sistema solo/água/planta requer um melhor conhecimento, manejo e utilização dos insumos biológicos.

No mundo inteiro há um forte movimento no sentido do estabelecimento de uma agricultura que conserve o solo e o meio ambiente e que resulte, por exemplo, em produtos livres de agroquímicos. Nos próximos 20 anos, em uma sociedade de maior consciência ambiental e uso sustentável dos recursos naturais, deverá ser crescente a busca por tecnologias alternativas que valorizem a diversidade biológica e a visão holística da relação da flora com o ambiente.

Nesse contexto, haverá maior demanda por fontes alternativas de insumos agrícolas (químicos, orgânicos, biológicos ou naturais) de pouca toxicidade e maior eficiência e pelo uso de plantas, produtos orgânicos ou fertilizantes alternativos como agentes defensivos, além do crescente aproveitamento de resíduos sólidos e de co-produtos (RIPA, 2008).

As estratégias para um futuro sustentável da agricultura apontam na direção do maior uso de insumos biológicos. No V Plano Diretor da Embrapa - 2008/2023 - é considerada estratégia de médio e longo prazo, a contribuição para o avanço da fronteira do conhecimento e a incorporação de novas tecnologias, com a intensificação da pesquisa, do desenvolvimento e da inovação. Essa estratégia terá como consequência, a redução da dependência de insumos agropecuários não renováveis e o aproveitamento de resíduos, com relevância econômica e ambiental (EMBRAPA, 2008).

Os insumos biológicos figuram nesse contexto como possibilidade para uma agricultura que seja economicamente viável e mais competitiva, e que ao mesmo tempo tenha bases ecológicas com justiça social. Estimativas recentes indicam que esses insumos, voltados para uso em sistemas de cultivo orgânico no Brasil, já movimentam somas superiores a US\$ 60 milhões ao ano (HESPANHOL, 2006).

Exemplos de uso de material biológico como insumo na agricultura incluem desde o acesso ao material genético existente em bancos de germoplasma para uso em programas de melhoramento a insumos de base biotecnológica, bem como o emprego de microrganismos na fixação biológica de nitrogênio (FBN) e o controle biológico de pragas e doenças (ALTIERI, 2002).

A ênfase atual dirige-se à utilização de insumos de composição biológica como o *Bacillus thuringiensis*, um praguicida microbiológico amplamente utilizado no lugar dos inseticidas de origem química e comercializado através de grandes laboratórios. Este tipo de tecnologia está relacionado com o enfoque técnico dominante, conhecido como “substituição de insumos”. O impulso é basicamente tecnológico e se caracteriza por conservar a mesma mentalidade do fator limitante que tem dirigido a pesquisa agrícola convencional no passado (HESPANHOL, 2008).

O uso de microrganismos como bactérias fixadoras de nitrogênio, como inoculantes ou biofertilizantes, caracteriza-se como insumo biológico. Atualmente, o termo biofertilizante é utilizado, de forma mais generalizada, para todos os produtos que contêm microrganismos capazes de influenciar o desenvolvimento das plantas de forma positiva, incluindo os inoculantes de bactérias diazotróficas (REIS, 2006).

VESSEY (2003) considera que além de conter bactérias fixadoras de nitrogênio, os biofertilizantes podem conter diversos tipos de microrganismos com habilidade de converter

elementos da forma indisponível para a disponível, por meio de processos biológicos. Geralmente, biofertilizantes referem-se aos compostos de microrganismos que podem substituir parcial ou completamente os fertilizantes químicos (BASHAN, 1998).

Estudos microbiológicos com associações de microrganismos indicam que algumas bactérias interagem sinergicamente e promovem o fornecimento de nutrientes, a remoção de inibidores e o estímulo de outras atividades físicas e bioquímicas que podem resultar em benefícios para as plantas, como a fixação de nitrogênio.

Uma associação muito estudada refere-se ao *Azospirillum* em consórcio com outros microrganismos (BASHAN & HOLGUIN, 1997). Efeitos benéficos sobre o desenvolvimento de plantas têm sido constatados com *Azospirillum* e bactérias solubilizadoras de fosfato (BELIMOV et al., 1995), *Azospirillum* e *Streptomyces* (ELSHANSHOURY, 1995) e *Azospirillum* e *Phialophora radicola* (FLOURI et al., 1995).

Estudos sobre inoculação mista de bactérias diazotróficas com micorrizas arbusculares indicam que a interação sinérgica, entre esses microrganismos, pode resultar em um significativo aumento na absorção de fósforo, nitrogênio, zinco, cobre e ferro, com consequente aumento no desenvolvimento da planta (GORI & FAVILLI, 1995; ISOPI et al. 1995; BAREA, 1997).

A interação entre os rizóbios e as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas pode estimular a simbiose e favorecer o processo de FBN. O *Bacillus* pode aumentar a nodulação e a competitividade do rizóbio pelos múltiplos efeitos positivos na rizosfera das plantas. ARAÚJO et al. (2010), em experimento com feijão-caupi, verificaram que a coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* favoreceu um aumento de 50% na nodulação, revelando potencial para aumentar a fixação biológica do N<sub>2</sub> e o crescimento das plantas.

A literatura especializada apresenta comprovadas vantagens no uso de consórcios de estirpes quando comparados ao uso de uma só estirpe (BASHAN, 1998). JANZEN et al. (1992) observaram que o *Azospirillum* pode produzir mais fitohormônios quando desenvolvido em consórcio. HOLGUIN & BASHAN (1996) e LIPPI et al. (1992) verificaram que o consórcio de estirpes de rizóbios promove condições mais favoráveis para a fixação do nitrogênio. FROMMEL et al. (1991) comprovaram que microrganismos usados em controle biológico atuam de forma mais eficiente quando usados em inoculações mistas.

SATTAR et al. (1995) verificaram, na cultura de grão-de-bico, que inoculantes constituídos por consórcio de estirpes de *Bradyrhizobium* foram superiores e contribuíram para a formação de nódulos precocemente.

Verifica-se que várias são as possibilidades do uso de insumos biológicos, entre as quais se destaca a utilização de bactérias benéficas para a agricultura, como as diazotróficas, as promotoras de crescimento e os xenobiontes. Esses organismos propiciam às culturas comerciais benefícios referentes à redução do uso de fertilizantes químicos, redução dos danos causados por doenças, estímulo ao desenvolvimento vegetal e decomposição de pesticidas depositados no solo (PRADELLA et al., 2001).

Nesse aspecto, os estudos sobre fixação biológica de nitrogênio buscam elucidar as melhores interações entre o macrossimbionte e o microssimbionte que propiciem produções agrícolas sustentáveis e rentáveis.

## 2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio

A produtividade das culturas, principalmente em solos tropicais, é crucialmente alterada pelo aporte da nutrição nitrogenada (RESENDE et al., 2003). Apesar do nitrogênio gasoso ou dinitrogênio (N<sub>2</sub>) corresponder a 78% da constituição atmosférica, os vegetais são incapazes de assimilá-lo. Uma possibilidade para tornar o N atmosférico prontamente disponível para as culturas agrícolas é a fixação biológica do nitrogênio (FBN).

A FBN é o processo primário através do qual o nitrogênio, quimicamente indisponível para a maioria dos organismos, se torna fisiológica e metabolicamente disponível. Constitui a principal via de incorporação do nitrogênio à biosfera, contribuindo com cerca de 65% do total ou 96% da fixação por processos naturais. Após a fotossíntese, a FBN é o processo biológico mais importante para as plantas, sendo fundamental para a vida na Terra (HUNGRIA & CAMPO, 2005; UNKOVICH et al., 2008).

A fixação de nitrogênio no globo terrestre é estimada em 275 milhões de toneladas de N por ano, sendo 139 milhões de toneladas por ano fixadas pelos agrossistemas, 36 milhões de toneladas por ano pelos oceanos, 49 milhões de toneladas por ano fixadas industrialmente na produção de fertilizantes, 30 milhões por descargas elétricas e 21 milhões por outros processos químicos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; JENKINSON, 2001).

Nesse aspecto, a FBN nos sistemas agrícolas, é uma fonte sustentável de N, em contraste com a grande quantidade de energia fóssil utilizada no processo Haber-Bosch para produção de fertilizantes sintéticos (JENSEN & HAUGGAARD-NIELSEN, 2003).

A FBN é um processo biológico de quebra da tríplice ligação de  $N_2$  por meio de um complexo enzimático, denominado nitrogenase. O processo ocorre no interior de estruturas especializadas, denominadas nódulos, formados por meio da associação de bactérias diazotróficas com determinadas espécies vegetais da família *Leguminosae*.

A formação dos nódulos é um processo complexo que ocorre em várias etapas e envolve mudanças fisiológicas e morfológicas, tanto na célula hospedeira, como na bactéria. As mudanças na bactéria visam, principalmente, o recebimento de fontes de carbono da planta hospedeira, para prover o ATP e o poder redutor, necessários para o processo da FBN, enquanto que as mudanças na planta hospedeira visam assimilar a amônia produzida pelas bactérias (HUNGRIA & CAMPO, 2005).

Em todas as leguminosas a fixação de  $N_2$  não é iniciada até que a planta possa sustentar esta atividade, ou seja, ceder energia para que a bactéria possa entrar em atividade e fornecer o nitrogênio necessário, ou até que se esgote o nitrogênio presente na semente, e a planta, portanto, venha a sentir a falta deste elemento.

Diversos fatores biológicos, físicos e químicos podem interferir na FBN, limitando o estabelecimento, o desenvolvimento e o funcionamento da simbiose. Esses fatores podem ser bióticos ou abióticos e podem atuar sobre o microssimbionte e/ou sobre o macrossimbionte.

Além desses fatores a FBN é também influenciada por características genótípicas da leguminosa e do rizóbio, haja vista que é um processo modulado por uma intensa troca de sinais moleculares, os quais se refletem nas diferentes respostas em relação ao hospedeiro, à especificidade e à eficiência simbiótica (XAVIER et al., 2006).

Segundo FAUVART & MICHIELS (2008), a simbiose leguminosa-rizóbio requer uma intrincada comunicação molecular entre os componentes da interação, não só antes como também durante a invasão do microssimbionte. Sendo que a especificidade do hospedeiro é determinada por vários fatores e a do rizóbio é determinada principalmente por sinais moleculares como os fatores *nod*, os polissacarídeos e as proteínas secretadas.

O estabelecimento da faixa hospedeira é bastante variável entre as espécies de rizóbio e as leguminosas, sendo observada especificidade simbiótica entre as espécies, ou seja, o genótipo da planta pode desempenhar um papel essencial na seleção do microssimbionte (DEMEZAS et al., 1995; PAFFETTI et al., 1998).

Espécies de leguminosas tropicais, normalmente são capazes de nodular com uma ampla faixa de rizóbios. Por outro lado, a introdução de inoculantes contendo rizóbios eficientes, é dificultada, pois as estirpes nativas do solo, em geral, são muito competitivas (SANTOS, 2001).

De acordo com PERRET et al. (2000), estirpes de rizóbios e espécies de leguminosas podem variar de altamente promíscuas a estritamente específicas. Espécies de gêneros como

*Macroptilium*, *Phaseolus*, *Leucaena* e *Acácia* podem ser noduladas por várias espécies de mais de um gênero de bactérias, sendo, consideradas promíscuas. Por outro lado, espécies como *Sesbania virgata* só são noduladas por duas espécies de rizóbio (MOREIRA et al., 2006). Com relação à especificidade de estirpes de rizóbios, há relatos de alta promiscuidade como é o caso da NGR 234 que é capaz de nodular 136 hospedeiros e da *R. fredii* USDA 257 que nodula com 66 espécies de leguminosas.

PERRET et al. (2000), em uma revisão sobre bases moleculares da promiscuidade simbiótica, citam que estudos desenvolvidos no século XIX já indicavam a promiscuidade simbiótica de algumas bactérias, havendo relato de um experimento em que foi verificado que isolados de nódulos de *Medicago sativa* induziam a formação de nódulos em *Lupinus*, *Medicago sativa* e *Penicetum sativa*. Outro estudo similar mostrou que bactérias isoladas de 36 plantas formavam nódulos em *P. sativum*. Enquanto em ensaio anterior foi observado que bactérias de nódulos de *P. sativum* não eram capazes de nodular plantas das tribos *Genisteae* e *Hedysareae*.

Em solos tropicais a nodulação de diferentes espécies de leguminosas é mais influenciada pelo hospedeiro do que pelos rizóbios presentes nesses solos (RUMJANEK et al., 2005). SANGINGA et al. (1996) estudaram a nodulação de várias leguminosas em cinco sítios no Oeste da África e constataram que a mucuna não nodulava em 40% dos sítios, a crotalária não nodulava em nenhum dos sítios estudados, o *Stylosanthes* nodulava em quatro, o *Aeschynomene histrix* em dois e o guandu nodulou em três sítios. Essas ocorrências indicam diferentes níveis de especificidade inerentes a essas espécies.

O feijão-caupi é capaz de ser nodulado facilmente com um grupo de rizóbio presente no solo, designado como grupo miscelânea caupi ou rizóbio tropical, característica encontrada também em várias outras leguminosas de ocorrência nos trópicos (RUMJANEK et al., 2005). Existia um falso conceito a respeito da ampla dispersão dos rizóbios do grupo tropical e da faixa hospedeira ou de promiscuidade das espécies de leguminosas tropicais, como o feijão-caupi, em relação ao microssimbionte. No entanto, à medida que mais estudos estão sendo realizados, atualmente é reconhecido que nem todas as estirpes do grupo tropical são capazes de nodular o feijão-caupi (SANTOS et al., 2007).

XAVIER et al. (2006), estudando a especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades, observaram que a maior percentagem (95%) de ocupação em 6 dos 10 acessos de feijão-caupi testados foi decorrente da inoculação com a estirpe BR 3273, e a menor (20%) foi devido à estirpe BR 3269 em 8 dos 10 acessos de feijão-caupi. Esses dados sugeriram especificidade entre as estirpes avaliadas e os acessos de feijão-caupi.

SANTOS et al. (2007), avaliando a faixa de especificidade hospedeira de rizóbio isolado de nódulos das raízes de plantas da tribo *Aeschynomene* e sua eficiência simbiótica, verificaram a existência de sete grupos de inoculação cruzada entre os rizóbios isolados de *A. hypogaea*, *Stylosanthes* e *Aeschynomene*. Observaram também que os isolados testados não nodularam crotalária, feijão guandu, calopogônio e nodularam de forma ineficiente a cunhã, enquanto as plantas de feijão-caupi só nodularam com isolados provenientes de amendoim. Os resultados encontrados indicaram a existência de genes de especificidade em rizóbio de feijão-caupi.

Estudos dos genes relacionados à FBN têm mostrado níveis de especificidade diferentes dos observados em experimentos de inoculação cruzada. Um exemplo é que a soja costuma ser mais específica em relação ao microssimbionte, sendo nodulada por uma variedade menor de estirpes do que o feijão-caupi. No entanto, estudos de caracterização de genes da nodulação evidenciaram que a presença de alguns genes *nod* é essencial para a nodulação do feijão-caupi, o que não ocorre com a soja (GARCIA et al., 1996).

Além dos fatores relacionados à comunicação entre os dois parceiros da simbiose, a nodulação é influenciada também por fatores abióticos, tais como: temperatura, umidade, salinidade, acidez, toxidez de alumínio e baixa fertilidade do solo.

Temperaturas elevadas do solo, frequentemente, representam um dos principais fatores climáticos limitantes à FBN em regiões tropicais, uma vez que afetam praticamente todas as etapas de crescimento do rizóbio e das plantas hospedeiras, sendo os efeitos ainda mais drásticos na simbiose. HUNGRIA & VARGAS (2000) consideram que tradicionalmente, os limites de temperatura para a FBN com leguminosas tropicais se situam entre 27 e 40 °C. ARAÚJO et al. (2006) citam que a faixa de temperatura ótima para a nodulação encontra-se entre 25 e 32 °C, podendo ocorrer uma variação maior entre as diferentes espécies cultivadas.

SILVA JUNIOR et al. (1996), em um estudo de seleção de estirpes tolerantes a altas temperaturas, obtiveram um total de 26 estirpes, isoladas da região semi-árida, que apresentaram resultados acima da média para a nodulação e a atividade da nitrogenase.

Ensaio em meio de cultura revelaram que 25% dos isolados de rizóbios de nódulos de feijão-caupi, cultivado em solos da região Nordeste do Brasil, foram capazes de crescer a temperaturas de até 42 °C, o que sugere a adaptação dessas estirpes às condições de estresse térmico característicos da região (XAVIER et al., 1997).

A deficiência hídrica, além de prejudicar o desenvolvimento das plantas, influencia a atividade fisiológica dos microrganismos e sua sobrevivência, afetando, portanto, a FBN. Períodos de seca antes da germinação podem afetar a nodulação, sendo mais drástico o efeito quanto maior for o intervalo de tempo. Os trabalhos de STAMFORD et al. (1990) revelaram que a suspensão de água na 2ª e 5ª semana reduziu o peso dos nódulos e o acúmulo de N-total da parte aérea de plantas de feijão-caupi.

Após estresse hídrico, nódulos de crescimento indeterminado podem reiniciar o crescimento e a atividade, enquanto nódulos de crescimento determinado, dependendo da intensidade do estresse, podem senescer (ARAÚJO et al., 2006).

MARTINS (2003), estudando o comportamento de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado em área de sequeiro e irrigada no semi-árido brasileiro, verificou que durante os meses de seca a população de rizóbio capaz de nodular o feijão-caupi era bastante baixa (10 células por grama de solo) e que tendia a diminuir à medida que o déficit hídrico aumentava. SILVEIRA et al. (2001) avaliaram a nodulação e a atividade dos nódulos de feijão-caupi submetido a estresse hídrico e observaram que houve declínio na massa dos nódulos e diminuição da atividade da glutamina sintetase e do conteúdo de leghemoglobina nos nódulos.

O processo da FBN é influenciado também pela fertilidade do solo. O fósforo (P) é considerado um nutriente de grande importância para o estabelecimento de uma boa nodulação. O nitrogênio (N), entre os nutrientes é o que apresenta maior efeito sobre o processo e quando em excesso reduz drasticamente a FBN. Entre os micronutrientes, destaca-se o molibdênio (Mo) que é o elemento-chave contido na nitrogenase, responsável pela transferência final dos elétrons para o N<sub>2</sub>.

A importância do molibdênio no processo da FBN foi, primeiramente, descrita por BORTELS (1930), que demonstrou que *Azotobacter vinelandii*, quando inoculado em meio de cultura sem N combinado, necessitava de Mo para crescer, o que não ocorria se a fonte de N do meio de cultura fosse o amônio. Posteriormente, BULEN & LeCONTE (1966) demonstraram que a nitrogenase purificada continha molibdênio.

BINNECK et al. (2000) estudaram a influência da inoculação de sementes de trevo branco (*Trifolium repens* L.), com *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* e a aplicação de molibdênio, sobre a nodulação, crescimento e acúmulo de nitrogênio na parte aérea. Concluíram que o Mo aplicado, via semente no momento da inoculação, proporcionou aumentos significativos na nodulação (73%) e na fixação biológica de nitrogênio (38%).



KUSDRA (2003) avaliou os efeitos isolados e combinados do *Rhizobium tropici*, do *Bacillus subtilis*, do molibdênio e do cobalto, adicionados via semente, na nodulação, na fixação biológica do nitrogênio, no crescimento das plantas e na produção de grãos de feijoeiro. Os resultados obtidos indicaram que o molibdênio contribuiu para o aumento da quantidade de nitrogênio total na parte aérea das plantas, assim como para o incremento do número de vagens e de grãos e da massa de grãos, apresentando, portanto, potencial para aumentar o rendimento da cultura.

Resultados divergentes foram relatados por ALBINO & CAMPO (2001) e CAIRES & ROSOLEM (2000). Estes, por sua vez estudaram a nodulação e a absorção de nitrogênio pelo amendoim, em resposta à calagem, cobalto e molibdênio, e evidenciaram que apesar do molibdênio ter aumentado a matéria seca de nódulos na planta de amendoim, a sua aplicação não influenciou a absorção de nitrogênio, mostrando que a redução da toxicidade de manganês pela calagem foi mais importante do que o aumento da disponibilidade de molibdênio para a formação de nódulos e a fixação simbiótica do N<sub>2</sub>.

ALBINO & CAMPO (2001), estudando o efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência do *Bradyrhizobium* e na fixação biológica de nitrogênio em soja, concluíram que as estirpes de *Bradyrhizobium* SEMIA 587, SEMIA 5019, SEMIA 5079 e SEMIA 5080 diferiam quanto à tolerância a fontes e doses de molibdênio e que a SEMIA 5080 apresentava melhor crescimento. Também verificaram, com relação ao manejo, que a aplicação de Mo nas sementes, em virtude de seu contato com o inoculante, reduzia o número de células de *Bradyrhizobium*, bem como a nodulação e a FBN.

Nas leguminosas, a FBN é bastante variável dependendo da espécie, havendo um grande potencial para aumento da contribuição na fixação de nitrogênio entre as espécies. HERRIDGE & DANSO (1995) consideram que o incremento dessa contribuição poderia ocorrer por meio do aumento da área de produção de leguminosas, da melhoria do manejo da cultura, que favorecesse os determinantes de produtividade e pela modificação genética de espécies que promovesse alta dependência da cultura à fixação biológica de N e alta produtividade.

Nos estudos de FBN muita atenção tem sido dada ao microssimbionte, tendo-se informações que englobam desde análises fisiológicas até análises da expressão do genoma. O mesmo não tem ocorrido em relação ao macrossimbionte. RUMJANEK et al. (2005) concluíram que isso se deve às dificuldades inerentes, decorrentes da complexidade do genoma da célula vegetal. Graças ao desenvolvimento da Genética Molecular Vegetal, tem-se observado, nos últimos anos, um avanço expressivo na compreensão dos mecanismos que regulam o processo de FBN na planta.

Considera-se que a relação simbiótica é muito específica, devido ambas, bactérias e plantas, realizarem uma troca de sinais moleculares que regulam a expressão de genes para a infecção e desenvolvimento dos nódulos (LINCOLN & ZEIGER, 2004). Diante disso, vários trabalhos buscam a maximização da eficiência simbiótica entre plantas e estirpes de *Bradyrhizobium*, visando à obtenção de incrementos na produtividade das culturas (SOUZA et al., 2008).

Existem relatos bastante antigos com relação à variabilidade da FBN, entre genótipos de uma mesma espécie. A variabilidade entre genótipos de soja quanto à fixação de N<sub>2</sub> foi observada no Brasil desde a década de 60 (DÖBEREINER & ARRUDA, 1967) e posteriormente alguns trabalhos foram desenvolvidos com esse enfoque (VARGAS et al., 1982; GALLI, 1987).

A princípio a importância do genótipo hospedeiro era atribuída, quase sempre, à sua capacidade fotossintética. Considerava-se que nos períodos de máxima FBN, pode ocorrer um desvio de 10 a 30% dos fotossintatos totais da planta e, como as leguminosas são plantas

do ciclo C<sub>3</sub>, caracterizadas pela fotorrespiração elevada e baixa taxa fotossintética líquida, a fotossíntese estava intimamente relacionada à FBN.

O papel da fotossíntese ficou ainda mais evidente após os experimentos conduzidos por HARDY & HAVELKA (1975), nos quais a aplicação de CO<sub>2</sub> aumentava consideravelmente as taxas de FBN. A partir daí, inúmeros trabalhos foram conduzidos, em que a manipulação dos fotossintatos enviados para os nódulos afetava imediatamente a FBN (HUNGRIA & NEVES, 1986).

A determinação de características que possam ser utilizadas em um programa de melhoramento do feijão-caupi para FBN, aliada à complexidade do genoma do macrossimbionte, são as dificuldades comumente encontradas, apesar da grande variabilidade de germoplasma disponível (RUMJANEK et al., 2005).

BELANE & DAKORA (2009) citam que os dados de FBN obtidos com a cultura do feijão-caupi têm sido muito variáveis, sugerindo a necessidade de um programa de melhoramento para o incremento da FBN. Existe, portanto, a necessidade de identificar genótipos com alta fixação de N<sub>2</sub> e que possam dessa forma contribuir para o aumento das produtividades.

Alguns parâmetros diretamente relacionados com a FBN têm sido recomendados para programas de melhoramento, entre eles o peso de nódulos e o N total acumulado pela parte aérea. Esses parâmetros mostram correlações significativas com a quantidade de N fixado e permitem uma redução substancial no tempo, nos custos e nos materiais dos programas de melhoramento genético (ANKOMAH et al., 1996).

No Brasil, estudos realizados por STAMFORD (1978) e STAMFORD & NEPTUNE (1979) com diferentes cultivares de feijão-caupi associadas com estirpes pré-selecionadas ou estirpes nativas mostraram uma ampla variabilidade de respostas quanto ao N total acumulado e ao peso de nódulos.

Em outro estudo, compreendendo a inoculação de dez cultivares de feijão-caupi de diferentes regiões geográficas (Brasil, Nigéria e EUA), com cinco estirpes de rizóbio isoladas, da Região Nordeste brasileira, também foi observada uma ampla variabilidade de resposta quanto ao número e ao peso de nódulos. Foram observadas respostas diferentes de nodulação, a exemplo de Galanjão - CE, cultivar que apresentou 90% dos nódulos ocupados pela estirpe 5s13 (XAVIER, 2000).

NDIAYE et al. (2000), em estudo com 16 cultivares de feijão-caupi inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium* coletadas no oeste da África, quantificaram a percentagem de N derivado da atmosfera (%Nd<sub>fa</sub>) e observaram diferenças significativas de N acumulado nas diferentes partes da planta. A maior %Nd<sub>fa</sub> (74,33% na parte aérea e 60,90% na raiz) e maior acúmulo de N fixado (960 mg N planta<sup>-1</sup> na parte aérea e 38 mg N planta<sup>-1</sup> na raiz) foi apresentado pela cultivar Ndoute. Os autores concluíram que essa cultivar poderia ser utilizada em programas de melhoramento do feijão-caupi na África, e contribuir com a geração de cultivares eficientes em FBN.

A característica mais priorizada em programas de melhoramento é o rendimento de grãos, por conta do seu valor econômico, porém, existem indicações de que, em feijão-caupi, a distribuição de N nas vagens é dependente da estirpe de rizóbio formadora dos nódulos, o que indica as limitações de programas que não levam em consideração os dois parceiros simbiotes (RUMJANEK et al., 2005).

HERRIDGE et al. (2001) citam que o incremento na FBN por meio do melhoramento genético e do manejo eficiente tem um alto benefício econômico, no entanto, nem sempre os resultados são favoráveis. Muitas razões contribuem para tal, como a dificuldade em combinar características como a fixação de nitrogênio com outras características, tais como resistência a doenças, qualidade das sementes e produtividade.

O desafio para melhorar a capacidade de fixação de  $N_2$  das leguminosas, por meio do melhoramento, é complexo porque existem dois componentes a serem considerados: a planta hospedeira e o rizóbio. Muitos programas de seleção ignoram esse aspecto, mas a complexidade da interação evidencia que a seleção concomitante dos parceiros simbióticos deveria ser priorizada (RANALLI & CUBERO, 1997).

O conhecimento da capacidade da FBN pelas culturas pode auxiliar na tomada de decisão quanto ao manejo do solo e da cultura, consistindo numa forma de aumentar a produtividade. Os benefícios, nesse aspecto, serão econômicos devido ao não uso de fertilizantes nitrogenados e também ambientais, pela economia de energia para a produção de fertilizantes nitrogenados e pela mitigação de riscos de poluição dos recursos hídricos, por nitrato, e da atmosfera, por óxido nitroso, quando do manejo inadequado do fertilizante (BRITO et al., 2009).

### **2.3. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio**

Entre os mais variados assuntos referentes à FBN, a quantificação de sua contribuição é de fundamental importância para potencializar e viabilizar novas formas de manejo. Com este objetivo existem várias técnicas de quantificação, dentre as quais se destacam as seguintes: diferença de N total; balanço do N total; redução de acetileno e as técnicas isotópicas.

#### **2.3.1. Diferença do N-total do sistema solo-planta**

Foi uma das primeiras técnicas a ser utilizada e assim como as demais metodologias, sua eficiência para estimar a contribuição da fixação às plantas é maior, quanto maior for o nível da contribuição da FBN (RESENDE et al., 2003).

Os princípios dessa técnica baseiam-se em cultivar uma planta referência (não fixadora) e a planta teste (fixadora) em meios pobres em nitrogênio. Como premissa básica, esta técnica assume que tanto a planta teste como a testemunha acumulam a mesma quantidade de nitrogênio derivada do meio de cultivo.

A maior eficiência desta técnica é detectada para plantas que apresentem maior nível de contribuição da FBN, assim sua aplicação é mais indicada para plantas da família das leguminosas, que apresentam esta característica (RESENDE et al., 2003).

#### **2.3.2. Balanço de N-total do sistema solo-planta**

Esta técnica baseia-se em medir as entradas e saídas de N no sistema solo-planta-atmosfera, calculando-se a diferença entre ambos e obtendo-se ganhos de N quando ocorrer fixação. O balanço deve incluir todas as entradas e saídas de N (UNKOVICH et al., 2008).

Alguns erros podem ocorrer com a aplicação dessa técnica, por exemplo, solos ricos em N tendem a aumentar os erros da estimativa da FBN, pois o N acumulado nas plantas é muito inferior ao nitrogênio total presente no solo e dessa forma, erros associados a amostragem e análise de N afetam o cálculo do balanço. Um erro de 5%, que é comum em análises laboratoriais, pode corresponder a 100-200 kg ha<sup>-1</sup> de N (ALVES et al., 1994).

Apesar de teoricamente simples e de não exigir equipamentos sofisticados, a metodologia apresenta as desvantagens de não distinguir diretamente se houve a incorporação na planta de qualquer  $N_2$  que tenha sido fixado e de exigir a manutenção do experimento por vários cultivos consecutivos (RESENDE et al., 2003).

### 2.3.3. Redução de acetileno

A redução de acetileno é uma ferramenta utilizada normalmente para detectar a atividade da enzima nitrogenase, responsável pela fixação biológica de nitrogênio.

Esta técnica tem por principais vantagens sua simplicidade e sua alta sensibilidade para detectar a atividade desta enzima. Considerando-se que a nitrogenase é a enzima responsável pela redução biológica do nitrogênio em amônia, o princípio dessa técnica baseia-se justamente no fato do acetileno ( $C_2H_2$ ) ser reduzido pela nitrogenase a etileno (RESENDE et al., 2003).

Sua utilização como método de quantificação da FBN para as plantas é questionada por muitos autores que ressaltam que se trata de uma medida pontual, considerando-se que a taxa de contribuição da FBN apresenta sazonalidade ao longo do dia e do período de crescimento das plantas (UNKOVICH & PATE, 2001).

### 2.3.4. Técnicas isotópicas

Dentre as técnicas isotópicas destacam-se a do  $N_2$  marcado isotopicamente (MEEKS et al., 1978), a da diluição isotópica de  $^{15}N$  (BODDEY et al., 1995) e a da abundância natural de  $d^{15}N$  (SHEARER e KOHL, 1986). Estes métodos são capazes de distinguir o nitrogênio que a planta assimilou do ar ( $N_2$ ) e o N do solo.

A técnica do uso de  $N_2$  marcado considera que na natureza existem dois isótopos estáveis do nitrogênio, o de massa 14 e o de massa 15. No ar, a proporção média em que são encontrados é de 99,6337 e 0,3663 % de átomos de  $^{14}N_2$  e  $^{15}N_2$ , respectivamente. Sendo essa proporção denominada abundância natural de  $^{14}N_2$  e  $^{15}N_2$ . Esta proporção admite pequenas variações tanto no solo como nas plantas (UNKOVICH & PATE, 2000).

Para a utilização da técnica, é necessário que o  $N_2$  marcado seja puro, livre de compostos nitrogenados e que a marcação obtida nas plantas seja suficientemente alta para não ser confundida com variações na abundância natural (PEOPLES & HERRIDGE, 2000; UNKOVICH et al., 2008).

Para aplicação desta técnica há a necessidade da construção de câmaras para a incubação e crescimento das plantas. A aplicação desta técnica requer o controle de vazamentos de gás nestas câmaras, além da manutenção de uma atmosfera normal para as plantas, controlando-se  $O_2$ ,  $CO_2$ , transpiração, intensidade de luz, temperatura, etc., visando manter o metabolismo vegetal normal (RESENDE et al., 2003).

Outra técnica com isótopos estáveis é a da diluição isotópica de  $^{15}N$ . Esta técnica tem a vantagem de ser integrativa, permitindo quantificar a contribuição da FBN no ciclo da cultura, do plantio até a colheita, e de se avaliar o N fixado que foi incorporado dentro da planta. Portanto, pode-se medir o benefício da FBN durante o crescimento das plantas (UNKOVICH et al., 2008).

A técnica baseia-se na alteração da proporção natural entre os isótopos  $^{15}N$  e  $^{14}N$ , acrescentando-se ao substrato das plantas a serem testadas. Os adubos nitrogenados são artificialmente enriquecidos (at.%  $^{15}N > 0,3663$ ) em proporção conhecida. Plantas que só obtenham nitrogênio do solo marcado possuirão um enriquecimento em  $^{15}N$  semelhante ao do solo marcado. Por outro lado, plantas que obtenham além do N marcado proveniente do solo, N atmosférico (não marcado), sofrem uma diluição no seu enriquecimento em  $^{15}N$ . Quanto maior a magnitude da diluição, maior a quantidade de N atmosférico incorporado e, por conseguinte, maior a contribuição da FBN (UNKOVICH et al., 2008).

A técnica da abundância natural de  $^{15}N$  (delta  $^{15}N$ ), nos últimos anos, vem ganhando destaque em nível de campo, principalmente com o aperfeiçoamento da sensibilidade dos espectrômetros de massas atuais (ALVES et al., 2006). Esta técnica baseia-se no fato de que geralmente, o N do solo é levemente enriquecido com o isótopo  $^{15}N$  em comparação ao  $N_2$  do

ar. No entanto, devido à discriminação isotópica que ocorre durante as transformações do nitrogênio no sistema solo-planta, ambos podem apresentar valores de  $^{15}\text{N}$  um pouco maiores que os encontrados na atmosfera (SHEARER & KOHL, 1986).

Essa técnica, como todas as outras utilizadas na determinação da contribuição da FBN para as plantas, também apresenta limitações. Assim como as outras técnicas isotópicas, depende da premissa básica de que as plantas fixadoras e não-fixadoras, crescendo no mesmo solo, absorvam nitrogênio com a mesma marcação de  $^{15}\text{N}$  (UNKOVICH et al., 2008). Esta limitação pode ser contornada selecionando-se espécies-referência, com desenvolvimento radicular e demanda de N semelhantes à planta avaliada. Outra limitação do método consiste no alto custo das análises e a necessidade de um maior cuidado com a manipulação das amostras (BODDEY et al., 2001).

Apesar das limitações, a aplicação da técnica da abundância natural tem contribuído para um expressivo conhecimento da fixação de  $\text{N}_2$  e dos fatores que afetam o processo no campo (ARAÚJO, 2004). Isto porque os métodos baseados na diluição isotópica fornecem os melhores meios para quantificar a fixação sob condições de campo e desvendar os fatores que otimizam a FBN (HARDARSON & ATKINS, 2003).

Atualmente considera-se que as técnicas isotópicas apresentam melhor capacidade de discriminar e quantificar diretamente a fonte de N utilizada pela planta, além disso, são as que melhor se aplicam para a estimativa da FBN em culturas de plantas não leguminosas. No entanto, existe uma carência de trabalhos com o uso de técnicas adequadas que quantifiquem a contribuição do processo de FBN nas diversas culturas nas condições de áreas de produção.

#### **2.4. Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura do Feijão-caupi**

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma leguminosa rústica e nutritiva, que apresenta grande versatilidade, adaptando-se a diferentes condições ambientais. É também uma espécie de grande valor genético, possuindo genes de resistência a estresses que lhe conferem ampla adaptação edafoclimática e alto potencial produtivo. Em virtude de sua importância agrônômica, foi uma das poucas espécies vegetais escolhidas pela NASA (Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica) para ser cultivada e estudada (EHLERS & HALL, 1997).

Nas regiões Norte e Nordeste, esta cultura desempenha um papel importante na alimentação e na geração de empregos para a população de baixa renda. Segundo FREIRE FILHO et al. (2005a), a cultura do feijão-caupi no Brasil gera, anualmente, cerca de 2,4 milhões de empregos diretos, além de compor a dieta de pelo menos 27,5 milhões de pessoas.

No entanto, apesar de sua importância econômica, social e cultural e amplo cultivo, a produtividade de grãos secos do feijão-caupi é muito baixa, na faixa de 300 a 400 kg ha<sup>-1</sup> (FROTA & PEREIRA, 2000). Patamar este, abaixo da produtividade de 3 t ha<sup>-1</sup> obtida em condições experimentais (BEZERRA, 1997) e do potencial produtivo que é de 6 t ha<sup>-1</sup> (FREIRE FILHO et al., 1998).

Embora apresente baixa produtividade, o cultivo dessa leguminosa é estratégico para a Região Nordeste devido às suas boas características nutricionais, sua rusticidade, adaptabilidade à baixa fertilidade do solo e tolerância à seca, temperaturas elevadas e salinidade. No estudo de cenários futuros, seu cultivo merece destaque frente às perspectivas de aquecimento global, e ao aumento das áreas sanilizadas e desertificadas.

A cultura do feijão-caupi, até a década de 90, era quase exclusivamente voltada para pequenos e médios agricultores de base familiar com baixo nível tecnológico. Recentemente, a cultura vem ocupando outros cenários agrícolas, cerrados e perímetros irrigados, na entressafra da cultura da soja, em áreas de grandes agricultores, que utilizam colheita

mecanizada e práticas de correção e adubação do solo, inclusive com aplicação de adubos nitrogenados, com doses superiores a 80 kg N ha<sup>-1</sup> (XAVIER et al., 2007a).

Recentemente, o cultivo do feijão-caupi vem se expandindo para a região dos cerrados das regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, onde é incorporado nos arranjos produtivos como safrinha após as culturas de soja, milho e algodão e também como cultura principal. Quando cultivado na forma de safrinha tem um custo muito competitivo, fator que tem aumentado o interesse dos produtores pela cultura. Além disso, a produção é de alta qualidade, o que possibilita sua boa aceitação por parte de comerciantes, agroindústrias, distribuidores e consumidores (FREIRE FILHO et al., 2009d).

São reconhecidos os benefícios do processo da FBN na interação entre o feijão-caupi e estirpes de rizóbios, cujas estimativas de economia anual estão na ordem de US\$ 70 milhões em fertilizantes nitrogenados, considerando-se a área cultivada, a média de produtividade, o teor de N nos grãos e o custo de fertilizantes nitrogenados no Brasil (ZILLI et al., 2009b).

No entanto, estudos para a otimização da FBN no feijão-caupi são ainda iniciativas singulares e restritas a profissionais de áreas ligadas à microbiologia no Brasil, com ênfase na seleção e caracterização de estirpes de rizóbios isoladas de áreas produtoras (MARTINS et al., 1998; XAVIER et al., 1998, MARTINS et al., 2003, XAVIER et al., 2006).

Em termos de quantidade de N<sub>2</sub> fixada pelo feijão-caupi, existem dados que indicam contribuições superiores a 100 kg ha<sup>-1</sup>, embora esses valores sejam variáveis, especialmente em avaliações de campo (WANI et al., 1995). Este fato tem sido relacionado, principalmente, com a provável promiscuidade da simbiose entre plantas de feijão-caupi e estirpes de rizóbio nativas dos solos tropicais. ADJEI-NSIAH et al. (2008) citam que o feijão-caupi pode fixar mais de 50% do N necessário ao seu desenvolvimento (80 kg ha<sup>-1</sup>), podendo contribuir com mais de 200 kg ha<sup>-1</sup> com o processo da FBN.

A literatura especializada mostra que para a cultura do feijão-caupi, a seleção de estirpes tem sido o principal recurso objetivando a otimização da FBN, no entanto, a seleção de cultivares para essa finalidade não tem sido utilizada (RUMJANEK et al., 2006). O que indica que embora o microssimbionte esteja sendo muito bem estudado tem sido obtido pouca informação com relação ao macrossimbionte, nos aspectos relacionados à FBN.

RUMJANEK et al. (2005) citam que ao se considerar a complexidade da interação na FBN, a seleção concomitante dos parceiros simbióticos deveria ser priorizada, pois existem diversas evidências da interação dos diferentes parceiros no desempenho da associação. Nesse contexto, a seleção e o melhoramento de cultivares de feijão-caupi para otimizar a FBN poderá proporcionar aumentos de produtividade, principalmente quando realizada em conjunto com estirpes previamente selecionadas quanto à eficiência e competitividade.

O feijão-caupi é capaz de nodular e estabelecer simbiose com diversas espécies de bactérias do grupo rizóbio, incluídos os gêneros *Azorhizobium*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, entre outros (ZHANG et al., 2007; MOREIRA, 2008). Apesar de representar uma vantagem ecológica para a adaptação desse vegetal, é um fator limitante ao uso de inoculantes rizobianos em sistemas agrícolas (XAVIER et al., 2006; HARA & OLIVEIRA, 2007), em função da baixa especificidade da cultura em relação ao microssimbionte, uma vez que as bactérias nodulantes estabelecidas no solo, além de serem competitivas e estarem em número elevado, apresentam eficiência variável na FBN (HARA & OLIVEIRA, 2007).

Desta forma, apesar de ser uma das leguminosas com maior capacidade em fixar nitrogênio atmosférico, a ocorrência de nodulação espontânea e, principalmente, a falta de resultados positivos em condições de campo, faz com que a prática de inoculação ainda não seja uma realidade para esta cultura no Brasil.

Há relatos da associação do feijão-caupi com pelo menos seis espécies de rizóbio: *B. japonicum*, *B. elkanii*, *Sinorhizobium fredii*, *S. xinjiangensis*, *Rhizobium hainanense* e *R.*

*tropici*, além de outras estirpes de *Bradyrhizobium* cujas espécies não foram identificadas (ZILLI et al., 2006).

Os estudos de FBN em feijão-caupi têm focado principalmente nas espécies *B. japonicum* e *B. elkanii*, pelo fato delas apresentarem maiores contribuições para a FBN, na maioria das leguminosas herbáceas, em regiões de clima tropical (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Quanto à recomendação de estirpes para a cultura do feijão-caupi, na última década, a pesquisa indicou as seguintes estirpes SEMIA 6461 (UFLA 3-84) - BR 3302; SEMIA 6462 (BR3267); SEMIA 6463 (INPA 03-11B) - BR 3301 e BR 3262. Essas estirpes foram aprovadas pela RELARE (Rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbianos de interesse agrícola) e reconhecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), passando a fazer parte da relação dos microrganismos autorizados para produção de inoculantes comerciais à cultura do feijão-caupi no Brasil (ZILLI et al., 2009b).

A estirpe BR 3267 foi isolada na região semi-árida pernambucana e caracterizada como *Bradyrhizobium japonicum*. As estirpes INPA03-11B (BR 3301) e UFLA03-84 (BR 3302) caracterizadas como *Bradyrhizobium sp* foram selecionadas de solos da Amazônia, dos estados de Manaus e Rondônia, respectivamente. A BR 3262 foi recomendada para inoculação em feijão-caupi e isolada do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) em Seropédica, RJ e caracterizada como *Bradyrhizobium elkanii* (ZILLI et al., 2006).

Nos últimos anos, tem se destacado a estirpe BR 3299, que foi isolada da Zona da Mata (Aracaju - SE) e vem apresentando resultados promissores em vários estudos, embora ainda não tenha sido recomendada pelo MAPA.

Baseado nos diversos estudos envolvidos com a especificidade hospedeira de rizóbios e bradirrizóbios fica evidente, que um alto grau de especificidade em relação ao hospedeiro parece ser a exceção e não a regra. PERRET et al., (2000) citam que a especificidade representa a habilidade de uma estirpe de rizóbio provocar a nodulação e, ou, fixar N<sub>2</sub> quando associada a cultivares ou espécies do hospedeiro específico, sendo por isso uma importante característica a ser considerada em programas de seleção de novas estirpes.

Segundo PERRET et al. (2000), os rizóbios seriam, na realidade, parasitas extremamente refinados, que por meio de uma evolução conjunta com o hospedeiro transformaram o processo parasitário em simbiótico. Essa afirmação baseia-se no fato de que vários genes necessários para parasitismo e amplitude de hospedeiros em *Rhizobium* são similares àqueles presentes em *Agrobacterium*, bactéria patogênica, também classificada na família Rhizobiaceae.

Em estudo comparando acessos de feijão-caupi originados do Brasil, Estados Unidos e Nigéria, XAVIER et al. (2004) observaram seletividade na interação entre esses acessos com as estirpes utilizadas como inoculantes, caracterizando a importância do componente vegetal (XAVIER et al., 2005).

NICOLÁS et al. (2002), estudando a genética da nodulação e a fixação de nitrogênio em cultivares de soja do Brasil, avaliaram quatro cultivares com diferentes capacidades para FBN em cruzamentos simples e concluíram que dois dos cruzamentos testados originaram materiais adequados para uso em programas de melhoramento genético tendo como objetivo o aumento do potencial de FBN.

FALL et al. (2003), em estudos de diversidade genética com cultivares de feijão-caupi verificaram bons resultados de nodulação tanto com a estirpe ISRA312 como com a estirpe NGR234, o que indicou que o feijão-caupi pode ser nodulado por mais de uma estirpe e que a FBN é dependente tanto do macrossimbionte como do microssimbionte.

Em estudos da funcionalidade simbiótica e biodiversidade de *Bradyrhizobium* em feijão-caupi, PULE-MEULENBERG et al. (2010) verificaram diferenças no desenvolvimento

das plantas e na quantidade de N<sub>2</sub> fixado. Os autores concluíram que o feijão-caupi é fortemente dependente da fixação de N<sub>2</sub> e que a diferença na diversidade e na eficiência simbiótica depende da interação genótipo x ambiente.

Outros estudos de interação entre cultivares de feijão-caupi e estirpes de rizóbios, recomendados para essa cultura, vêm sendo desenvolvidos e têm apresentado resultados significantes sobre a seletividade da interação do macrossimbionte e microssimbionte (ZILLI et al., 2006; CARVALHO et al., 2008; GUALTER et al., 2008; ZILLI et al., 2009a; MELO & ZILLI, 2009; CHAGAS JÚNIOR et al., 2010).

CARVALHO et al. (2008) observaram que, em feijão-caupi (cultivar IPA 206) inoculado com variantes isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp, a produção de matéria seca foi inferior ou equivalente à testemunha nitrogenada. Os autores concluíram que a cultura do feijão-caupi pode responder favoravelmente à inoculação, dependendo do tipo de solo, número, efetividade e grau de especificidade das estirpes nativas.

XAVIER et al. (2007b), estudando a ontogenia da nodulação das cultivares de feijão-caupi, BRS Marataoã e BRS Guariba, em interação com a estirpe BR 2001 de *Bradyrhizobium*, concluíram que essas cultivares apresentavam comportamento semelhante em relação à nodulação, com aumento inicial no número de nódulos e diminuição gradativa até o final do ciclo fenológico das plantas.

GUALTER et al. (2008), avaliando os efeitos da interação entre a cultivar de feijão-caupi BRS Guariba e a estirpe de rizóbio BR 3262 sobre a nodulação, desenvolvimento vegetativo e produtividade de grãos da interação, observaram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação para massa seca da raiz (aos 35 e 50 DAE), massa seca da parte aérea (aos 35 DAE), acúmulo de N na parte aérea (aos 35 DAE) e produtividade.

TADINI et al. (2008), verificando a interação entre estirpes de *Bradyrhizobium* (BR 3267 e BR 3299) e cultivares de feijão-caupi (Mauá, Canapu, Corujinha, Olho de Peixe, IPA 206, BR 17 Gurguéia, BRS Milênio, BRS Mazagão e BRS Marataoã) observaram que as cultivares de feijão-caupi respondem de maneira diferenciada à inoculação com a mesma estirpe.

ZILLI et al. (2006), em estudos de avaliação da contribuição de estirpes de *Bradyrhizobium* para a fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi (cultivar BR 17 Gurguéia), observaram que os tratamentos com inoculação da estirpe BR 3267 apresentaram produção pelo menos 15% maior de matéria seca que o tratamento com a estirpe BR 2001. Verificaram também que a estirpe BR 3267 apresentou valores significativamente superiores às estirpes BR 3277, BR 3283 e BR 3285, em massa seca de nódulos.

Em estudo anterior VASCONCELOS et al. (1976) observaram que aos 15 DAE iniciava-se a nodulação e que o período de maior nodulação ocorria entre 35 e 45 DAE. Por sua vez, SILVEIRA et al. (1998) verificaram que a maior taxa de crescimento dos nódulos e de N na planta ocorria durante a fase de florescimento.

ALCANTARA et al. (2006) avaliando a eficiência agrônômica de estirpes de *Bradyrhizobium* (INPA 03-11B, UFLA 3-84, BR 3267 e BR 3262) associadas a cultivar de feijão-caupi, BR 17-Gurguéia, concluíram que a estirpe UFLA 3-84 proporcionou maiores índices de número de nódulos por planta, massa seca de nódulos por planta, concentração de nitrogênio total no tecido vegetal e concentração de nitrogênio total nos nódulos.

A relação entre a nodulação e o desenvolvimento do feijão-caupi é importante para a avaliação da FBN, visto que possibilita a definição do período do ciclo da planta em que ocorre maior intensidade de fixação biológica. Segundo XAVIER et al. (2007b), a nodulação do feijão-caupi inicia-se entre 8 e 10 dias após emergência das plantas (DAE), atinge pico no florescimento e a partir dessa fase os nódulos senescem.



A FBN é, portanto, reconhecidamente eficiente em feijão-caupi e este quando bem nodulado pode dispensar outras fontes de nitrogênio e atingir altos níveis de produtividade, como ocorre com a soja.

No Brasil, graças ao processo de FBN, a inoculação substitui totalmente a necessidade do uso de adubos nitrogenados nas lavouras de soja. A economia proporcionada pela não utilização de adubos nitrogenados é da ordem de R\$ 15,5 bilhões, algo em torno de US\$ 9 bilhões de dólares se considerarmos os 23,5 milhões de hectares plantados com soja. Estes dados baseiam-se no fato de que para uma produção média de 48,6 sacos ha<sup>-1</sup> (safra 2009/2010) seria necessários 584 kg uréia ha<sup>-1</sup>, a um custo médio de R\$ 668,00 ha<sup>-1</sup> (outubro de 2010) e que o custo por hectare da inoculação é de R\$ 8,00 (MENDES et al., 2011).

## **2.5. Melhoramento Genético da Cultura do Feijão-caupi no Brasil**

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma importante leguminosa cultivada em aproximadamente 65 países das regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Oceania, Europa, África, América do Norte, América Central e América do Sul.

De acordo com a FAO (2011), 68% da produção mundial de feijão-caupi é produzida no oeste da África em aproximadamente 12 milhões de hectares. SINGH (2006) cita que o cultivo mundial do feijão-caupi corresponde a aproximadamente 14,5 milhões de hectares com uma produção anual acima de 4,5 milhões de toneladas. Sendo que, o maior volume de sua produção é originada das regiões mais secas do Norte da Nigéria (5 milhões de hectares e 2,3 milhões de toneladas), do Níger (3 milhões de hectares e 0,4 milhões de toneladas) e do Nordeste do Brasil (aproximadamente 1,9 milhões de hectares e 0,7 milhões de toneladas).

A área colhida, a produção e a produtividade do feijão-caupi oscilam muito de ano para ano, em virtude, principalmente, das variações climáticas. Segundo SILVA (2009) as estimativas da FAO para 2007 foram de cerca de 12,5 milhões de hectares de feijão-caupi cultivados no mundo, com uma produção de 3,6 milhões de toneladas de grãos secos. Esta produção foi obtida por 36 países, sendo os maiores produtores a Nigéria, o Níger e o Brasil, cujos dados representam 84,1 % da área e 70,9 % da produção mundial.

A manutenção dos recursos genéticos de feijão-caupi, dentro da rede do Grupo Consultivo em Pesquisa Agrícola Internacional (CGIAR), é de responsabilidade do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), localizado na Nigéria, que mantém uma coleção de 15.000 acessos de variedades cultivadas de feijão-caupi e 560 acessos de feijão-caupi silvestre. O IITA fornece recursos genéticos da referida cultura para 65 programas de melhoramento genético, no mundo (SINGH, 2006). No Brasil, desde 1991, o Programa de Pesquisa de Feijão-caupi foi desincorporado do Programa Nacional de Pesquisa de Feijão e passou para a coordenação da Embrapa Meio-Norte, em Teresina-PI (WETZEL et al., 2005).

O feijão-caupi até há pouco tempo tinha um mercado relativamente restrito e seu cultivo era feito por pequenos e médios agricultores familiares. Praticamente, toda a sua produção, comércio e consumo concentravam-se nas regiões Norte e Nordeste. Atualmente, o feijão-caupi já alcançou produtores empresariais e está chegando a grandes polos de produção de grãos e grandes centros de comércio e de consumo de outras regiões do país, principalmente das regiões Centro-Oeste e Sudeste. Essa ampliação das áreas de produção, com a incorporação de produtores com outro perfil tem feito surgir novas demandas, as quais ampliaram os objetivos do melhoramento genético (FREIRE FILHO et al., 2009d).

Segundo FREIRE FILHO et al. (2009d), o melhoramento genético do feijão-caupi no Brasil pode ser dividido em quatro fases, sendo a primeira de 1903 a 1963 quando os trabalhos eram realizados de forma isolada. A segunda fase correspondeu ao período de 1963 a 1973 quando foi criada a Comissão Brasileira de Feijão e os trabalhos passaram a ser articulados de forma participativa. A terceira fase foi de 1973 a 1991, época em que foi criado

o Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão e foi montada uma equipe de pesquisa para o feijão-caupi e uma rede nacional de pesquisa. A quarta fase foi iniciada em 1991 e prossegue até hoje sob a responsabilidade da Embrapa Meio-Norte.

Para a primeira fase há relatos de trabalhos de introdução e competição, no entanto, não há informação de quais cultivares teriam sido recomendadas. Na segunda fase, foram recomendadas três cultivares por seleção massal e seleção de planta individual com teste de progênie, enquanto que na terceira fase foram lançadas 36 cultivares, sendo 30 para a região Nordeste. Na quarta fase, de 1991 até 2009, foram lançadas 27 cultivares, sendo quatro destinadas exclusivamente para a região Norte; treze exclusivas para região Nordeste, três recomendadas para as regiões Norte e Nordeste, seis para as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste e uma para a região Sudeste (Anexo A).

No início, o melhoramento genético do feijão-caupi esteve voltado principalmente para o aumento da produtividade, posteriormente para a resistência a doenças, principalmente viroses. Atualmente, além dessas duas características, está sendo dada grande ênfase à arquitetura da planta e à qualidade de grãos. Os melhoristas do feijão-caupi consideram que os principais desafios atuais sejam melhorar a cultura com vistas ao cultivo mecanizado e à superação dos níveis de produtividade (FREIRE FILHO et al., 2005b).

SINGH (2006) considera que nos diversos programas de melhoramento nas regiões tropicais, os objetivos estão alinhados ao tipo da planta, peso da planta, tipo da folha, hábito de crescimento, a fotossensibilidade, precocidade, qualidade nutricional, a déficit hídrico e altas temperaturas, arquitetura da raiz, fitomoléstias, nematóides, trips, plantas invasoras, qualidade do grão, tamanho da vagem e FBN.

O Programa de Melhoramento de Feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte, com as demandas surgidas a partir da incorporação de agricultores com novo perfil ao sistema de produção, tem como objetivos de curto prazo: desenvolver cultivares de porte semiprostrado, adequados à agricultura familiar; desenvolver cultivares de porte ereto e semiereto adequados à agricultura empresarial; aumentar a produtividade, a adaptabilidade e a estabilidade de produção; aumentar a resistência a estresses hídricos; aumentar os teores de proteína, ferro e zinco dos grãos e melhorar a qualidade visual e culinária dos grãos (FREIRE FILHO et al., 2009d).

Para médio prazo, os objetivos do melhoramento genético do feijão-caupi estão voltados para: aumento do potencial simbiótico com bactérias fixadoras de nitrogênio; desenvolvimento de cultivares que apresentem grãos com forma, cor e tamanho que atendam as exigências dos mercados africano, asiático e europeu; desenvolver cultivares com características para processamento industrial; desenvolver cultivares com novos tipos de grãos com apelo comercial; desenvolver cultivares com inflorescência composta; desenvolver cultivares superprecoces e reduzir o anel do hilo da semente (FREIRE FILHO et al., 2009d).

No que se refere à coordenação do Programa de Melhoramento do Feijão-caupi, a Embrapa Meio-Norte tem como estratégia incentivar e monitorar a integração das instituições vinculadas à pesquisa do feijão-caupi, tais como: outras unidades da Embrapa, instituições de pesquisas estaduais, empresas privadas e universidades. Entre as atividades desenvolvidas, a principal é a obtenção e teste de linhagens, que consta das seguintes etapas: seleção de parentais, formação da população básica, avanço de geração com descarte das plantas com sintomas severos de doenças e ataques de pragas, formação de linhagens, teste de produtividade, produção de semente genética e lançamento de novas cultivares (FREIRE FILHO et al., 2005b).

As pesquisas para o desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi para as regiões Norte e Nordeste do Brasil foram iniciadas pelo uso do método genealógico, descendência de uma única vagem e por seleção entre linhagens introduzidas (FREIRE FILHO et al., 2000).

ARAÚJO (1988) relata que no período de 1968 a 1988, 34 cultivares foram lançadas

para a região Nordeste e 13 para a região Norte. Na Região Nordeste, 18 cultivares foram obtidas por meio da seleção entre e dentro de populações locais, sete por meio de seleção entre linhagens introduzidas, uma por seleção massal em uma população segregante introduzida e oito por cruzamento seguido de condução das populações pelo método genealógico. Na Região Norte, sete cultivares foram obtidas por meio da seleção entre e dentro de populações locais, duas por meio de seleção entre linhagens introduzidas e quatro por meio de cruzamento seguido pelo método genealógico.

De acordo com FREIRE FILHO et al. (2000), no Estado do Piauí, de 1981 a 1998, foram recomendadas 15 cultivares. As cultivares Pitiúba (procedente da Universidade Federal do Ceará), Sempre-Verde, Pendanga e Quarenta Dias foram obtidas das populações locais. As cultivares Vita 3, Vita 7, BR 9 Longá e CE 315 (TVu 2331) foram selecionadas entre introduções feitas do IITA. Dentre essas, as que mais se destacaram foram Pitiúba, Vita 7, BR 9 Longá e CE 315. Esta última, ainda é cultivada tanto em cultivo de sequeiro como em áreas irrigadas. Suas principais limitações são a alta suscetibilidade ao CPSMV (Cowpea Severe Mosaic Virus) e o tamanho do grão. A primeira cultivar comercial altamente resistente ao CABMV (Cowpea Aphid-Born Mosaic Virus) foi a BR 1 Poti, seguida das cultivares BR 7 Parnaíba, BR 10 Piauí e BR 12 Canindé.

Estas cultivares a princípio proporcionaram ganhos consideráveis de produtividade. Contudo, devido à suscetibilidade, principalmente ao CPSMV (SANTOS et al., 1990), muito importante na época em que foram recomendadas, e também devido a algumas características dos grãos como a cor e o tempo de cocção, não tiveram grande aceitação comercial (FREIRE FILHO et al., 2000).

Com a identificação de fontes de resistência ao CPSMV, como a cultivar Macaibo (LIMA & NELSON, 1977) e o CNC 0434 (RIOS et al., 1982), ao CABMV como a CE 315 (LIMA et al., 1979) e ao CGMV (Cowpea golden mosaic vírus) como a CE 315, TVu 612 e CNC 0434 (SANTOS et al., 1986), foi iniciado o trabalho para obtenção de cultivares com resistência simples e múltiplas a esses vírus. A cultivar BR 1 Poti, obtida do cruzamento entre CNC x 27 (Pitiúba X TVu 410), possivelmente foi a primeira cultivar comercial altamente resistente ao CABMV.

Posteriormente foi recomendada a BR 7 Parnaíba (FREIRE FILHO et al., 1986) a qual tem um excelente padrão de resistência a doenças. Em seguida, foram recomendadas as cultivares BR 10 Piauí (SANTOS et al., 1987) e BR 12 Canindé (SANTOS et al., 1990) que apresentavam resistência múltipla ao CPSMV, CABMV e também ao CGMV. Essas cultivares, entretanto, foram cultivadas por pouco tempo porque apesar de serem produtivas e terem um excelente padrão de resistência a vírus, não tiveram uma boa aceitação comercial.

Em 1990, foi lançada a cultivar BR 14 Mulato (CARDOSO et al., 1990), obtida do cruzamento CNC x 249 (CNC 0434 X BR 1 Poti). É uma cultivar com grãos mulatos e muito produtivos ( $1.200 \text{ kg ha}^{-1}$ ). Possui excelente arquitetura de planta que inclusive, possibilita a colheita mecanizada da lavoura, sendo imune ao CPSMV, altamente resistente ao CGMV e resistente a CABMV e a sarna (*Shaceloma* sp.).

A cultivar BR 17 Gurguéia foi obtida do cruzamento TE 86 -75 (BR 10 Piauí x CE 315). É uma cultivar com grãos tipo sempre-verde, muito produtiva ( $1.800 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e com boa arquitetura de planta, a qual a exemplo do BR 14 Mulato pode ser colhida mecanicamente. É imune ao CPSMV, altamente resistente ao CGMV e moderadamente resistente ao CABMV (FREIRE FILHO et al., 2000).

Em 1998, foi recomendada a cultivar Monteiro, obtida de uma população local. É um material que tem grãos brancos (grupo Brancão), com tegumento rugoso, altamente produtiva em cultivo irrigado ( $1.900 \text{ kg ha}^{-1}$ ); tendo como principal limitação o porte, apresentando entrenós curtos e ramos prostrados, o que dificulta a colheita. A grande vantagem desta cultivar é a qualidade de grãos que fez com que por muito tempo fosse cotada em 10 a 20%

mais cara que outras cultivares (FREIRE FILHO et al., 1994).

Nos últimos dez anos, com novo enfoque, o Programa de Melhoramento Genético do Feijão-caupi buscou fazer lançamentos abrangentes de forma que a mesma cultivar pudesse ser recomendada para dois ou mais estados, ou para duas ou mais regiões. Como exemplo, temos as cultivares BRS Mazagão, BRS Novaera, BRS Xiquexique, BRS Cauamé, BRS Tumucumaque, BRS Potengi, BRS Pajeú, BRS Itaim, BRS Juruá e BRS Aracê (Tabela 1).

**Tabela 1.** Cultivares melhoradas de feijão-caupi lançadas comercialmente no período de 2000 a 2009.

Cultivar	Ano	Porte	Ciclo (dias)	Rendimento (kg ha <sup>-1</sup> )	Região de adaptação	Referências
BRS Mazagão	2000	Semiereto	65	1.732* 2.718**	Norte e Nordeste	CAVALCANTE et al., 2006
BRS Rouxinol	2001	Semiereto	75	892* 1.509**	Nordeste	ALCÂNTARA et al., 2002b
BRS Paraguaçu	2002	Semiprostrado	75	890* 1.087**	Nordeste	ALCÂNTARA et al., 2002a
Poços-de-caldas	2003	Ereto	100	1.781*	Sudeste	FREIRE FILHO et al., 2009d
BRS Guariba	2004	Semiereto	70	1.491*	Nordeste	FREIRE FILHO et al., 2004b
BRS Marataoã	2004	Semiprostrado	75	978*	Nordeste	FREIRE FILHO et al., 2004a
BRS Urubuquara	2005	Semiprostrado	75	1.276*	Norte	FREIRE FILHO et al., 2005a
BRS Milênio	2005	Prostrado	75	1.399*	Norte	FREIRE FILHO et al., 2005c
BRS Potiguar	2005	Semiprostrado	70	1.294*	Nordeste	FREIRE FILHO et al., 2009d
BRS Novaera	2007	Semiereto	70	1.088* 1.611**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	VILARINHO, 2008
BRS Pujante	2007	Semiprostrado	70	704* 1.586**	Nordeste	SANTOS et al., 2007
BRS Xiquexique	2008	Semiprostrado	75	1.125* 1.593**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2008
BRS Cauamé	2009	Semiereto	70	976* 1.769**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009c
BRS Tumucumaque	2009	Semiereto	70	1.098* 1.703**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009a
BRS Pajeú	2009	Semiprostrado	75	1.035* 1.863**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009c
BRS Potengi	2009	Semiereto	75	972* 1.766**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009b
BRS Itaim	2009	Ereto	65	1.618* 987**	Norte e Nordeste	FREIRE FILHO et al., 2009e
BRS Juruá	2009	Semiprostrado	80	1.033* 1.095**	Norte, Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009g
BRS Aracê	2009	Semiprostrado	75	1.246* 1.050**	Nordeste e Centro-Oeste	FREIRE FILHO et al., 2009f

\* Sequeiro \*\* Irrigado

Todas as cultivares lançadas no período de 1963 a 2009 foram selecionados em condições de sequeiro com emprego de pouca tecnologia, sendo que as produtividades, obtidas nessa condição concentraram-se na faixa de 1.000 a 1.200 kg ha<sup>-1</sup> e em cultivo irrigado variaram de 1.500 a 2.000 kg ha<sup>-1</sup>. O que sugere que se a seleção fosse feita em um nível tecnológico mais elevado, tanto no cultivo de sequeiro como no irrigado, poderiam ser obtidas melhores produtividades (FREIRE FILHO et al., 2009d).

Na genealogia do feijão-caupi muitos parentais são reconhecidos como cultivares locais. Como exemplo, temos: Seridó, Pitiúba, Pendanga, Quarenta dias e Sempre-verde. Essas cultivares são nativas, principalmente, das regiões Norte e Nordeste. Na região Sudeste existem genótipos cultivados exclusivamente por pequenos agricultores. Os mais cultivados são Mauá, Costelão, Piabetá e Feijão-de-corda, que segundo GUEDES et al. (2010) são provenientes de sementes introduzidas por migrações de nordestinos.

Em estudo da base genética das cultivares de feijão-caupi no Brasil, MONTALVÁN et al. (2006) utilizaram os dados do pedigree e calcularam a contribuição genética dos ancestrais no período de 1969 a 2005. Concluíram que todo o germoplasma desta cultura provinha de 35 ancestrais, sendo que apenas sete haviam contribuído com 51% dos genes do germoplasma em uso: TVu1190, Pitiúba, Bengala, Quebra-cadeira, CNCO434, TVu59 e TVu410. Outra evidência desses estudos foi que um grupo de 17 ancestrais (nove da Nigéria, seis do Brasil, um da Costa Rica e um dos Estados Unidos) havia acumulado aproximadamente 81% dos genes em uso, revelando que a base genética do feijão-caupi brasileiro é muito estreita. Estudos recentes, com os registros dos cruzamentos efetuados de 1968 a 2009 indicaram que na genealogia das cultivares brasileiras de feijão-caupi foram usados 56 ancestrais, dos quais nove contribuíram com 50% dos genes das cultivares em uso e 26 acumularam 80% dos genes integrantes dos germoplasmas atuais. Deste grupo de 26 ancestrais, 11 são do Brasil, 13 da Nigéria, um da Costa Rica e um dos Estados Unidos (Anexo B).

Apesar do grande avanço, até o momento, o programa apresenta lacuna com relação à FBN, mesmo sendo um dos critérios usados em outras estratégias de melhoramento do feijão-caupi na Índia (SINGH et al., 2002) e também da soja no Brasil (HUNGRIA et al., 1999).

## 2.6. Interface entre FBN e Melhoramento Genético Vegetal

A tecnologia de inoculação de bactérias de interesse biotecnológico na agricultura tem contribuído para reduzir o uso e o consequente impacto dos agroquímicos no meio ambiente. Os benefícios dos processos ecológicos desempenhados por estes microrganismos, através da FBN, do controle biológico, da promoção de crescimento vegetal e da solubilização de nutrientes, têm contribuído para aumentar a sustentabilidade nesse setor do agronegócio (MARTINS, 2003).

O incremento da FBN por meio do melhoramento genético da planta não é um conceito novo. HERRIDGE & ROSE (2000) afirmam que na década de 40, na Europa foram desenvolvidos estudos de seleção e melhoramento de trevo (*Trifolium pratense*) e trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum*) para aumentar a nodulação e a fixação de nitrogênio. Nas décadas de 60 e 70 estudos semelhantes foram realizados com fava (*Vicia faba*), soja (*Glycine max*), alfafa (*Medicago sativa*) e ervilha (*Pisum sativum*).

HERRIDGE & ROSE (2000) citam também áreas de pesquisas consideradas na década de 70 como recomendações para estruturação dos programas de melhoramento objetivando a FBN, com foco principal nas culturas da soja (*Glycine max* L.) e alfafa (*Medicago sativa*), tais como: identificação da alocação do C e N nos diversos tecidos das plantas para definir características da fixação de N<sub>2</sub>; comparação de estratégias alternativas para seleção e desenvolvimento de genótipos com maior utilização da fixação de N<sub>2</sub>.

Como estratégia para aumento da FBN por meio do melhoramento genético, alguns estudos foram desenvolvidos para maximizar a produtividade (biomassa e produção de grãos),

considerando que grande quantidade de biomassa requer mais N. Essa abordagem, no entanto, assume que a capacidade para a fixação suficiente de N<sub>2</sub> aumenta com a demanda maior de culturas de maior biomassa (ATTEWELL & BLISS, 1985; HERRIDGE & BERGERSEN, 1988).

Na Austrália, em 1980, foi iniciado um programa de melhoramento da soja para incremento da fixação de N<sub>2</sub>, em paralelo com o programa geral de melhoramento da soja, cujo foco era a alta produtividade aliada à qualidade de grãos e resistência a doenças. Foram disponibilizadas cultivares locais obtidas de cruzamentos com cultivares dos Estados Unidos. Entre 489 genótipos avaliados em casa de vegetação, 32 foram identificados como tolerantes a nitrato, enquanto que os genótipos de origem coreana apresentaram alta nodulação e fixação de N<sub>2</sub> (HERRIDGE & ROSE, 2000).

No Brasil, o maior exemplo da importância da FBN no melhoramento vegetal é com a soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Essa leguminosa foi introduzida no País no século XIX, mas o seu cultivo em escala comercial foi impulsionado somente no século XX e considerava-se que os solos brasileiros eram, originalmente, isentos de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> capazes de formar nódulos efetivos com a soja (FRANCO, 1981).

Com a expansão da cultura, essa ideia foi confirmada em diversas áreas virgens de São Paulo (FRANCO, 1981) e em solos sob cerrados (VARGAS & SUHET, 1980). Contudo, no Rio Grande do Sul, alguns anos após a introdução da cultura existiam referências a estirpes, "nativas" e "naturalizadas" (FREIRE & VIDOR, 1981). A detecção de sorogrupos não introduzidos em inoculantes também foi constatada, em alguns solos não cultivados anteriormente, após alguns anos de introdução da cultura nos cerrados (VARGAS et al., 1994).

Os primeiros inoculantes e as primeiras sementes contendo estirpes de *Bradyrhizobium* foram trazidos dos Estados Unidos, mas a busca por bactérias adaptadas às condições brasileiras iniciou-se concomitantemente com a expansão da cultura no País. Esse processo de seleção de estirpes principiou na região Sul e se estendeu no final dos anos setenta, aos cerrados (VARGAS & HUNGRIA, 1997).

As variedades de soja introduzidas dos EUA e as variedades recuperadas das primeiras introduções no território brasileiro fizeram parte do Programa Brasileiro de Melhoramento da Soja. A resistência às doenças, a pragas e a tolerância aos solos de baixa fertilidade, bem como a produção das plantas com inserção de vagens para colheita mecânica, foram os objetivos principais do programa. Embora a FBN não fosse considerada explicitamente como fator para a seleção no programa de melhoramento, a maximização da FBN foi favorecida pela condução da seleção e do melhoramento de experimentos em solos com baixo teor de N, nos quais as sementes foram inoculadas com estirpes eficientes e sem aplicação do fertilizante com N (ALVES et al., 2003).

Em 1960 a recém-criada Comissão Nacional da Soja já havia enfatizado a necessidade de dar prioridade a FBN como uma parte importante do programa de melhoramento. Por este tempo, resultados de pesquisa mostravam que a soja inoculada podia produzir tão bem como a soja cultivada com fertilizante nitrogenado (WEBER, 1966). Assim, a decisão foi omitir fertilizantes nitrogenados no programa de melhoramento e sempre inocular as plantas com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* recomendadas (ALVES et al., 2003). Apesar de lançadas há mais de 30 anos, as estirpes 29w e SEMIA 587 ainda são as mais competitivas e utilizadas até hoje pela indústria de inoculantes.

Essas estirpes (29w e SEMIA 587) foram selecionadas e lançadas, em 1979, com base em uma série de estudos realizados pela Embrapa Cerrados e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Além da boa eficiência fixadora e da alta capacidade competitiva, ambas as estirpes apresentam baixa especificidade hospedeira, sendo capazes de formar nódulos com a maioria das cultivares de soja já recomendadas (VARGAS et al., 2004). A estirpe 29w foi considerada uma "super estirpe" e sua capacidade de nodular em solos de cerrados foi,

inicialmente, atribuída à sua resistência a antibióticos, particularmente a estreptomicina (VARGAS & HUNGRIA, 1997).

Quanto ao feijão comum, os principais programas para seleção de genótipos do feijoeiro foram desenvolvidos no CIAT e na Universidade de Wisconsin. Devido à variabilidade encontrada entre genótipos quanto à eficiência do processo de FBN, tem sido enfatizada a importância do melhoramento genético da planta para otimizar o fornecimento de N via fixação biológica (VARGAS & HUNGRIA, 1997).

MYTTON (1984) considera que, durante o processo de domesticação do feijoeiro, certas características desejáveis foram selecionadas, sendo acompanhadas de um processo indireto de seleção negativa em relação à capacidade de nodulação e FBN. Uma comprovação disso seria o fato de que em um mapa de ligação genética do feijoeiro, as regiões para expressão de nodulação abundante estavam associadas às regiões onde se expressa a suscetibilidade à *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e, conseqüentemente, a seleção para resistência à bacteriose seria negativa para a FBN (NODARI et al., 1993).

Com relação ao feijão-caupi, o IITA tem o mandato global do melhoramento e coordena 65 programas nacionais de melhoramento genético dessa leguminosa. SINGH (2006) considera que a estratégia geral do IITA é o desenvolvimento de linhas de melhoramento em que seja priorizada a maturidade, o tipo da planta e o tipo de semente com combinada resistência a pragas e doenças.

Os programas de melhoramento para o feijão-caupi costumam, tradicionalmente, enfocar o caráter precocidade, resistência a pragas e doenças, armazenamento, produtividade e características do grão, tais como cor do tegumento e peso (EHLERS & HALL, 1997). Esses programas praticamente não visam à melhoria da contribuição da FBN para o crescimento do vegetal e a produção de grãos.

No Senegal o principal programa de melhoramento do feijão-caupi tem como enfoque a maturação precoce das cultivares com altas produtividades, resistência a doenças severas (*Cowpea aphidborne* e *Mosaic vírus*), a pragas (*Cowpea aphid*) e a ervas daninhas (NDIAYE et al., 2000). Os melhoristas já constataram a necessidade de incluir no melhoramento, genótipos com potencial para alta fixação de N<sub>2</sub>.

GRAHAM & VANCE (2000) citam que o melhoramento para otimizar a fixação de N<sub>2</sub> não deve ser feito isolado, considerando que outros problemas devem ser resolvidos para que a FBN seja bem sucedida. Um exemplo é o melhoramento da nodulação do feijão comum seguido do biocontrole do apodrecimento de raízes em solos arenosos irrigados. JENSEN & CASTELLANOS (1994) observaram a possibilidade de alcançar diferentes alvos no melhoramento para incremento da FBN. Um exemplo foi o estudo desenvolvido por PAZDERNIK et al. (1997), no qual foi verificado que a cultivar de soja Chippewa acumulava 30 g N planta<sup>-1</sup> em um solo com baixo teor de N, sendo 52% nos grãos, enquanto que outra cultivar (Parker) acumulava 17 g N planta<sup>-1</sup>, mas 80% concentravam-se na semente.

Tomando-se como base o caso de sucesso da FBN na soja e suas conseqüências no agronegócio brasileiro, considera-se que é extremamente importante e necessário que o enfoque nos estudos atuais do melhoramento genético do feijão-caupi esteja associado à FBN. Observa-se que 68 cultivares de feijão-caupi já foram lançadas (1968-2009) e que não houve nenhuma ação de melhoramento objetivando a FBN.

Esses fatos justificam a necessidade de que os estudos com a FBN estejam associados ao melhoramento genético, como foi o caso do melhoramento da soja que contou com a seleção de rizóbios específicos para diferentes condições edafoclimáticas, transformando o Brasil em um dos principais produtores mundiais, sem a necessidade de utilização de qualquer adubo nitrogenado industrializado, cujos impactos são recorrentes no agronegócio e nos números favoráveis da balança comercial brasileira.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Interação entre Estirpes de *Bradyrhizobium* e Cultivares de Feijão-caupi em Condições Assépticas

##### 3.1.1. Condução do experimento

O experimento foi conduzido de maio a julho de 2008 sob condições assépticas, em casa de vegetação, na Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica-RJ (2°46'S e 43°41'O e a 33 m de altitude). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 15 x 3 x 2 com três repetições. O fatorial foi constituído por 15 cultivares de feijão-caupi, três fontes de N e duas épocas de coletas.

As cultivares avaliadas foram: Amapá, Monteiro, Patativa, Canapu, IPA 206, Mauá, BR17 Gurguéia, BRS Rouxinol, BRS Paraguaçu, BRS Guariba, BRS Marataoã, BRS Milênio, BRS Urubuquara, BRS Mazagão e BRS Novaera, obtidas da Embrapa Meio-Norte e Embrapa Semiárido. Como fontes de N foram utilizadas duas estirpes de *Bradyrhizobium* (BR 3267 e BR 3299), isoladas e em consórcio, provenientes da coleção de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia.

O plantio foi realizado em vasos de Leonard (VINCENT, 1970) que foram esterilizados e receberam como substrato areia e vermiculita (2:1 v:v). Em cada vaso foram semeadas quatro sementes, sendo procedido o desbaste aos três dias após emergência (DAE), deixando-se uma planta por vaso. Por ocasião do plantio foi realizada a assepsia das sementes por meio da imersão em álcool etílico 95% por 30 segundos, seguida da imersão em peróxido de hidrogênio por três minutos e lavagem em água estéril por dez vezes seguidas.

As estirpes foram crescidas em meio de cultura YMA líquido, com indicador azul de bromotimol a 28° C, sob agitação a 120 rpm por três dias (BR 3299) e por cinco dias (BR 3267) (FRED & WASKMAN, 1928). A inoculação foi realizada aos oito DAE adicionando-se 1,0 mL da suspensão contendo as estirpes em teste com cerca de  $10^9$  células de rizóbio ( $\text{mL}^{-1}$ ). As plantas inoculadas foram cobertas com uma camada de 3 cm de areia esterilizada em autoclave para prevenir possíveis contaminações.

Semanalmente, em cada vaso, foram aplicados 240 mL de solução nutritiva isenta de nitrogênio (NORRIS & T'MANNETJE, 1964) e sempre que necessário foi adicionada água estéril. Devido à incidência de oídio (22% das plantas), aos 45 DAE foi aplicado fungicida tendo como princípio ativo, enxofre, na dosagem de  $3 \text{ g L}^{-1}$ .

##### 3.1.2. Coletas e variáveis analisadas

Foram realizadas duas coletas, sendo a primeira aos 30 DAE e a segunda aos 52 DAE (início da floração). Em ambas as coletas foram determinadas as seguintes variáveis: número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), N acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (EN).

Por ocasião das coletas, as plantas foram separadas em raiz e parte aérea por um corte a 1 cm acima da superfície do substrato. As raízes foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos, estes foram destacados das raízes e contados para determinação do NN. Após contagem, os nódulos foram armazenados em recipientes de plástico, contendo sílica gel e pesados quando secos para determinação da MSN.

A parte aérea fresca das plantas após separação da raiz foi colocada em estufa de circulação de ar a 60-70 °C até atingir peso seco constante ( $\pm 72 \text{ h}$ ), quando foi moída e pesada



para determinação da MSPA e do N total, o qual foi determinado pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997).

O NAPA foi calculado pela multiplicação da MSPA pelo teor de N total e a eficiência de nodulação foi obtida pela divisão entre NAPA e MSN.

### **3.1.3. Análise estatística**

Na análise estatística foi efetuada análise de varância para cada coleta isoladamente (Anexo C), em um fatorial duplo entre cultivares e fontes de nitrogênio (estirpes). Nos dados submetidos à análise de variância foram testadas anteriormente, as pressuposições da ANAVA, tais como: normalidade (teste de Lillefors) e homogeneidade dos resíduos (teste de Cochran) pelo *software* SAEG (SISTEMA..., 2005).

Na análise de variância foi utilizado o *software* SISVAR (FERREIRA, 2003). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A escolha deste teste foi feita em virtude do número de tratamentos, considerando-se que segundo SILVA et al. (1999) o teste de Scott-Knott é um método de agrupamento usado como alternativa em que procedimentos de comparações múltiplas são recomendados, com a característica de não apresentar ambiguidade nos resultados.

Com o objetivo de medir a intensidade da relação entre as variáveis analisadas foi aplicada a correlação de Spearman aos dados. Esta correlação considera em vez do valor observado, a ordem das observações e deste modo, não é sensível às assimetrias na distribuição dos dados.

## **3.2. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e Estirpes de *Bradyrhizobium* em Condições Assépticas**

### **3.2.1. Condução do experimento**

Foram selecionados 16 genótipos ancestrais da base genealógica do feijão-caupi para serem avaliados nesse experimento. Devido à pequena quantidade de sementes de alguns desses materiais, foi necessário um período para multiplicação e assim, o experimento foi realizado em duas épocas, compondo-se, portanto, de dois ensaios realizados sob condições assépticas, em casa de vegetação, na Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica -RJ.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 10 x 3 x 2 com três repetições. O fatorial foi constituído por dez ancestrais de feijão-caupi, três fontes de N (estirpes) e duas épocas de coletas, no primeiro ensaio. No segundo ensaio foi utilizado o mesmo delineamento em esquema fatorial 6 x 3 x 2 com três repetições e fatorial composto por seis ancestrais de feijão-caupi, três fontes de N (estirpes) e duas épocas de coletas.

O primeiro ensaio foi conduzido no período de outubro a dezembro de 2008 e foram avaliados os seguintes genótipos ancestrais: TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434, TVu 410, TVu 2331, TVx 289-4G, Alagoano, IT87D-1627, TVu 36, e TVu 408-P2. O segundo ensaio foi realizado de maio a julho de 2009 e foram testados os ancestrais: TVu 59, Aparecido Moita, TVx 3777-04E, UCR 194, Macaibo e TVx 4659-03E. Em ambos os ensaios foram utilizadas como fonte de nitrogênio, as estirpes de *Bradyrhizobium*, BR 3267 e BR 3299, de forma isolada e em consórcio.

Os genótipos ancestrais foram obtidos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte e as estirpes foram provenientes da coleção de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia.

A metodologia foi comum aos dois ensaios, sendo o plantio realizado em vasos de Leonard (VINCENT, 1970) que foram esterilizados e receberam como substrato areia e vermiculita (2:1 v:v).

Antes do plantio foi realizada uma pré-germinação dos genótipos ancestrais em placas de Petri contendo meio ágar 1%, onde foram distribuídas dez sementes/placa. Por ocasião da distribuição das sementes nas placas foi realizada uma assepsia por meio da imersão das sementes em álcool etílico 95% por 30 segundos, seguido da imersão em peróxido de hidrogênio por três minutos e lavagem em água esteril por dez vezes seguidas.

Após emergência da radícula, ocorrida no terceiro dia, as plântulas foram distribuídas nos vasos na proporção de quatro plântulas/vaso. O desbaste ocorreu aos cinco dias após emergência (DAE), deixando-se uma planta por vaso.

As estirpes foram crescidas em meio YMA líquido, a 28 °C, sob agitação a 120 rpm por três dias (BR 3299) e por cinco dias (BR 3267) (FRED & WASKMAN, 1928). A inoculação foi realizada aos oito DAE adicionando-se 1,0 mL da suspensão contendo as estirpes em teste com cerca de  $10^9$  células de rizóbio  $\text{mL}^{-1}$  do inoculante.

Para aferição do tempo de crescimento ideal de cada estirpe foram elaboradas curvas de crescimento. Para tanto, as duas estirpes foram crescidas em meio YMA líquido e diluídas de forma seriada ( $10^{-3}$  a  $10^{-7}$ ) em meio YMA sólido com indicador vermelho Congo. Correlacionou-se a densidade ótica e o número de unidades formadoras de colônias a cada dia, por um período de 15 dias para obtenção da curva de crescimento.

As plantas inoculadas foram cobertas com uma camada de 3 cm de areia esterilizada em autoclave para prevenir possíveis contaminações. Semanalmente a partir do desbaste, em cada vaso, foram aplicados 240 mL de solução nutritiva isenta de nitrogênio (NORRIS & T'MANNETJE, 1964) e sempre que necessário foi adicionada água esteril.

### **3.2.2. Coletas e variáveis analisadas**

Foram realizadas duas coletas, sendo a primeira aos 36 DAE no primeiro ensaio e aos 30 DAE no segundo. A segunda coleta ocorreu no início da floração, aos 56 DAE no ensaio 1 e aos 50 DAE no ensaio 2. Nos dois ensaios e nas duas coletas foram determinados: número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), N acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (EN).

Nas duas coletas, realizadas em cada ensaio, as plantas foram separadas em raiz e parte aérea por um corte a 1 cm acima da superfície do substrato. As raízes foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos. Os nódulos foram destacados das raízes e contados para determinação do NN. Após contagem, os nódulos foram armazenados em recipientes de plástico, contendo sílica gel e pesados quando secos para determinação da MSN.

A parte aérea fresca das plantas após separação da raiz foi colocada em estufa de circulação de ar a 60-70 °C até atingir peso seco constante ( $\pm 72$  h), quando foi moída e pesada para determinação da MSPA e do N total, o qual foi determinado pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997).

O NAPA foi calculado pela multiplicação da MSPA pelo teor de N total e a eficiência de nodulação foi obtida pela divisão entre NAPA e MSN.

### **3.2.3. Análise estatística**

A análise de variância foi feita para cada coleta isoladamente, em um fatorial duplo entre cultivares e fontes de nitrogênio (estirpes). Nos dados submetidos à análise de variância (Anexo C) foram testadas anteriormente, as pressuposições da ANAVA, tais como: normalidade (teste de Lillefors) e homogeneidade dos resíduos (teste de Cochran) pelo *software* SAEG (SISTEMA..., 2005).

Foi utilizado o *software* SISVAR (FERREIRA, 2003) e as médias do primeiro ensaio foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, enquanto que para o segundo ensaio, devido ao menor número de tratamentos, optou-se pelo teste de Tukey.

A escolha do teste Scott-Knott para o primeiro ensaio foi feita em virtude do elevado número de tratamentos. Segundo SILVA et al. (1999) o teste de Scott-Knott visa a separação de médias de tratamentos em grupos distintos, por meio da minimização da variação dentro e maximização da variação entre grupos. Desta forma, os resultados obtidos com este teste são facilmente interpretados, com maior objetividade e clareza, devido à ausência de ambiguidade.

Foi também empregado a correlação de Spearman aos dados dos dois ensaios, tendo como objetivo medir a intensidade da relação entre as variáveis analisadas. O tipo de correlação selecionado considera em vez do valor observado, apenas a ordem das observações e deste modo, não é sensível a assimetrias na distribuição.

### **3.3. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e a Estirpe BR 3267 em Condições de Campo**

#### **3.3.1. Condução do experimento**

O experimento foi conduzido, sob condições de campo, na Embrapa Meio-Norte, no município de Teresina, PI (5°5'S e 42°48'O e a 72 m de altitude), no período de junho a setembro de 2009, em solo classificado como ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico com as seguintes características químicas (camada 0-20 cm): pH (H<sub>2</sub>O) 5,9; Al<sup>+3</sup> 0,1 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> 2,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> 4,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K 0,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P 9,2 mg dm<sup>-3</sup> e M.O. 23,2 g kg<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso com três repetições, 16 genótipos ancestrais de feijão-caupi e uma estirpe de *Bradyrhizobium* (BR 3267). Os ancestrais avaliados foram: TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434, TVu 59, TVu 410, TVu 2331 (CE 315), TVx 289 4G (Vita 7), Alagoano, IT87D-1627 (Mazagão), Aparecido Moita, TVx 3777-04E, TVu 36, UCR 194, Macaíbo, TVu 408-P2 e TVx 4659-03E BR 3267.

Os genótipos ancestrais foram obtidos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte e a estirpe proveniente da coleção de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia.

A parcela experimental correspondeu a 33 m<sup>2</sup>, com onze fileiras de 5,50 m de comprimento, tendo como área útil as cinco fileiras centrais, destinando-se 1 m nas cabeceiras e três fileiras nas laterais, como bordadura. A terceira fileira de plantio, de cada lado foi destinada à amostragem das plantas nas três coletas. O espaçamento utilizado foi de 0,50 m entre fileiras e 0,25 m entre plantas, o que correspondeu a 21 plantas por fileira.

A inoculação foi realizada 5 h antes do plantio com inoculante turfoso contendo cerca de 10<sup>9</sup> células de rizóbio g<sup>-1</sup> do inoculante. A dosagem utilizada foi na proporção de 500 g de inoculante para 50 kg de sementes, conforme recomendado por VARGAS et al. (2004).

Em cada cova foram semeadas três sementes para posterior desbaste que ocorreu aos 15 DAE, deixando-se uma planta por cova. Considerando-se o teor médio de P no solo (9,2 mg dm<sup>-3</sup>) foi realizada uma adubação de fundação com fósforo na proporção de 40 kg ha<sup>-1</sup>, tendo como fonte superfosfato simples. Aos 20 DAE foram aplicados, em todo experimento, inseticidas que tiveram como princípio ativo Dimetoato e Thiametoxam para controle de vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e de cigarrinha-verde (*Empoasca kraemer*), respectivamente.

Devido às condições climáticas, com ocorrência de poucas precipitações no período, o experimento foi conduzido com irrigação suplementar, por aspersão com lâmina de água total correspondendo a 400 mm, conforme recomendado por DOORENBOS & KASSAM (1994) para a cultura do feijão-caupi.

### 3.3.2. Coletas e variáveis analisadas

Foram realizadas três coletas, sendo a primeira na fase de desenvolvimento vegetativo, aos 30 DAE, a segunda no início da floração, que variou de 34 DAE a 51 DAE e a terceira na fase de maturação das vagens, variando de 68 DAE a 83 DAE.

Nas três coletas foram determinados: número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), N acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (EN).

Em todas as coletas a amostragem para dados de nodulação foi realizada na terceira linha de plantio, coletando-se três plantas inteiras. As plantas foram retiradas com o auxílio de uma pá de corte reto. Retirou-se um bloco de solo ao redor da planta, considerando-se 10 cm em cada lado da planta e uma profundidade de aproximadamente 25 cm. As plantas foram separadas em raiz e parte aérea por um corte no ponto de inserção cotiledonar. As raízes foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos, estes foram então destacados das raízes e contados para determinação do NN. Após contagem, os nódulos foram armazenados em recipientes de plástico, contendo sílica gel e pesados quando secos para determinação da MSN.

A parte aérea fresca das plantas após separação da raiz foi colocada em estufa de circulação de ar a 60-70 °C até atingir peso seco constante ( $\pm 72$  h), quando foi moída e pesada para determinação da MSPA e do N total, o qual foi determinado pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997).

O NAPA foi calculado pela multiplicação da MSPA pelo teor de N total e a eficiência de nodulação foi obtida pela divisão entre NAPA e MSN.

Na fase inicial da floração a amostragem de plantas também foi utilizada para quantificação da FBN. A contribuição da FBN (%) foi determinada pela técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  (SHEARER & KOHL, 1986).

Na quantificação da FBN foram utilizadas amostras da parte aérea das plantas de feijão-caupi, obtidas na fase de floração, estágio R2 e também amostras da parte aérea de espécies espontâneas não-leguminosas e plantas-controle (feijão não nodulante NOHR 54 e sorgo BR 304) da mesma parcela.

O material colhido foi seco a 62 °C, moído e analisado para abundância natural de  $^{15}\text{N}$  (OKITO et al., 2004). A porcentagem de N derivada da FBN na planta (%FBN) foi calculada pela fórmula:  $\% \text{ FBN} = [(d^{15}\text{?}_c - d^{15}\text{Nfc}) / (d^{15}\text{?}_c - B)] \times 100$ , em que  $d^{15}\text{Nc}$  e  $d^{15}\text{Nfc}$  correspondem aos valores de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  das plantas controle e do feijão-caupi, respectivamente. O valor B é uma constante relacionada ao processo de discriminação isotópica de  $^{15}\text{N}$  pelo processo da FBN, considerado para feijão-caupi como -1,759 delta (BELANE & DAKORA, 2010).

A partir dos resultados da FBN foi calculada a quantidade de N derivada da FBN, sendo calculada pela multiplicação da FBN (%) pelo total de N acumulado pela planta.

Na fase de maturação de vagens também foram avaliados os seguintes componentes de produção: peso de vagens, comprimento de vagens, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e rendimento de grãos. A amostragem para determinação desses componentes foi feita na área útil (cinco fileiras centrais).

Para determinação do peso de vagens foi considerada a média de cinco vagens retiradas da área útil e pesadas. O comprimento de vagens foi obtido a partir da média de cinco vagens retiradas da área útil, medidas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. O número de vagens por planta foi feito a partir da relação total de vagens da área útil pelo número de plantas desta área.

Na mensuração do número de grãos por vagem foram utilizadas as vagens obtidas do número de vagens por planta, as quais foram trilhadas e os grãos foram contados. O peso de grãos por vagem foi obtido da média do peso dos grãos de cinco vagens. O peso de 100 sementes foi determinado pela contagem e pesagem de 100 grãos e o rendimento de grãos foi determinada a partir da pesagem de grãos da área útil com umidade corrigida para 13%.

### 3.3.3. Análise estatística

Para a análise estatística foi considerado o esquema de parcelas subdivididas no tempo para os dados de nodulação, sendo nas parcelas avaliados os 16 genótipos ancestrais e nas subparcelas as épocas de coletas (fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens). Foi analisado o fatorial duplo ancestrais x coletas (Anexo C). As variáveis NN e MSPA foram transformadas em  $\log(x + 1)$  para atender as pressuposições de normalidade para realização da análise de variância.

Os dados de produção foram analisados considerando-se apenas os dados dos ancestrais na fase de maturação de vagens.

Os dados submetidos à análise de variância foram testados anteriormente, para atender às pressuposições da ANAVA, tais como: normalidade (teste de Lillefors) e homogeneidade dos resíduos (teste de Cochran) pelo *software* SAEG (SISTEMA..., 2005).

Na análise de variância foi utilizado o *software* SISVAR (FERREIRA, 2003). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, em virtude do número de tratamentos. Na escolha do teste Scott-Knott considerou-se que este teste visa a separação de médias de tratamentos em grupos distintos e que ao contrário de outros testes, apresenta um aumento do poder com o aumento do número de tratamentos, além de resultados com ausência de ambiguidade (SILVA et al., 1999).

Objetivando verificar a intensidade da relação entre as variáveis analisadas foi aplicada a correlação de Spearman. A seleção deste teste baseou-se no fato de que para esse tipo de correlação é considerada a ordem das observações e deste modo, não ocorre problemas com assimetrias na distribuição dos dados.

## 3.4. Avaliação de Genótipos de Feijão-caupi em Interação com Estirpes de *Bradyrhizobium* em Condições de Campo

### 3.4.1. Condução do experimento

O experimento foi conduzido, sob condições de campo, na Embrapa Meio-Norte, no município de Teresina, PI (5°5'S e 42°48'O e a 72 m de altitude), no período de maio a agosto de 2010, em solo classificado como ARGISSELO VERMELHO-AMARELO Distrófico com as seguintes características químicas (camada 0-20 cm): pH (H<sub>2</sub>O) 5,75; Al<sup>+3</sup> 0,05 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> 6,33 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> 1,44 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K 0,47 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P 12,15 mg dm<sup>-3</sup> e M.O. 10,50 g kg<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 6 x 5 x 3 com três repetições. O fatorial foi constituído entre seis tratamentos (quatro estirpes, um tratamento com nitrogênio e outro sem inoculação e sem N); cinco genótipos de feijão-caupi (quatro ancestrais e uma cultivar) e três coletas (fase de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação de vagens).

Os genótipos ancestrais avaliados foram: TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434 e Alagoano, selecionados a partir do resultados do experimento do ano anterior. A cultivar testada foi a BRS Guariba e as estirpes foram: BR 3267, BR 3299, BR 3262 e INPA 03-11B.

Os genótipos ancestrais e a cultivar foram obtidos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte e a estirpe proveniente da coleção de bactérias diazotróficas da Embrapa Agrobiologia.

A parcela experimental correspondeu a 24,75 m<sup>2</sup>, com onze fileiras de 4,50 m de comprimento, tendo como área útil as cinco fileiras centrais, destinando-se 1 m nas cabeceiras e três fileiras nas laterais, como bordadura. O espaçamento utilizado foi de 0,50 m entre fileiras e 0,25 m entre plantas, o que correspondeu a 18 plantas por fileira.

A inoculação foi procedida da mesma forma da realizada no experimento Interação simbiótica entre a estirpe BR 3267 e genótipos ancestrais de feijão-caupi em condições de campo, realizado no ano anterior.

Em cada cova foram semeadas três sementes para posterior desbaste que ocorreu aos 15 DAE, deixando-se uma planta por cova. Na adubação dos tratamentos nitrogenados foram utilizados 90 kg N ha<sup>-1</sup>, tendo como fonte uréia. O fornecimento de N foi feito de forma parcelada, sendo 50% no plantio e 50% aos 20 DAE.

Como controle fitossanitário foi efetuada uma pulverização preventiva, com Metalaxyl-M na dosagem de 40 g ha<sup>-1</sup> para controle de fungos do solo (18 DAE), e duas curativas (25 e 35 DAE) com Thiametoxam na dosagem de 75 g 20 L<sup>-1</sup> d'água e Dimetoato 0,05 L 20L<sup>-1</sup> para o controle de cigarrinhas (*Empoasca kraemeri* Ross e Moore), pulgões (*Apis cracyvora* Koch) e mosca branca (*Bemisia tabaci* Genn).

### 3.4.2. Coletas e variáveis analisadas

Foram realizadas três coletas, sendo a primeira na fase de desenvolvimento vegetativo aos 30 DAE, a segunda no início da floração, que variou de 38 DAE a 45 DAE e a terceira na fase de maturação das vagens, variando de 65 DAE a 76 DAE. Nas três coletas foram determinados: número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), N acumulado na parte aérea (NAPA), eficiência de nodulação (EN) e eficácia relativa (ER).

A amostragem do material para os componentes de nodulação foi realizada nas três fases de coletas. As plantas foram retiradas com o auxílio de uma pá de corte reto. Retirou-se um bloco de solo ao redor da planta, considerando-se 10 cm em cada lado da planta e a profundidade de aproximadamente 25 cm. As plantas foram separadas em raiz e parte aérea por um corte no ponto de inserção cotiledonar. As raízes foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos, estes foram então destacados das raízes e contados para determinação do NN. Após contagem, os nódulos foram armazenados em recipientes de plástico, contendo sílica gel e pesados quando secos para determinação da MSN.

A parte aérea fresca das plantas após separação da raiz foi colocada em estufa de circulação de ar a 60-70 °C até atingir peso seco constante ( $\pm 72$  h), quando foi moída e pesada para determinação da MSPA e do N total, o qual foi determinado pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997).

O NAPA foi calculado pela multiplicação da MSPA pelo teor de N total e a eficiência de nodulação foi obtida pela divisão entre NAPA e MSN. A ER foi calculada pela divisão da massa seca da parte aérea dos tratamentos inoculados pela massa seca da parte aérea do tratamento com N, multiplicando-se por 100 (SOARES et al., 2006).

Na fase inicial da floração a amostragem de plantas também foi utilizada para quantificação da FBN. A contribuição da FBN (%) foi determinada pela técnica abundância natural de <sup>15</sup>N (SHEARER & KOHL, 1986).

Na quantificação da FBN foram utilizadas amostras da parte aérea das plantas de feijão-caupi, obtidas na fase de floração, estágio R2 e também amostras da parte aérea de espécies espontâneas não-leguminosas e plantas-controle (feijão não nodulante NOHR 54 e sorgo BR 304) da mesma parcela.

O material coletado foi seco a 62 °C, moído e analisado para abundância natural de  $^{15}\text{N}$  (OKITO et al., 2004). A porcentagem de N derivada da FBN na planta (%FBN) foi calculada pela fórmula:  $\% \text{ FBN} = [(d^{15}\text{N}_c - d^{15}\text{N}_{fc}) / (d^{15}\text{N}_c - B)] \times 100$ , em que  $d^{15}\text{N}_c$  e  $d^{15}\text{N}_{fc}$  correspondem aos valores de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  das plantas controle e do feijão-caupi, respectivamente. O valor B é uma constante relacionada ao processo de discriminação isotópica de  $^{15}\text{N}$  pelo processo da FBN, considerado para feijão-caupi como -1,759 delta (BELANE & DAKORA, 2010).

A partir dos resultados da FBN foi calculada a quantidade de N derivada da FBN, sendo calculada pela multiplicação da FBN (%) pelo total de N acumulado pela planta.

Na fase de maturação de vagens também foram avaliados os seguintes componentes de produção: peso de vagens, comprimento de vagens, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e rendimento de grãos. A amostragem para determinação desses componentes foi feita na área útil (cinco fileiras centrais).

Para determinação do peso de vagens foi considerada a média de cinco vagens retiradas da área útil e pesadas. O comprimento de vagens foi obtido a partir da média de cinco vagens retiradas da área útil, medidas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. O número de vagens por planta foi feito a partir da relação total de vagens da área útil pelo número de plantas desta área.

Na mensuração do número de grãos por vagem foram utilizadas as vagens obtidas do número de vagens por planta, as quais foram trilhadas e os grãos foram contados. O peso de grãos por vagem foi obtido da média do peso dos grãos de cinco vagens. O peso de 100 sementes foi determinado através da contagem e pesagem de 100 grãos e o rendimento de grãos foi determinada a partir da pesagem de grãos da área útil com umidade corrigida para 13%.

### 3.4.3. Análise estatística

A análise estatística considerou o esquema de parcelas subdivididas. Nas parcelas foram avaliados os genótipos e nas subparcelas as épocas de coletas (fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens). A análise considerou as interações: fonte de N x ancestral; fonte de N x coleta; ancestral x coleta e fonte de N x ancestral x coleta (Anexo C).

Os dados submetidos à análise de variância foram testados anteriormente, para atender às pressuposições da ANAVA, tais como: normalidade (teste de Lillefors) e homogeneidade dos resíduos (teste de Cochran) pelo *software* SAEG (SISTEMA..., 2005). Na análise de variância foi utilizado o *software* SISVAR (FERREIRA, 2003). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com o objetivo de observar a intensidade da relação entre as variáveis analisadas foi utilizado correlação de Spearman, tanto para as variáveis de nodulação como para as de produção. A seleção dessa correlação baseou-se no fato de que neste teste é considerada a ordem das observações ao invés do valor observado e deste modo, não há sensibilidade para possíveis assimetrias na distribuição dos dados.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Interação entre Cultivares de Feijão-caupi e Estirpes de *Bradyrhizobium* em Condições Assépticas

A análise de variância dos dados revelou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para cultivares e para a interação cultivares x estirpes, em relação às variáveis: número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação, aos 30 e 50 DAE.

A cultivar Mauá na média geral formou mais nódulos na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE) e no início da floração (52 DAE), não diferindo significativamente da BRS Amapá, IPA 206, BRS Guariba e BRS Marataoã aos 30 DAE (Tabelas 2 e 3). TADINI et al. (2008), na avaliação de cultivares de feijão-caupi inoculadas com *Bradyrhizobium*, relataram que as cultivares BRS Marataoã e IPA 206 apresentaram maior número de nódulos no estágio de florescimento.

**Tabela 2.** Número de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	83 Aa	68 Aa	100 Aa	84 A
Monteiro	61 Ba	42 Aa	48 Ba	50 B
Patativa	93 Aa	60 Aa	56 Ba	70 B
Canapu	41 Ba	59 Aa	74 Ba	58 B
IPA 206	73 Aa	87 Aa	93 Aa	84 A
Mauá	102 Aa	88 Aa	136 Aa	109 A
BR17 Gurguéia	60 Ba	44 Aa	50 Ba	52 B
BRS Rouxinol	56 Ba	66 Aa	38 Ba	54 B
BRS Paraguaçu	63 Ba	42 Aa	45 Ba	50 B
BRS Guariba	119 Aa	89 Aa	88 Aa	99 A
BRS Marataoã	79 Aa	104 Aa	81 Aa	88 A
BRS Milênio	54 Ba	37 Aa	67 Ba	53 B
BRS Urubuquara	24 Ba	43 Aa	45 Ba	38 B
BRS Mazagão	52 Ba	61 Aa	61 Ba	58 B
BRS Novaera	79 Aa	50 Aa	43 Ba	57 B
<b>Médias</b>	69 a	63 a	69 a	-
CV (%)	42,58			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

As cultivares Amapá, Patativa, IPA 206, Mauá, BRS Guariba, BRS Marataoã e BRS Novaera quando associadas à BR 3267, na fase de desenvolvimento vegetativo, apresentaram melhores resultados (Tabela 2). No início da floração, a Canapu, IPA 206 Mauá e Marataoã, associadas à BR 3267 e BR 3299 apresentaram maior número de nódulos (Tabela 3).

Com exceção da Patativa e BRS Novaera, as mesmas cultivares que apresentaram maior número de nódulos com a BR 3267, também apresentaram maiores resultados quando associadas ao consórcio de estirpes (BR 3267 + BR 3299), na fase de desenvolvimento vegetativo. Para estirpes, o consórcio apresentou diferença significativa para a cultivar Mauá.



Observou-se um acréscimo em número de nódulos no período que transcorreu entre os 30 DAE e 52 DAE. Resultados semelhantes foram constatados por XAVIER et al. (2007b) em estudo de nodulação com cultivares de feijão-caupi, no qual foi observado que as cultivares BRS Guariba e BRS Marataoã apresentavam maior número de nódulos no período de 30 a 50 dias após a emergência.

**Tabela 3.** Número de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos ( n° planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	124 Ba	94 Ba	117 Ba	112 C
Monteiro	78 Ba	80 Ba	126 Ba	95 C
Patativa	112 Ba	118 Ba	117 Ba	116 C
Canapu	155 Aa	191 Aa	160 Ba	169 B
IPA 206	243 Aa	142 Aa	197 Ba	194 B
Mauá	212 Ab	210 Ab	303 Aa	242 A
BR17 Gurguéia	108 Ba	97 Ba	81 Ca	95 C
BRS Rouxinol	78 Ba	130 Ba	155 Ba	121 C
BRS Paraguaçu	55 Ba	69 Ba	36 Ca	53 C
BRS Guariba	112 Ba	65 Ba	79 Ca	86 C
BRS Marataoã	184 Aa	188 Aa	191 Ba	188 B
BRS Milênio	68 Ba	79 Ba	120 Ba	89 C
BRS Urubuquara	107 Ba	45 Ba	60Ca	71C
BRS Mazagão	144 Ba	123 Ba	156 Ba	141C
BRS Novaera	135 Ba	82 Ba	114 Ba	110 C
Médias	128 a	114 a	134 a	-
CV (%)	44,48			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Com relação à massa seca de nódulos, aos 30 e 50 DAE, a cultivar Mauá foi superior em comparação à maioria das cultivares, não apresentando diferença significativa para Amapá, IPA 206, BRS-Guariba e BRS-Marataoã na fase de desenvolvimento vegetativo (Tabela 4). As cultivares Amapá, IPA 206, Mauá, BRS Guariba, BRS Marataoã e BRS Urubuquara apresentaram maior massa de nódulos em interação com o consórcio de estirpes aos 30 DAE. Enquanto que Canapu, IPA 206, Mauá e BRS Marataoã foram superiores em massa de nódulos, quando associadas à BR 3267 e também à BR 3299, aos 52 DAE. A cultivar Mauá também foi superior quando associada ao consórcio de estirpes (Tabela 5).

Entre as estirpes, apenas o consórcio diferiu das duas estirpes isoladas, em massa seca de nódulos, quando associado a cultivar Urubuquara, na fase de desenvolvimento vegetativo e à Mauá na fase inicial de floração (Tabela 5).

**Tabela 4.** Massa seca de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	262 Aa	216 Aa	318 Aa	265 A
Monteiro	192 Aa	133 Aa	153 Ba	159 B
Patativa	295 Aa	190 Aa	178 Ba	221 B
Canapu	130 Aa	186 Aa	234 Ba	183 B
IPA 206	231 Aa	274 Aa	296 Aa	267 A
Mauá	324 Aa	279 Aa	429 Aa	344 A
BR17 Gurguéia	191 Aa	140 Aa	159 Ba	163 B
BRS Rouxinol	178 Aa	209 Aa	121 Ba	169 B
BRS Paraguaçu	199 Aa	132 Aa	143 Ba	158 B
BRS Guariba	377 Aa	281 Aa	278 Aa	312 A
BRS Marataoã	251 Aa	330 Aa	257 Aa	279 A
BRS Milênio	171 Aa	118 Aa	212 Ba	167 B
BRS Urubuquara	77 Ab	136 Ab	399 Aa	204 B
BRS Mazagão	164 Aa	192 Aa	193 Ba	183 B
BRS Novaera	249 Aa	157 Aa	137 Ba	181 B
Médias	219 a	198 a	234 a	-
CV (%)	49,32			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

**Tabela 5.** Massa seca de nódulos de cultivares de feijão-caupi na fase inicial de floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	392 Ba	297 Ba	369 Ca	353 C
Monteiro	248 Ba	253 Ba	398 Ca	300 C
Patativa	353 Ba	374 Ba	370 Ca	366 C
Canapu	490 Aa	605 Aa	505 Ba	534 B
IPA 206	718 Aa	449 Aa	624 Ba	597 B
Mauá	670 Ab	666 Ab	958 Aa	764 A
BR17 Gurguéia	342 Ba	308 Ba	255 Ca	302 C
BRS Rouxinol	246 Ba	410 Ba	492 Ba	383 C
BRS Paraguaçu	163 Ba	218 Ba	113 Ca	168 C
BRS Guariba	355 Ba	207 Ba	250 Ca	271 C
BRS Marataoã	581 Aa	594 Aa	597 Ba	591 B
BRS Milênio	214 Ba	251 Ba	380 Ca	282 C
BRS Urubuquara	341 Ba	141 Ba	191 Ca	224 C
BRS Mazagão	456 Ba	390 Ba	492 Ba	446 C
BRS Novaera	428 Ba	261 Ba	360 Ca	350 C
Médias	401 a	362 a	424 a	-
CV (%)	43,64			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Alguns autores como FERREIRA & CASTRO (1995) citam que o número e a massa dos nódulos são indicadores usuais de nodulação. No entanto, na literatura especializada

observa-se que além do número e massa de nódulos é necessário que ocorra uma boa eficiência na nodulação.

Considerando a variável massa seca da parte aérea, a cultivar Mauá apresentou valores significativamente superiores às demais cultivares nas duas fases, tendo atingido 33% e 40% a mais de biomassa em relação à IPA 206 aos 30 e 52 DAE, respectivamente. Quando associada às estirpes BR 3267 e BR 3299 isoladas e em consórcio, a cultivar Mauá também foi superior em massa seca da parte aérea na fase de desenvolvimento vegetativo. A cultivar IPA 206 apresentou resposta diferenciada quando submetida ao consórcio de estirpes em relação às estirpes isoladas na fase desenvolvimento vegetativo (Tabelas 6 e 7).

Aos 52 DAE, as cultivares Canapu, IPA 206, Mauá e BRS Marataoã apresentaram maior massa seca da parte aérea com a estirpe BR 3267, sendo que Mauá foi a cultivar que apresentou melhores resultados com a estirpe BR 3299 e com o consórcio de estirpes avaliado (Tabela 7).

TADINI et al. (2008) observaram efeito significativo com a estirpe BR 3267 para a variável massa seca da parte aérea, sendo que as cultivares Mauá, BRS Milênio, BRS Mazagão, BRS Marataoã, BR 17 Gurguéia e IPA 206 apresentaram maiores valores de massa seca da parte aérea, na fase inicial da floração.

Entre os 30 e 52 DAE a cultivar Mauá apresentou um incremento de biomassa em torno de 77%. Estes resultados indicam que essa cultivar além de ter apresentado superioridade na nodulação, pode ser uma boa alternativa para utilização como adubo verde.

Resultados favoráveis da utilização de feijão-caupi como adubo verde foram verificados por CASTRO et al. (2004), que avaliaram as contribuições do feijão-caupi na adubação verde da berinjela e observaram um aporte de nitrogênio ao sistema de 90 kg N ha<sup>-1</sup> e um acúmulo de 1,6 toneladas de matéria seca por hectare, contendo 74 kg N ha<sup>-1</sup>.

**Tabela 6.** Massa seca da parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	0,56 Ca	0,56 Ca	0,71 Ba	0,61 C
Monteiro	0,81 Ba	0,59 Ca	0,68 Ba	0,69 B
Patativa	0,72 Ba	0,73 Ca	0,61 Ba	0,69 B
Canapu	0,55 Ca	0,63 Ca	0,75 Ba	0,64 B
IPA 206	0,57 Cb	0,69 Cb	1,00 Aa	0,75 B
Mauá	1,16 Aa	1,10 Aa	1,09 Aa	1,12 A
BR17 Gurguéia	0,58 Ca	0,59 Ca	0,51 Ba	0,56 C
BRS Rouxinol	0,49 Ca	0,62 Ca	0,45 Ba	0,52 C
BRS Paraguaçu	0,71 Ba	0,63 Ca	0,58 Ba	0,64 B
BRS Guariba	0,73 Ba	0,70 Ca	0,65 Ba	0,69 B
BRS Marataoã	0,69 Ba	0,75 Ca	0,56 Ba	0,66 B
BRS Milênio	0,77 Ba	0,61 Ca	0,58 Ba	0,65 B
BRS Urubuquara	0,55 Ca	0,55 Ca	0,61 Ba	0,57 C
BRS Mazagão	0,59 Ca	0,84 Ba	0,65 Ba	0,70 B
BRS Novaera	0,82 Ba	0,63 Ca	0,71 Ba	0,72 B
Médias	0,69 a	0,68 a	0,68 a	-
CV (%)	20,48			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

**Tabela 7.** Massa seca da parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	1,41 Ba	0,76 Ca	1,59 Ca	1,25 C
Monteiro	1,71 Ba	1,37 Ca	2,36 Ca	1,81 C
Patativa	1,58 Ba	2,04 Ca	2,38 Ca	2,00 C
Canapu	3,06 Aa	3,55 Ba	3,25 Ba	3,29 B
IPA 206	3,25 Aa	2,33 Ba	2,40 Ca	2,82 B
Mauá	4,51 Aa	5,35 Aa	5,03 Aa	4,96 A
BR17 Gurguéia	1,13 Ba	1,20 Ca	1,31 Ca	1,21 C
BRS Rouxinol	1,35 Ba	1,76 Ca	2,35 Ca	1,82 C
BRS Paraguaçu	0,73 Ba	0,91 Ca	0,80 Ca	0,81 C
BRS Guariba	0,68 Ba	1,32 Ca	0,70 Ca	0,90 C
BRS Marataoã	2,57 Aa	1,46 Ca	1,16 Ca	1,73 C
BRS Milênio	1,25 Ba	1,22 Ca	1,11 Ca	1,20 C
BRS Urubuquara	2,03 Ba	0,68 Ca	1,39 Ca	1,36 C
BRS Mazagão	2,11 Ba	1,32 Ca	2,09 Ca	1,84 C
BRS Novaera	2,11 Ba	1,33 Ca	1,62 Ca	1,69 C
Médias	1,96 a	1,81 a	1,97 a	-
CV (%)	41,87			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em nitrogênio acumulado na parte aérea, na média geral, a cultivar Mauá, apresentou maior média aos 30 e aos 52 DAE. As cultivares Canapu, IPA 206, Mauá e BRS Marataoã aos 52 DAE foram superiores quando associadas à estirpe BR 3267. A Mauá também apresentou maior nitrogênio acumulado quando em interação com a BR 3299 e com o consórcio de estirpes (Tabelas 8 e 9).

A estirpe BR 3267 e o consórcio de estirpes foram superiores à estirpe BR 3299 quando em associação com a cultivar Canapu, enquanto que a BR 3267 e a BR 3299 destacaram-se do consórcio, quando associadas à IPA 206 no estágio inicial de floração (Tabela 9).

**Tabela 8** Nitrogênio acumulado na parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	13 Aa	17 Aa	22 Aa	18 B
Monteiro	22 Aa	17 Aa	22 Aa	20 B
Patativa	22 Aa	22 Aa	15 Aa	20 B
Canapu	15 Aa	22 Aa	15 Aa	17 B
IPA 206	17 Aa	20 Aa	26 Aa	21 B
Mauá	34 Aa	38 Aa	37 Aa	36 A
BR17 Gurguéia	18 Aa	19 Aa	16 Aa	18 B
BRS Rouxinol	14 Aa	19 Aa	4 Aa	12 B
BRS Paraguaçu	23 Aa	20 Aa	15 Aa	19 B
BRS Guariba	20 Aa	20 Aa	24 Aa	21 B
BRS Marataoã	21 Aa	17 Aa	17 Aa	18 B
BRS Milênio	21 Aa	18 Aa	15 Aa	18 B
BRS Urubuquara	15 Aa	14 Aa	19 Aa	16 B
BRS Mazagão	17 Aa	28 Aa	21 Aa	22 B
BRS Novaera	26 Aa	16 Aa	19 Aa	20 B
Médias	20 a	20 a	19 a	-
CV (%)	43,31			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

**Tabela 9.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )				
Amapá	46 Ba	23 Ba	50 Ba	40 C
Monteiro	43 Ba	34 Ba	83 Ba	54 B
Patativa	49 Ba	64 Ba	59 Ba	58 B
Canapu	95 Aa	23 Bb	86 Ba	68 B
IPA 206	93 Aa	89 Ba	39 Bb	74 B
Mauá	126 Aa	166 Aa	183 Aa	158 A
BR17 Gurguéia	33 Ba	31 Ba	34 Ba	33 C
BRS Rouxinol	42 Ba	53 Ba	67 Ba	54 B
BRS Paraguaçu	23 Ba	25 Ba	23 Ba	23 C
BRS Guariba	19 Ba	37 Ba	21 Ba	26 C
BRS Marataoã	77 Aa	51 Ba	35 Ba	54 B
BRS Milênio	37 Ba	33 Ba	27 Ba	33 C
BRS Urubuquara	56 Ba	36 Ba	45 Ba	46 B
BRS Mazagão	58 Ba	30 Ba	61 Ba	50 B
BRS Novaera	61 Ba	45 Ba	52 Ba	53 B
Médias	57 a	49 a	58 a	-
CV (%)	47,40			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Observou-se que em eficiência de nodulação, nove cultivares (Monteiro, Canapu, Mauá, BR 17 Gurguéia, BRS Paraguaçu, BRS Milênio, BRS Urubuquara, BRS Mazagão e BRS Novaera) apresentaram as maiores médias, as quais variaram de 0,10 a 0,12 mg mg<sup>-1</sup> aos

30 DAE. Nesta fase, a estirpe BR 3267 obteve melhor eficiência ( $0,20 \text{ mg mg}^{-1}$ ) com a cultivar BRS Urubuquara (Tabela 10). Aos 52 DAE as cultivares Mauá e BRS Urubuquara destacaram-se com médias de  $0,21$  e  $0,22 \text{ mg mg}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 11). Os ancestrais não variaram entre si nas diferentes interações, o mesmo ocorrendo com as estirpes, nos dois estádios de desenvolvimento.

Os dados referentes à eficiência de nodulação encontrados estão abaixo dos obtidos por MELO & ZILLI (2009), que encontraram na associação da BRS Guariba com as estirpes BR 3267 e BR 3262 valores de  $1,0$  e  $1,3 \text{ mg mg}^{-1}$ , respectivamente. E com a BRS Mazagão verificaram uma eficiência nodular de  $0,8 \text{ mg mg}^{-1}$  na interação com a BR 3267 e de  $1,0 \text{ mg mg}^{-1}$  quando associada à BR 3262.

Vale salientar, que apesar dos valores baixos, foi verificado que um maior número de cultivares apresentou maior eficiência aos 30 DAE e que as cultivares Amapá, Patativa, IPA 206, BRS Rouxinol, BRS Guariba e BRS Marataoã apresentaram baixa eficiência nodular.

Como resultado da correlação realizada observou-se que o número de nódulos correlacionou-se com massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea aos 30 e 52 DAE e que MSN obteve alta correlação com NAPA e MSPA na fase inicial da floração (52 DAE) (Anexo D).

Esses resultados são confirmados por trabalhos de DÖBEREINER (1966), que verificou uma correlação positiva entre a massa nodular e a quantidade de N acumulado em leguminosas. E também por WADISIRISUK & WEAVER (1985) que em estudo de nodulação com a cultura do feijão-caupi verificaram correlação positiva entre número de nódulos e a quantidade de N acumulado.

HUNGRIA & BOHRER (2000) verificaram alta correlação entre a massa de nódulos e a matéria seca da parte aérea em 152 cultivares de soja e concluíram que existe correlação positiva entre a massa formada pelos nódulos e a quantidade de matéria seca da parte aérea.

O número de nódulos também tem sido um indicativo de maior fixação de N, no entanto, HANSEN et al. (1993) observaram que essa correlação não é linear e que, portanto, para uma boa fixação de N não é necessário apenas que a planta apresente muitos nódulos, mas que os nódulos sejam eficientes.

Os resultados da correlação NN e MSN estão de acordo com os de SOUZA et al. (2008) e segundo estes autores a massa seca de nódulos é o parâmetro que apresenta maior praticidade e menor variabilidade espacial e temporal, representando uma melhor correlação com o desempenho simbiótico.

**Tabela 10.** Eficiência de nodulação de cultivares de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2008 , em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )				
Amapá	0,05 Aa	0,08 Aa	0,07 Aa	0,07 B
Monteiro	0,11 Aa	0,13 Aa	0,15 Aa	0,13 A
Patativa	0,07 Aa	0,12 Aa	0,09 Aa	0,09 B
Canapu	0,11 Aa	0,12 Aa	0,07 Aa	0,10 A
IPA 206	0,08 Aa	0,07 Aa	0,09 Aa	0,08 B
Mauá	0,10 Aa	0,14 Aa	0,09 Aa	0,11 A
BR17 Gurguéia	0,08 Aa	0,13 Aa	0,10 Aa	0,11 A
BRS Rouxinol	0,10 Aa	0,09 Aa	0,03 Aa	0,07 B
BRS Paraguaçu	0,10 Aa	0,15 Aa	0,10 Aa	0,12 A
BRS Guariba	0,08 Aa	0,07 Aa	0,09 Aa	0,07 B
BRS Marataoã	0,11 Aa	0,05 Aa	0,07 Aa	0,07 B
BRS Milênio	0,12 Aa	0,15 Aa	0,07 Aa	0,12 A
BRS Urubuquara	0,20 Aa	0,10 Ab	0,05 Ab	0,12 A
BRS Mazagão	0,10 Aa	0,14 Aa	0,11 Aa	0,12 A
BRS Novaera	0,10 Aa	0,10 Aa	0,14 Aa	0,12 A
Médias	0,10 a	0,11 a	0,09 a	-
CV (%)	30,60			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

**Tabela 11.** Eficiência de nodulação de cultivares de feijão-caupi na fase inicial da floração (52 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Cultivares	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
	Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )			
Amapá	0,12 Aa	0,08 Aa	0,14 Aa	0,11 B
Monteiro	0,17 Aa	0,13 Aa	0,21 Aa	0,17 B
Patativa	0,14 Aa	0,17 Aa	0,15 Aa	0,16 B
Canapu	0,19 Aa	0,04 Aa	0,17 Aa	0,13 B
IPA 206	0,13 Aa	0,20 Aa	0,06 Aa	0,13 B
Mauá	0,19 Aa	0,25 Aa	0,19 Aa	0,21 A
BR17 Gurguéia	0,10 Aa	0,10 Aa	0,13 Aa	0,11 B
BRS Rouxinol	0,17 Aa	0,13 Aa	0,14 Aa	0,15 B
BRS Paraguaçu	0,14 Aa	0,11 Aa	0,20 Aa	0,15 B
BRS Guariba	0,05 Aa	0,18 Aa	0,09 Aa	0,11 B
BRS Marataoã	0,13 Aa	0,09 Aa	0,06 Aa	0,09 B
BRS Milênio	0,17 Aa	0,13 Aa	0,07 Aa	0,13 B
BRS Urubuquara	0,17 Aa	0,25 Aa	0,24 Aa	0,22 A
BRS Mazagão	0,13 Aa	0,08 Aa	0,12 Aa	0,11 B
BRS Novaera	0,14 Aa	0,17 Aa	0,15 Aa	0,15 B
Médias	0,14 a	0,14 a	0,14 a	-
CV (%)	41,28			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

#### 4.2. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e Estirpes de *Bradyrhizobium* em Condições Assépticas

A análise de variância dos dados revelou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para ancestrais e para a interação ancestral x estirpe, em relação às variáveis: número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação, no primeiro ensaio.

Em relação a número de nódulos, aos 36 DAE (fase de desenvolvimento vegetativo), o genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais na média geral e quando associado à estirpe BR 3267. Na interação com a estirpe BR 3299 foram superiores os genótipos ancestrais CNC 0434, TVu 410, TVx 289 4G, Alagoano, IT87D-1627 e TVu 408-P2, enquanto que com o consórcio de estirpes apresentaram maiores médias TVu 2331, Alagoano e IT87D-1627. Entre as estirpes a BR 3267 foi superior quando associada ao genótipo Alagoano e o consórcio de estirpes quando associado à TVu 36 (Tabela 12).

**Tabela 12.** Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	139 Ba	65 Ba	59 Ba	88 C
Pitiúba	153 Ba	82 Ba	33 Ba	90 C
CNC 0434	154 Ba	161 Aa	142 Ba	153 B
TVu 410	87 Ba	128 Aa	52 Ba	89 C
TVu 2331	63 Ba	33 Ba	166 Aa	87 C
TVx 289- 4G	79 Ba	126 Aa	104 Ba	103 C
Alagoano	395 Aa	186 Ab	210 Ab	264 A
IT87D-1627	140 Ba	121 Aa	217 Aa	160 B
TVu 36	76 Bb	14 Cc	120 Ba	70 C
TVu 408-P2	42 Ba	45 Aa	134 Ba	74 C
Médias	126 a	97 a	130 a	-
CV (%)	52,36			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Aos 56 DAE (início da floração) os genótipos ancestrais TVu 2331, Alagoano e IT87D-1627 apresentaram médias superiores, sendo que CNC 0434, TVu 2331, TVx 289 4G Alagoano, IT87D-1627 e TVu 36, apresentaram maior número de nódulos quando associados à estirpe BR 3267. Em associação com a estirpe BR 3299, os genótipos ancestrais TVu 2331, Alagoano e IT87D-1627, também, foram superiores. Em interação com o consórcio de estirpes, apresentaram maior número de nódulos, os ancestrais Pitiúba, TVu 2331, Alagoano e IT87D-1627 (Tabela 13).

Os ancestrais TVu 2331, Alagoano e IT87D-1627 destacaram-se no início da floração com as duas estirpes isoladas e em consórcio, sendo que entre 36 e 56 DAE, o Alagoano apresentou um incremento em número de nódulos de 30% quando associado à estirpe BR 3267 e de 67% quando em interação com o consórcio de estirpes.



**Tabela 13.** Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	208 Ba	231 Ba	289 Ba	242 B
Pitiúba	189 Bb	306 Bb	658 Aa	384 B
CNC 0434	421 Aa	211 Ba	340 Ba	324 B
TVu 410	102 Ba	213 Ba	339 Ba	218 B
TVu 2331	776 Aa	465 Aa	485 Aa	572 A
TVx 289 4G	399 Aa	152 Ba	254 Ba	268 C
Alagoano	563 Aa	556 Aa	629 Aa	583 A
IT87D-1627	476 Aa	556 Aa	645 Aa	559 A
TVu 36	477 Aa	237 Ba	159 Ba	291 B
TVu 408-P2	146 Ba	126 Ba	27 Bb	100 C
Médias	386 a	319 a	368 a	-
CV (%)	41,67			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos são maiores do que os apresentados por CARVALHO et al. (2008) que em ensaio de especificidade, em condições assépticas, com a cultivar IPA 206 verificaram aos 35 DAE uma variação de 11 a 58 nódulos vaso<sup>-1</sup> e também aos observados por MELO & ZILLI (2009), que em casa de vegetação verificaram número de nódulos por planta na faixa de 43 a 98 nódulos para cinco cultivares de feijão-caupi, aos 35 DAE.

Por outro lado, os resultados observados estão próximos aos obtidos por GUALTER (2010), na avaliação de estirpes de rizóbio inoculadas em três cultivares de feijão-caupi aos 55 DAE, em condições assépticas.

Observou-se que nesta fase, o ancestral Alagoano esteve entre os genótipos que apresentaram os maiores números de nódulos, independentemente da estirpe associada. No entanto, na primeira fase seu desempenho foi melhor com a BR 3267.

O número de nódulos variou de 70 a 264 nº planta<sup>-1</sup> aos 36 DAE e de 100 a 583 aos 56 DAE. Estes dados são superiores aos obtidos por FALL et al. (2003) que em estudo de diversidade genética com sete cultivares locais de feijão-caupi, no Senegal, em casa de vegetação, obtiveram variações de 14 a 30 nódulos planta<sup>-1</sup>, aos 35 DAE.

Quanto à massa de nódulos secos, aos 36 DAE os genótipos ancestrais CNC 0434 e Alagoano mostraram as maiores médias. O genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais quando em interação com a estirpe BR 3267. Em associação com a estirpe BR 3299, os genótipos ancestrais CNC 0434, TVx 289 4G e Alagoano foram superiores, enquanto que com o consórcio de estirpes, os ancestrais Alagoano e TVu 408 - P2 apresentaram maiores massas de nódulos. A estirpe BR 3299 foi superior à BR 3267 isolada e em consórcio quando associada a CNC 0434 (Tabela 14).

No início da floração os genótipos ancestrais TVu 36 e TVu 408-P2 apresentaram as menores médias. CNC 0434, TVu 2331, TVx 289 4G, Alagoano, IT87D-1627 e TVu 36 obtiveram maior massa de nódulos secos quando associados à estirpe BR 3267. Na associação com a estirpe BR 3299 foram superiores os seguintes ancestrais TVu 1190, Pitiúba, TVu 2331, TVx 289 4G, Alagoano e IT87D-1627.

**Tabela 14.** Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
	Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	283 Ba	96 Bb	149 Ba	176 B
Pitiúba	256 Ba	80 Bb	79 Cb	138 B
CNC 0434	241 Bb	511 Aa	222 Bb	325 A
TVu 410	183 Ba	191 Ba	151 Ba	175 B
TVu 2331	350 Ba	44 Cb	191 Ba	90 C
TVx 289 4G	146 Ba	256 Aa	172 Ba	191 B
Alagoano	545 Aa	255 Ab	468 Aa	423 A
IT87D-1627	262 Ba	154 Ba	265 Ba	227 B
TVu 36	81 Cb	7 Dc	227 Ba	105 B
TVu 408-P2	139 Ba	89 Ba	328 Aa	185 B
Médias	212 a	163 a	233 a	-
CV (%)	44,15			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em interação com o consórcio de estirpes, além dos ancestrais CNC 0434 e TVu 410 apresentaram também, valores superiores de massa de nódulos, os mesmos genótipos ancestrais que se destacaram com a estirpe BR 3299, com exceção de TVu 2331. O consórcio (BR 3267+ BR 3299) foi superior às estirpes isoladas, quando associado ao genótipo TVu 410 (Tabela 15).

**Tabela 15.** Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	866 Aa	1006 Aa	1041 Aa	971 A
Pitiúba	368 Ba	865 Aa	1090 Aa	774 A
CNC 0434	1384 Aa	501 Bb	1294 Aa	1060 A
TVu 410	263 Bb	439 Bb	1488 Aa	730 A
TVu 2331	796 Aa	1121 Aa	674 Ba	864 A
TVx 289 4G	868 Aa	909 Aa	855 Aa	877 A
Alagoano	1511 Aa	1234 Aa	1350 Aa	1365 A
IT87D-1627	726 Aa	1115 Aa	1099 Aa	980 A
TVu 36	932 Aa	489 Ba	242 Ba	554 B
TVu 408-P2	599 Ba	322 Ba	69 Ca	330 B
<b>Médias</b>	840 a	764 a	889 a	-
CV (%)	49,79			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O ancestral Alagoano destacou-se aos 56 DAE com as duas estirpes isoladas e em consórcio, sendo que entre a primeira e a segunda coleta houve incrementos em massa seca de nódulos na ordem de 64%, 79% e 65% quando associado à BR 3267, à BR 3299 e ao consórcio, respectivamente.

Os dados obtidos com o Alagoano indicaram que este ancestral pode apresentar uma boa capacidade de nodulação, considerando-se que o número e a massa dos nódulos são indicadores usuais da capacidade de nodulação da planta. No entanto, é sempre necessário que esses parâmetros estejam associados à eficiência da nodulação (FERREIRA & CASTRO, 1995).

A massa seca de nódulos é um parâmetro intimamente relacionado com a FBN e tem sido recomendado para programas de melhoramento que objetivam o aumento da fixação de N<sub>2</sub>. As correlações que esse parâmetro estabelece com a quantidade de N fixado, permitem uma redução substancial no tempo, nos custos e nos materiais desses programas (ANKOMAH et al., 1996).

CASTILLEJA & ROSKOSKI (1983) avaliaram em condições de campo, 17 genótipos de feijão-caupi e verificaram que o N fixado estava diretamente associado à massa de nódulos secos. Concluíram que em genótipos com baixa nodulação ocorria uma troca ineficiente de sinais moleculares e de maior especificidade em relação ao microssimbionte. Essa premissa pode justificar a baixa massa seca de nódulos apresentada pelo genótipo ancestral TVu 408 - P2 no início da floração.

Considerando-se a variável massa seca da parte aérea, na fase de desenvolvimento vegetativo, os genótipos ancestrais Alagoano, IT87D-1627 e TVu 408-P2 obtiveram as melhores médias. Alagoano e IT87D-1627 foram superiores quando associados à estirpe BR 3267. Nas associações com a BR 3299, os genótipos ancestrais não apresentaram diferença estatística significativa e com o consórcio de estirpes, destacou-se o genótipo ancestral TVu 408-P2. O consórcio de estirpes destacou-se das estirpes isoladas quando em interação com este genótipo (Tabela 16).

**Tabela 16.** Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 +BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	1,48 Ba	0,33 Aa	0,42 Ba	0,74 B
Pitiúba	0,43 Ba	0,01 Aa	0,01 Ba	0,14 B
CNC 0434	0,23 Ba	1,86 Aa	0,36 Ba	0,81 B
TVu 410	0,90 Ba	0,41 Aa	0,01 Ba	0,43 B
TVu 2331	0,17 Ba	0,21 Aa	0,69 Ba	0,36 B
TVx 289 4G	0,35 Ba	0,82 Aa	0,01 Ba	0,39 B
Alagoano	3,99 Aa	1,72 Ab	1,59 Bb	2,44 A
IT87D-1627	3,35 Aa	0,41 Ab	0,96 Bb	1,57 A
TVu 36	0,10 Ba	0,01 Aa	0,59 Ba	0,20 B
TVu 408-P2	0,46 Bb	0,67 Ab	3,44 Aa	1,52 A
Médias	1,01 a	0,53 a	1,12 a	-
CV(%)	48,40			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Na fase de início da floração, os ancestrais CNC 0434, Alagoano e IT87D-1627 destacaram-se em massa seca da parte aérea na média geral. Nas interações, Pitiúba, CNC 0434 e Alagoano foram superiores com a BR 3267. Com a estirpe BR 3299 os genótipos ancestrais não diferiram entre si, enquanto que com o consórcio apresentaram superioridade os ancestrais Pitiúba, CNC 0434, TVu 410, Alagoano e IT87D-1627 (Tabela 17).

Entre as duas fases, o genótipo ancestral Alagoano, em associação com a estirpe BR 3267, apresentou um incremento de 71% em massa seca da parte aérea. Os teores de MSPA

apresentados pelo Alagoano sugerem que esse ancestral apresenta bons caracteres para produção de biomassa.

A considerável produção de biomassa por este ancestral pode significar uma vantagem sobre os demais, considerando-se que além do consumo humano e animal, o feijão-caupi, também pode ser utilizado como adubo verde para fornecimento de nitrogênio ao solo (CASTRO et al., 2004).

**Tabela 17.** Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	5,96 Ba	8,70 Aa	3,90 Ba	6,19 B
Pitiúba	11,65 Aa	4,66 Aa	7,76 Aa	4,69 B
CNC 0434	11,06 Aa	7,60 Aa	9,10 Aa	9,25 A
TVu 410	1,75 Ba	1,92 Aa	7,19 Aa	3,62 B
TVu 2331	3,57 Ba	1,99 Aa	3,29 Ba	2,95 B
TVx 289 4G	5,14 Ba	3,33 Aa	2,86 Ba	3,77 B
Alagoano	14,02 Aa	7,63 Aa	11,48 Aa	11,04 A
IT87D-1627	6,83 Ba	9,79 Aa	9,72 Aa	8,78 A
TVu 36	1,89 Ba	0,76 Aa	1,53 Ba	1,39 B
TVu 408-P2	3,42 Ba	2,56 Aa	0,01 Ba	1,99 B
Médias	5,83 a	4,26 a	5,34 a	-
CV(%)	42,69			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para a variável nitrogênio acumulado na parte aérea, aos 36 DAE os genótipos ancestrais Alagoano, IT87D-1627 e TVu 408-P2 apresentaram diferença estatística significativa dos demais. Alagoano e IT87D-1627 apresentaram maior acúmulo de nitrogênio quando em associação com a estirpe BR 3267. Com a BR 3299 destacou-se TVu 2331. No entanto, essa estirpe teve a menor média significativa. Com o consórcio de estirpes, os ancestrais Alagoano e TVu 408-P2 foram superiores em nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabelas 18).

**Tabela 18.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	48 Ba	12 Bb	17 Bb	26 B
Pitiúba	27 Ba	2 Cb	8 Cb	12 B
CNC 0434	15 Bb	67 Ba	14 Bb	32 B
TVu 410	24 Ba	22 Ba	9 Cb	18 B
TVu 2331	8 Cc	167 Aa	33 Bb	14 B
TVx 289 4G	20 Ba	27 Ba	9 Ca	19 B
Alagoano	167 Aa	49 Bb	68 Ab	94 A
IT87D-1627	125 Aa	21 Bb	33 Bb	60 A
TVu 36	9 Ca	7 Cb	28 Ba	15 B
TVu 408-P2	21 Bb	11 Bb	133 Aa	55 A
Médias	41 a	19 b	44 a	-
CV (%)	42,38			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A estirpe BR 3267 foi superior a BR 3299 e semelhante ao consórcio na média geral. Em interação com TVu 1190, Pitiúba, Alagoano e IT87D-1627, a BR 3267 foi superior. A BR 3299 destacou-se com CNC 0434 e TVu 2331. Por sua vez, o consórcio apresentou diferença significativa com o ancestral TVu 408-P2.

Constatou-se que os ancestrais Alagoano, IT87D-1627 e TVu 408-P2 que apresentaram superioridade significativa para massa seca da parte aérea também foram superiores em nitrogênio acumulado na parte aérea.

Esta relação direta entre MSPA e NAPA, indica que a seleção de estirpes pode ser feita apenas com base na biomassa, considerando-se que a medida que a planta acumula maior quantidade de N isto se reflete em maior produção de biomassa. HAYDOCK et al. (1980) e SOUZA et al. (2008) sugerem a MSPA como indicador eficiente para avaliação da FBN.

No início da floração, considerando-se a média geral para ancestrais verificou-se superioridade em nitrogênio acumulado na parte aérea para TVu 1190, CNC 0434, Alagoano e IT87D-1627. Os ancestrais apresentaram desempenhos inferiores aos demais quando inoculados com a BR 3267. Enquanto que TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434, TVx 289 4G, Alagoano e IT87D-1627 foram também melhores na associação com a BR 3299. Com o consórcio de estirpes TVu 36 e TVu 408-P2 apresentaram os menores valores (Tabela 19).

Para os ancestrais o nitrogênio acumulado na parte aérea aos 56 DAE variou de 48,89 a 289,44 mg planta<sup>-1</sup>. Na avaliação da eficiência simbiótica de cultivares de feijão-caupi, MARRA et al. (2009) observaram resultados inferiores com a cultivar BR 17 Gurguéia. Em estudos anteriores sobre a efetividade de estirpes de rizóbios selecionadas para feijão-caupi, SILVA et al. (2008) obtiveram resultados superiores para nitrogênio acumulado na parte aérea com o ancestral CNCx 409-11F em interação com a BR 3267.

**Tabela 19.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	194 Aa	263 Aa	127 Aa	195 A
Pitiúba	51 Bb	166 Aa	243 Aa	153 B
CNC 0434	296 Aa	225 Aa	244 Aa	255 A
TVu 410	67 Bb	64 Bb	244 Aa	125 B
TVu 2331	145 Aa	57 Bb	128 Aa	110 B
TVx 289 4G	180 Aa	118 Aa	104 Aa	134 B
Alagoano	287 Aa	202 Aa	174 Aa	221 A
IT87D-1627	222 Aa	365 Aa	281 Aa	289 A
TVu 36	66 Ba	28 Cb	52 Ba	49 C
TVu 408-P2	121 Aa	87 Ba	6 Cb	71 C
Médias	171 a	138 a	149 a	-
CV (%)	46,03			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A maior média de eficiência de nodulação entre os ancestrais foi apresentada pelo TVu 2331. Nas interações, este ancestral também se destacou com as duas estirpes isoladas e em consórcio. Os ancestrais Alagoano e IT87D-1627 apresentaram bons resultados com a estirpe BR 3267, enquanto que TVu 2331 e TVu 36 revelaram maior eficiência com a BR 3299. Com o consórcio, além de TVu 2331, destacaram-se TVu 1190, Alagoano e TVu 408-P2 (Tabela 20).

**Tabela 20.** Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	0,17 Ba	0,13 Ba	0,22 Aa	0,17 B
Pitiúba	0,10 Ba	0,03 Bb	0,03 Bb	0,06 B
CNC 0434	0,06 Bb	0,13 Ba	0,09 Ba	0,10 B
TVu 410	0,13 Ba	0,12 Ba	0,05 Bb	0,10 B
TVu 2331	0,24 Ab	3,80 Aa	0,19 Ab	1,41 A
TVx 289 4G	0,14 Ba	0,11 Ba	0,02 Bb	0,09 B
Alagoano	0,31 Aa	0,19 Ba	0,26 Aa	0,25 B
IT87D-1627	0,48 Aa	0,14 Bb	0,15 Bb	0,25 B
TVu 36	0,11 Bb	1,05 Aa	0,09 Bb	0,41 B
TVu 408-P2	0,15 Bb	0,12 Bb	0,40 Aa	0,22 B
<b>Médias</b>	0,19 b	0,58 a	0,19 b	-
CV (%)	26,13			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A BR 3267 foi superior a BR 3299 e ao consórcio quando associada à Pitiúba e a IT87D-1627. Em associação com TVu 2331 e TVu 36, a BR 3299 foi superior, enquanto que o consórcio destacou-se quando em interação com TVu 408-P2.

Observou-se que a combinação do ancestral TVu 2331 com a BR 3299 apresentou em média uma eficiência de 78% superior aos demais ancestrais associados à esta estirpe, o que representa um indicativo de que o ancestral TVu 2331 tenha maior especificidade por esta estirpe e vice-versa.

No início da floração, os genótipos TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434, TVu 410, IT87D-1627 e TVu 408-P2 apresentaram as maiores médias em eficiência de nodulação. Com a BR 3267 foram menos eficientes os ancestrais Pitiúba, TVu 2331 e TVu 36. O ancestral CNC 0434 foi o único a apresentar interação significativamente superior com a BR 3299, enquanto que Pitiúba, CNC 0434, TVu 2331, IT87D-1627 e TVu 36 apresentaram diferença significativa com o consórcio de estirpes. A BR 3299 foi superior à BR 3267 e ao consórcio em interação com CNC 0434 e o consórcio foi melhor que as estirpes isoladas quando associada a TVu 36 (Tabela 21).

Observou-se que a eficiência de nodulação entre os dois estádios de desenvolvimento foi muito diferente. Aos 36 DAE, apenas o ancestral TVu 2331 foi mais eficiente, enquanto que aos 56 DAE, além deste ancestral, outros cinco também apresentaram maior eficiência nodular. Em se tratando das estirpes, a BR 3299 apresentou melhores interações no estádio de desenvolvimento vegetativo, por sua vez, a BR 3267 revelou maior número de interações eficientes na fase inicial da floração, embora as médias não tenham diferido significativamente.

Diante dos dados obtidos pode-se inferir que a maioria dos ancestrais avaliados puderam se beneficiar mais da FBN quando inoculados com a BR 3267, porque houve maior acúmulo de N com esta estirpe.

A BR 3267 tem apresentado eficiência em diversos estudos. ZILLI et al. (2006) em estudos de avaliação da contribuição de estirpes de *Bradyrhizobium* para a FBN em feijão-caupi, observaram que na produção de matéria seca, os tratamentos com inoculação da estirpe BR 3267 apresentaram produção pelo menos 15% maior que o tratamento com a estirpe BR 2001.

**Tabela 21.** Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (56 DAE). Seropédica - RJ, 2008, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
	Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	0,22 Aa	0,26 Ba	0,12 Ba	0,20 A
Pitiúba	0,14 Ba	0,19 Ba	0,22 Aa	0,18 A
CNC 0434	0,21 Ab	0,45 Aa	0,19 Ab	0,28 A
TVu 410	0,26 Aa	0,15 Ba	0,16 Ba	0,19 A
TVu 2331	0,18 Ba	0,05 Cb	0,19 Aa	0,14 B
TVx 289 4G	0,21 Aa	0,13 Ba	0,12 Ba	0,15 B
Alagoano	0,19 Aa	0,16 Ba	0,13 Ba	0,16 B
IT87D-1627	0,31 Aa	0,33 Ba	0,26 Aa	0,30 A
TVu 36	0,07 Bb	0,06 Cb	0,22 Aa	0,11 B
TVu 408-P2	0,20 Aa	0,27 Ba	0,09 Bb	0,19 A
Médias	0,20 a	0,20 a	0,17 a	-
CV (%)	43,52			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em estudo anterior, MARTINS et al. (2003) observaram em campo que a BR 3267 proporcionava produtividade semelhante à testemunha nitrogenada, em áreas de sequeiro com baixo aporte de fertilizantes. Concluíram que essa estirpe constituía-se em um importante componente para a otimização da FBN em feijão-caupi na região semiárida brasileira.

MELO & ZILLI (2009) em estudos de FBN com cultivares de feijão-caupi, recomendadas para o estado de Roraima, constataram que para eficiência nodular não havia diferença significativa entre as cultivares avaliadas, no entanto entre as estirpes, a BR 3262 apresentava eficiência superior à BR 3267.

Foram realizadas análises de correlações entre as variáveis avaliadas nos dois estádios de desenvolvimento das plantas e observou-se que na fase de desenvolvimento vegetativo (36 DAE) e no início da floração (56 DAE) houve correlação significativa positiva entre número de nódulos e massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea. Com MSN foram obtidas altas correlações com MSPA e NAPA (Anexo D).

Esses dados são coerentes com os resultados de HUNGRIA & BOHRER (2000) que observaram alta correlação positiva ( $r = 0,91$ ) entre a massa seca de nódulos e a matéria seca da parte aérea, em 152 cultivares de soja. De acordo com NASCIMENTO et al. (2010), a medida que ocorre aumento da biomassa seca de nódulos, têm-se um incremento na sua biomassa seca da parte aérea.

De acordo com DÖBEREINER (1966), a massa nodular apresenta correlações positivas com a quantidade de N acumulado em leguminosas. Em consonância com esse relato, WADISIRISUK & WEAVER (1985) observaram, em estudos de nodulação com a cultura do feijão-caupi, correlação positiva entre número de nódulos e a quantidade de N acumulado. Isso sugere que plantas com maior número de nódulos fixam mais N, embora, de acordo com HANSEN et al. (1993), essa correlação não seja linear, sendo necessário para a otimização da FBN não só muitos nódulos, mas nódulos eficientes.

No segundo ensaio, a análise de variância dos dados indicou efeito significativo ( $p < 0,05$ ), na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE), para ancestrais, fontes de N e ancestrais x fontes de N em relação a número de nódulos. Para massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado da parte aérea e eficiência de nodulação houve efeito significativo apenas para a interação (ancestrais x fontes de N).

Na fase inicial da floração (50 DAE) houve efeito significativo para fontes de N e ancestrais x fontes de N em número de nódulos e massa seca de nódulos. Para massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado da parte aérea houve significância estatística para ancestrais, fontes de N e ancestrais x fontes de N. Em eficiência de nodulação foi significativo apenas a interação ancestrais e estirpes.

Em número de nódulos, na fase do desenvolvimento vegetativo, o ancestral Macaibo diferiu significativamente de UCR 194, assim como também diferiu do TVx 3777-04E quando associado à estirpe BR 3267. No efeito das estirpes, a BR 3267 e o consórcio (BR 3267 + BR 3299) apresentaram melhores associações com o ancestral Macaibo, enquanto que o consórcio de estirpes também se destacou com TVx 3777-04E. A estirpe BR 3267 e o consórcio apresentaram maiores médias (Tabela 22).



**Tabela 22.** Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	78 ABa	37 Aa	70 Aa	61 AB
Aparecido Moita	74 ABa	35 Aa	56 Aa	55 AB
TVx 3777-04E	27 Bb	17 Ab	100 Aa	48 AB
UCR 194	55 Ba	14 Aa	28 Aa	33 B
Macaibo	107 Aa	47 Ab	99 Aa	84 A
TVx 4659-03E	69 ABa	47 Aa	88 Aa	68 AB
Médias	68,44 a	32,44 b	73,56 a	-
CV (%)	26,86			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste deTukey, a 5% de probabilidade.

Da mesma forma que ocorreu aos 30 DAE, a BR 3267 e o consórcio de estirpes associados à Macaibo foram superiores à BR 3299. Com o genótipo TVx 3777-04E ocorreu o contrário da fase anterior, apresentando melhores resultados com as duas estirpes isoladas. A estirpe BR 3267, isolada e em consórcio com a BR 3299, apresentou as maiores médias, no entanto o consórcio não diferiu da BR 3299 (Tabela 23).

Segundo RAYMOND et al. (2004), o número de nódulos é consequência da densidade de bactérias presentes no inoculante, representando uma medida semiquantitativa do número de células presentes. A maior nodulação da estirpe BR 3267 com o genótipo ancestral Macaibo, pode ser um indicativo da especificidade dessa estirpe para esse genótipo.

Estudos realizados por MARTINS et al. (2003) no semiárido, LACERDA et al. (2004) na Mata Atlântica, SOARES et al. (2006) em Minas Gerais e ZILLI et al. (2006) em Roraima, indicaram a BR 3267 como estirpe com boa eficiência simbiótica. ZILLI et al. (2006) também verificaram rendimentos semelhantes à aplicação de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N com a cultivar BRS Mazagão associada à essa estirpe.

Para massa seca de nódulos na fase de desenvolvimento vegetativo, TVx 3777 - 04E e Macaibo apresentaram resultados inferiores com a BR 3267. Por sua vez, a estirpe BR 3267 diferiu significativamente em combinação com Aparecido Moita e UCR 194 e o consórcio superou as estirpes isoladas com o ancestral TVx 3777 - 04E (Tabela 24).

**Tabela 23.** Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	185 Aa	149 Aa	167 Aa	167 A
Aparecido Moita	186 Ab	72 Ab	313 Aa	191 A
TVx 3777-04E	240 Aa	60 Aa	133 Ab	144 A
UCR 194	218 Aa	94 Aa	115 Aa	142 A
Macaibo	374 Aa	96 Ab	324 Aa	265 A
TVx 4659-03E	143 Aa	99 Aa	161 Aa	134 A
Médias	224 a	95 b	202 ab	-
CV (%)	37,00			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**Tabela 24.** Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	153 Aa	95 Aa	66 Aa	105 A
Aparecido Moita	141 Aa	87 Ab	58 Ab	95 A
TVx 3777-04E	34 Bb	44 Ab	152 Aa	76 A
UCR 194	113 Aa	30 Ab	16 Ab	54 A
Macaibo	88 Ba	62 Aa	64 Aa	72 A
TVx 4659-03E	166 Aa	152 Aa	92 Aa	136 A
Médias	116 a	78 a	80 a	-
CV (%)	20,87			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Na fase inicial da floração, em massa de nódulos, os ancestrais Macaibo e TVx 4659-03E mostraram diferença significativa dos demais quando associados à BR 3267. No entanto, TVx 4659-03E quando em combinação com a BR 3299 revelou o menor desempenho. O ancestral Aparecido Moita apresentou bom desempenho com a BR 3299, diferindo significativamente de UCR 194 e TVx 4659-03E. A BR 3267 alcançou maior massa de nódulos com o ancestral Macaibo. As maiores médias entre as estirpes foram apresentadas pela BR 3267 e pelo consórcio das estirpes avaliadas (Tabela 25).

**Tabela 25.** Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 +BR 3299	
Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	497 Ba	647 Aa	689 ABa	611 A
Aparecido Moita	542 Bb	539 Aab	1118 Aa	623 A
TVx 3777- 04E	567 Ba	338 Ab	509 ABa	410 A
UCR 194	406 Ba	273 Aa	366 Ba	370 A
Macaibo	855 Aa	208 Ab	481 ABb	536 A
TVx 4659- 03E	797 Aa	154 Bb	338 Bb	558 A
Médias	611 a	360 b	584 ab	-
CV (%)	38,79			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Considerando-se que o número e a massa dos nódulos são indicadores usuais da capacidade de nodulação da planta (FERREIRA & CASTRO, 1995), conclui-se que os genótipos Macaibo e TVx 4659 - 03E quando associados à estirpe BR 3267 podem apresentar uma boa capacidade de nodulação.

ANKOMAH et al. (1996) citam que a massa seca de nódulos é um parâmetro intimamente relacionado com a FBN e tem sido recomendado para programas de melhoramento que objetivam o aumento da fixação de N<sub>2</sub>. Segundo CASTILLEJA & ROSKOSKI (1983), genótipos com baixa nodulação são indicadores da troca ineficiente de sinais moleculares e de maior especificidade em relação ao microssimbionte.

Com relação à massa seca da parte aérea, na fase de desenvolvimento vegetativo, os melhores resultados foram obtidos com Aparecido Moita e TVx4659-03E quando em interação com a estirpe BR 3267, sendo que em ambas associações a estirpe BR 3267 foi superior ao consórcio (Tabela 26).

**Tabela 26.** Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	0,66 Ba	0,51 Aa	0,48 Aa	0,55 A
Aparecido Moita	1,31 Aa	0,76 Aab	0,43 Ab	0,83 A
TVx 3777- 04E	0,59 Ba	0,69 Aa	0,99 Aa	0,76 A
UCR 194	0,77 Ba	0,24 Aa	0,36 Aa	0,45 A
Macaibo	0,62 Ba	0,38 Aa	0,66 Aa	0,55 A
TVx 4659 - 03E	1,22 Aa	0,93 Aab	0,74 Ab	0,96 A
Médias	0,86 a	0,58 a	0,61a	-
CV (%)	39,46			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Na fase inicial da floração o genótipo ancestral UCR 194 apresentou menor quantidade de massa seca da parte aérea. O ancestral TVx 4659-03E quando associado à estirpe BR 3267 apresentou diferença significativa em massa seca da parte aérea com relação a UCR 194, que por sua vez não diferiu dos demais ancestrais.

Entre as estirpes as maiores médias foram da BR 3267 e do consórcio de estirpes. A BR 3267 quando associada a Macaibo e TVx 4559-03E foi estatisticamente superior as demais estirpes. Nas associações com TVx 3777-04E e UCR 194, esta estirpe apresentou resultados semelhantes ao consórcio (Tabela 27).

Quanto ao nitrogênio da parte aérea, na fase de desenvolvimento vegetativo, a estirpe BR 3267 diferiu significativamente do consórcio quando associada ao genótipo ancestral Aparecido Moita. Quando associada à UCR 194, esta estirpe diferiu também da BR 3299. O genótipo UCR 194 em interação com a BR 3299 diferiu dos demais ancestrais, apresentando menor acúmulo de nitrogênio na parte aérea (Tabela 28).

**Tabela 27.** Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	3,06 ABa	4,03 Aa	4,44 Ba	3,85 A
Aparecido Moita	3,02 ABab	1,16 Bb	6,63 Aa	3,60 A
TVx 3777- 04E	3,51 ABa	0,84 Bb	3,39 Ba	2,58 A
UCR 194	2,01 Ba	1,72 Bb	2,13 Ba	1,95 B
Macaibo	5,97 ABa	1,53 Bb	2,78 Bb	3,43 A
TVx 4659-03E	7,00 Aa	3,40 Ab	2,63 Bb	4,35 A
Médias	4,10 a	2,11 b	3,67 ab	-
CV (%)	38,41			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**Tabela 28.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	22 Aa	17 Aa	15 Aa	18 A
Aparecido Moita	46 Aa	27 Aab	13 Ab	29 A
TVx 3777- 04E	20 Aa	22 Aa	36 Aa	26 A
UCR 194	26 Aa	6 Bb	11 Ab	14 A
Macaibo	20 Aa	13 Aa	22 Aa	19 A
TVx 4659- 03E	41 Aa	32 Aa	25 Aa	33 A
Médias	29 a	19 a	20 a	-
CV (%)	32,72			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Na fase inicial da floração, a menor média em nitrogênio acumulado na parte aérea foi apresentada por UCR 194. Os ancestrais Macaibo e TVx4659-03E quando associados à BR 3267 foram superiores a TVu 59 e UCR 194. Na associação com a BR 3299, os genótipos TVu 59 e TVx4659-03E apresentaram NAPA significativamente superior a Aparecido Moita e TVx3777-04E. Na média geral, destacou-se a BR 3267 isolada e em consórcio com a BR 3299 (Tabela 29).

**Tabela 29.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Nitrogênio acumulado (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 59	97 Bb	189 Aa	201 Aa	162 A
Aparecido Moita	131 ABab	36 Bb	307 Aa	158 A
TVx 3777- 04E	162 ABa	34 b	159 Aa	118 A
UCR 194	79 Bb	64 ABb	110 Aa	84 B
Macaibo	283 Aa	70 ABb	140 Aab	164 A
TVx 4659 - 03E	256 Aa	145 Aa	121 Aa	174 A
Médias	168 a	90 b	163 a	-
CV (%)	30,97			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em acúmulo de N foram observadas melhores associações com a BR 3267. Essa estirpe tem apresentado resultados satisfatórios em outros estudos, como aqueles desenvolvidos por ZILLI et al. (2006) em solos de cerrado, os quais mostraram que a referida estirpe proporcionava em feijão-caupi um acúmulo de N em torno de 15% a mais que a estirpe testemunha (BR 2001) e em relação aos tratamentos com N.

Em eficiência de nodulação, aos 30 DAE, o genótipo ancestral TVx 3777- 04E em interação com a estirpe BR 3267 diferiu significativamente dos demais e mostrou o mesmo desempenho com a BR 3299, embora neste caso não tenha diferido do Aparecido Moita. Com o consórcio de estirpes destacou-se UCR 194 (Tabela 30).

Na fase inicial da floração, o genótipo TVx 4659-03E foi mais eficiente que os demais quando associado a BR 3299. A estirpe BR 3267 isolada e em consórcio com a BR 3299 apresentou maior eficiência com Aparecido Moita e TVx 3777-04E, enquanto que a BR 3299 isolada mostrou melhor interação com o ancestral TVx 4659-03E (Tabela 31).

O ancestral TVx 3777-04E inoculado com a estirpe BR 3267 apresentou melhor eficiência de nodulação que a maioria dos ancestrais nos dois estádios de desenvolvimento avaliados, o que indica que esse ancestral associado a essa estirpe pode se beneficiar mais da FBN. MELLO & ZILLI (2009) encontraram resultados semelhantes com a cultivar Pretinho precoce e a estirpe BR 3262 na avaliação da eficiência simbiótica de cultivares de feijão-caupi inoculadas com diferentes estirpes de rizóbios.

**Tabela 30.** Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase de desenvolvimento vegetativo (30 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )				
TVu 59	0,14 Ba	0,18 Ba	0,22 Ba	0,18 A
Aparecido Moita	0,33 Ba	0,31 ABa	0,22 Ba	0,28 A
TVx 3777- 04E	0,59 Aa	0,49 Aa	0,23 Bb	0,44 A
UCR 194	0,23 Bb	0,21 Bb	0,67 Aa	0,37 A
Macaibo	0,23 Ba	0,21 Ba	0,35 Ba	0,26 A
TVx 4659 - 03E	0,25 Ba	0,21 Ba	0,27 Ba	0,24 A
<b>Médias</b>	0,29 a	0,27 a	0,33 a	-
CV (%)	42,51			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**Tabela 31.** Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi na fase inicial da floração (50 DAE). Seropédica - RJ, 2009, em condições assépticas.

Ancestrais	Estirpes			Médias
	BR 3267	BR 3299	BR 3267 + BR 3299	
Eficiência de nodulação (mg mg <sup>-1</sup> )				
TVu 59	0,19 Aa	0,29 Ba	0,29 Aa	0,26 B
Aparecido Moita	0, 24 Aa	0,07 Cb	0,27 Aa	0,19 B
TVx 3777- 04E	0, 28 Aa	0,10 Cb	0,31 Aa	0,23 B
UCR 194	0, 19 Aa	0,23 Ba	0,30 Aa	0,24 B
Macaibo	0, 33 Aa	0,34 Ba	0,29 Aa	0,32 B
TVx 4659 - 03E	0, 32 Ab	0,95 Aa	0,36 Ab	0,54 A
Médias	0,26 a	0,33 a	0,30 a	-
CV (%)	46,60			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Foram observadas correlações significativas nos dois estádios de desenvolvimento das plantas (30 e 50 DAE) para massa seca de nódulos em relação à massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea. Por sua vez, a MSPA correlacionou-se significativamente com o nitrogênio acumulado na parte aérea (Anexo D).

Estes resultados são corroborados por SOUZA et al. (2008), que verificaram com a cultura da soja, alta correlação entre a massa seca dos nódulos e da parte aérea e concluíram que essa correlação é um indicador eficiente para avaliação da FBN.

As correlações encontradas entre a massa seca da parte aérea e o N acumulado são coerentes, porque uma maior produção de massa seca de parte aérea indica quase sempre um maior acúmulo de nitrogênio.

### 4.3. Interação Simbiótica entre Genótipos Ancestrais de Feijão-caupi e a Estirpe BR 3267 em Condições de Campo

A análise de variância indicou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para ancestrais, coleta e ancestrais x coleta em relação às variáveis: número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação, nas três coletas realizadas. Na análise de variância dos componentes de produção observou-se efeito significativo de ancestrais para as variáveis: peso de 100 sementes, peso de vagem, comprimento de vagem, número de grãos por vagem, peso de grão por vagem e rendimento de grãos secos.

Em número de nódulos, na fase de desenvolvimento vegetativo, não houve diferença estatística entre os genótipos ancestrais. Na fase inicial de floração foram observados maiores números de nódulos para Pitiúba, CNC 0434, TVu 59, TVu 2331, Alagoano, Aparecido Moita e Macaibo. Enquanto que na maturação das vagens foram obtidos melhores resultados com o ancestral TVu 59, TVu 36 e Macaibo. A média de número de nódulos foi superior na fase inicial da floração, com superioridade para a maioria dos ancestrais, com exceção de TVu 59, IT87D-1627, TVx 3777-04E e TVx 4659-03E (Tabela 32).

A média de número de nódulos para os ancestrais foi de 6 nódulos planta<sup>-1</sup> na fase de desenvolvimento vegetativo, de 18 nódulos planta<sup>-1</sup> no início da floração e de 5 na maturação das vagens. Esses dados evidenciam que aos 30 DAE nem todos os nódulos já estavam formados e que o pico da nodulação ocorreu na floração, sendo que após a floração ocorreu uma diminuição de nódulos provavelmente devido à senescência nodular.

**Tabela 32.** Número de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009.

Ancestrais	Estádios de desenvolvimento da planta			Médias
	Desenvolvimento vegetativo	Início da floração	Maturação das vagens	
	Número de nódulos (nº planta <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	4 Ab	13 Ba	3 Bb	7 A
Pitiúba	6 Ab	20 Aa	1 Bc	9 A
CNC 0434	4 Ab	20 Aa	3 Bb	9 A
TVu 59	10 Aa	20 Aa	12 Aa	14 A
TVu 410	3 Ab	12 Ba	5 Bb	6 A
TVu 2331	5 Ab	36 Aa	3 Bb	15 A
TVx 289 4G	4 Ab	13 Ba	3 Bb	7 A
Alagoano	9 Ab	33 Aa	4 Bb	15 A
IT87D-1627	7 Aa	11 Ba	6 Ba	8 A
Aparecido Moita	5 Ab	28 Aa	5 Bb	13 A
TVx 3777-04E	9 Aa	15 Ba	4 Ba	9 A
TVu 36	4 Ab	13 Ba	14 Aa	10 A
UCR 194	2 Ab	9 Ba	3 Bb	5 A
Macaibo	13 Aa	26 Aa	11 Aa	17 A
TVu 408-P2	3 Ab	9 Ba	4 Bb	5 A
TVx 4659-03E	7 Aa	12 Ba	5 Ba	8 A
<b>Médias</b>	6 b	18 a	5 b	-
CV1 (%)	34,55			
CV 2 (%)	26,64			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Os resultados estão coerentes com HUNGRIA & VARGAS (2000), os quais citam que o número de nódulos diminui no estágio que ocorre após o florescimento e o início do enchimento de grãos, devido à senescência nodular que ocorre em virtude dos fotossintatos acumulados pela planta hospedeira serem direcionados, nessa fase, para os grãos em detrimento dos nódulos.

Outros estudos indicam que na floração e na emissão das vagens, ocorre maior demanda de N pelo feijão-caupi, o que induz a planta a suprir essa necessidade por meio da FBN (MAYZ et al., 2003; SANGINGA et al., 2003; CREWS & PEOPLES, 2005).

Considerando-se as informações de que para a cultura da soja, o número mínimo de nódulos para garantir bom desempenho da FBN situa-se na faixa de 15 a 20 nódulos na raiz principal (HUNGRIA & BOHRER, 2000), conclui-se que os números de nódulos, nas fases de desenvolvimento vegetativo e maturação das vagens, foram baixos. No entanto, para genótipos de feijão-caupi as informações a esse respeito ainda não são conclusivas.

Com relação à massa seca de nódulos no início da floração, não houve diferença estatística significativa para os ancestrais. Na fase desenvolvimento vegetativo TVu 1190, UCR 194 e TVu 408-P2 apresentaram menor MSN. Na maturação das vagens, os ancestrais TVu 1190, CNC 0434, TVu 59, TVu 2331, TVx 3777-04E, UCR 194, Macaibo, TVu 408-P2 e TVx 4659-03E foram superiores (Tabela 33). Verificou-se maior valor médio na fase de maturação das vagens (225mg planta<sup>-1</sup>) e menores valores médios na fase de desenvolvimento vegetativo (87 mg planta<sup>-1</sup>)

Entre os estádios de desenvolvimento houve diferenças significativas. No início da floração, TVu 1190, CNC 0434, TVu 408-P2 e TVx 4659-03E diferiram da fase de desenvolvimento vegetativo. Enquanto que Alagoano foi superior na fase inicial da floração em relação as duas outras fases (Tabela 33).

**Tabela 33.** Massa seca de nódulos de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009.

Ancestrais	Estádios de desenvolvimento da planta			Médias
	Desenvolvimento vegetativo	Início da floração	Maturação das vagens	
	Massa seca de nódulos (mg planta <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	62 Ab	214 Aa	272 Aa	183 A
Pitiúba	116 Aa	185 Aa	149 Ba	150 B
CNC 0434	68 Ab	208 Aa	255 Aa	177 A
TVu 59	104 Ab	132 Ab	339 Aa	192 A
TVu 410	22 Ba	98 Aa	166 Ba	96 B
TVu 2331	67 Ac	230 Ab	358 Aa	218 A
TVx 289 4G	87 Aa	167 Aa	159 Ba	138 B
Alagoano	120 Ab	305 Aa	197 Bb	207 A
IT87D-1627	123 Aa	124 Aa	67 Ba	105 B
Aparecido Moita	67 Aa	148 Aa	158 Ba	124 B
TVx 3777-04E	168 Aa	156 Aa	236 Aa	186 A
TVu 36	92 Aa	142 Aa	161 Ba	132 B
UCR 194	20 Bb	139 Ab	294 Aa	151 B
Macaibo	122 Aa	138 Aa	227 Aa	163 A
TVu 408-P2	31 Bb	134 Aa	231 Aa	132 B
TVx 4659-03E	128 Ab	267 Aa	334 Aa	243 A
<b>Médias</b>	87 c	174 b	225 a	-
CV 1 (%)	46,07			
CV 2 (%)	44,82			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



XAVIER et al. (2007b), em estudos de interação da estirpe BR 2001 com cultivares de feijão-caupi observaram que houve aumento significativo na massa e no tamanho dos nódulos durante o ciclo fenológico das cultivares até a fase de maturação das vagens, indicando que, uma vez formados, os nódulos aumentaram a sua massa e, conseqüentemente, a eficiência da fixação de N.

Para massa seca da parte aérea, nas fases de desenvolvimento vegetativo e início da floração não houve diferença estatística entre os genótipos ancestrais. Enquanto que, na fase de maturação das vagens, os ancestrais TVu 59, TVu 36 e Macaibo, apresentaram maior quantidade de MSPA. Houve diferença estatística significativa para os estádios de desenvolvimento da planta, sendo que entre a fase inicial da floração e a de desenvolvimento vegetativo, a massa seca da parte aérea foi superior para todos os ancestrais, o que refletiu na maior média geral (Tabela 34).

**Tabela 34.** Massa seca da parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009.

Ancestrais	Estádios de desenvolvimento da planta			Médias
	Desenvolvimento vegetativo	Início da floração	Maturação das vagens	
	Massa seca da parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	2,64 Ac	31,67 Aa	11,45 Bb	15,25 A
Pitiúba	2,57 Ab	24,11 Aa	0,89 Cb	9,19 B
CNC 0434	3,13 Ab	30,22 Aa	4,89 Cb	12,75 B
TVu 59	2,53 Ab	32,22 Aa	20,11 Aa	18,29 A
TVu 410	1,08 Ac	18,89 Aa	5,78 Cb	8,58 B
TVu 2331	1,25 Ab	54,22 Aa	6,00 Cb	20,49 B
TVx 289 4G	5,14 Ab	20,22 Aa	5,89 Cb	10,42 B
Alagoano	2,04 Ab	25,00 Aa	5,00 Cb	10,68 B
IT87D-1627	3,96 Ab	13,55 Aa	5,67 Cb	7,73 B
Aparecido Moita	2,13 Ac	42,45 Aa	7,98 Bb	17,52 A
TVx 3777-04E	2,35 Ac	31,22 Aa	8,89 Bb	14,15 A
TVu 36	1,73 Ab	20,44 Aa	23,45 Aa	15,21 A
UCR 194	2,06 Ab	15,44 Aa	4,11 Cb	7,21 B
Macaibo	2,78 Ab	45,00 Aa	31,33 Aa	26,37 A
TVu 408-P2	2,51 Ab	15,44 Aa	4,11 Cb	7,36 B
TVx 4659-03E	15,04 Ab	22,89 Aa	5,33 Cb	14,42 A
<b>Médias</b>	3,31 c	27,69 a	9,43 b	-
CV 1 (%)	26,53			
CV 2 (%)	25,88			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Constatou-se que ao longo do ciclo fenológico ocorreu um incremento gradativo de massa seca da parte aérea de 88% entre a fase de desenvolvimento vegetativo e o início da floração e um decréscimo de 66% entre o início da floração e a fase de maturação das vagens. Resultados semelhantes foram observados por XAVIER et al. (2007b) em experimento de campo, no estado do Piauí, com a cultura do feijão-caupi em interação com a BR 2001. Nesse estudo foi verificado que a matéria seca da parte aérea aumentava até o estágio de formação de vagens, diminuindo gradativamente até o final do ciclo fenológico.

Considerando-se a variável nitrogênio acumulado na parte aérea, na fase de desenvolvimento vegetativo, os menores valores foram obtidos com os genótipos ancestrais TVu 410, TVu 2331 e TVu 36. Na fase inicial da floração foram superiores os genótipos

ancestrais TVu 2331 e Macaibo. Enquanto que, no estágio de maturação de vagens, sete genótipos mostraram resultados inferiores (CNC 0434, TVx 289 4G, Alagoano, IT87D-1627, UCR 194, TVu 408-P2 e TVx 4659-03E)

Houve diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento, sendo o estágio inicial da floração superior aos demais em NAPA para a maioria dos ancestrais, com exceção apenas de IT87D-1627 e TVu 408-P2. Na média geral maior acúmulo de nitrogênio foi apresentado para TVu 1190, TVu 59, TVu 2331, Aparecido Moita, TVx 3777-04E, Macaibo e TVx 4659-03E. Observou-se também que houve diferença estatística significativa na fase inicial da floração, o que confirma que nesta fase havia maior teor de nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabela 35).

**Tabela 35.** Nitrogênio acumulado na parte aérea de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009.

Ancestrais	Estádios de desenvolvimento da planta			Médias
	Desenvolvimento vegetativo	Início da floração	Maturação das vagens	
Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta <sup>-1</sup> )				
TVu 1190	98 Ab	1018 Ba	185 Ab	434 A
Pitiúba	93 Ab	636 Ca	12 Cb	247 B
CNC 0434	126 Ab	969 Ba	70 Bb	389 B
TVu 59	102 Ab	1147 Ba	326 Ab	525 A
TVu 410	36 Bb	560 Ca	129 Ab	242 B
TVu 2331	49 Bb	1845 Aa	100 Ab	665 A
TVx 289 4G	189 Ab	620 Ca	94 Bb	301 B
Alagoano	78 Ab	547 Ca	65 Bb	230 B
IT87D-1627	160 Aa	483 Ca	95 Ba	246 B
Aparecido Moita	79 Ab	1268 Ba	128 Ab	492 A
TVx 3777-04E	93 Ab	1026 Ba	144 Ab	421 A
TVu 36	61 Bb	693 Ca	368 Ab	374 B
UCR 194	72 Ab	591 Ca	73 Bb	245 B
Macaibo	104 Ac	1520 Aa	546 Ab	723 A
TVu 408-P2	82 Aa	452 Ca	64 Ba	199 B
TVx 4659-03E	478 Aa	752 Ca	79 Bb	436 A
<b>Médias</b>	119 b	883 a	115 b	-
CV 1 (%)	27,06			
CV 2 (%)	37,07			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Os dados sugerem que para a maioria dos genótipos ancestrais havia maior teor de nitrogênio acumulado na parte aérea da planta na fase inicial da floração e que provavelmente foi nessa fase que ocorreu maior FBN.

Em relação à eficiência de nodulação, os genótipos ancestrais não diferiram entre si nos estádios de desenvolvimento vegetativo e de maturação das vagens. Porém, entre os estádios houve diferença, com maior média de eficiência nodular na fase inicial de floração. Nesta fase não houve diferença significativa apenas para os genótipos TVx 289 4G, UCR 194, TVu 408-P2 e TVx 4659-03E. O ancestral Alagoano teve comportamento semelhante entre os três estádios (Tabela 36).

De forma similar ao nitrogênio acumulado na parte aérea, os dados indicaram que no estágio de floração a eficiência de nodulação foi superior em 71% e 86% nos estádios de desenvolvimento vegetativo e maturação de vagens, respectivamente.

**Tabela 36.** Eficiência de nodulação de genótipos ancestrais de feijão-caupi nas fases de desenvolvimento vegetativo, início da floração e maturação das vagens, inoculados com a estirpe BR 3267. Teresina - PI, 2009.

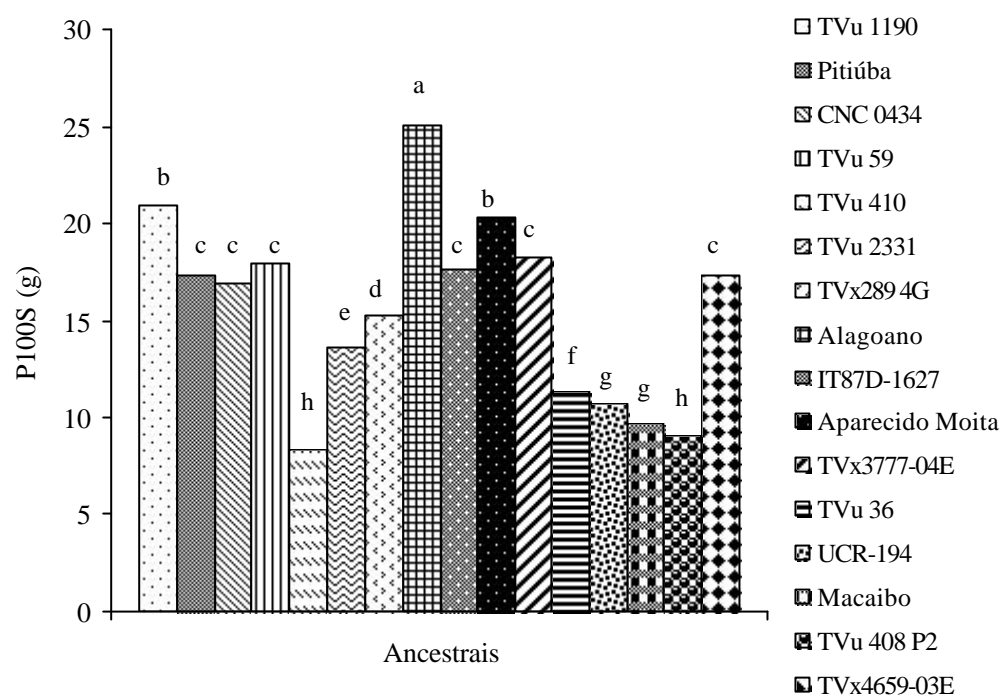
Ancestrais	Estádios de desenvolvimento da planta			Médias
	Desenvolvimento vegetativo	Início da floração	Maturação das vagens	
	Eficiência nodular (mg mg <sup>-1</sup> )			
TVu 1190	1,57 Ab	4,75 Ba	0,68 Ab	2,34 A
Pitiúba	0,80 Ab	3,44 Ba	0,08 Ab	1,44 A
CNC 0434	1,86 Ab	4,67 Ba	0,28 Ab	2,27 A
TVu 59	0,98 Ab	8,71 Aa	0,96 Ab	3,55 A
TVu 410	1,63 Ab	5,70 Ba	0,78 Ab	2,70 A
TVu 2331	0,73 Ab	8,02 Aa	0,28 Ab	3,01 A
TVx 289 4G	2,18 Aa	3,72 Ba	0,59 Ab	2,16 A
Alagoano	0,65 Aa	1,79 Ba	0,33 Aa	0,92 A
IT87D-1627	1,30 Ab	3,89 Ba	1,41 Ab	2,20 A
Aparecido Moita	1,19 Ab	8,56 Aa	0,81 Ab	3,52 A
TVx 3777-04E	0,56 Ab	6,59 Aa	0,61 Ab	2,59 A
TVu 36	0,66 Ab	4,87 Ba	2,29 Ab	2,61 A
UCR 194	3,58 Aa	4,24 Ba	0,25 Ab	2,69 A
Macaibo	0,85Ab	11,00 Aa	2,40 Ab	4,75 A
TVu 408-P2	2,63 Aa	3,37 Ba	0,28 Ab	2,09 A
TVx 4659-03E	3,74 Aa	2,81 Ba	0,24 Aa	2,26 A
Médias	1,56 b	5,38 a	0,77 c	-
CV 1 (%)	36,53			
CV 2 (%)	27,67			

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

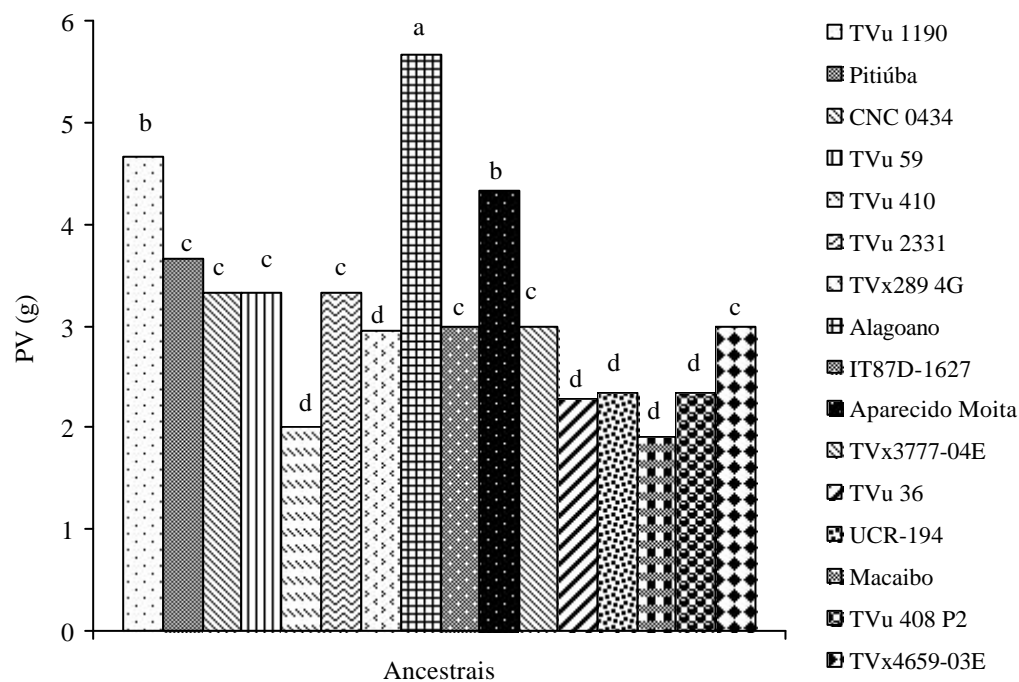
Entre os componentes de produção, verificou-se que com relação a peso de 100 sementes a variação foi de 8,47 g a 25,28 g, sendo que o ancestral Alagoano foi superior aos demais (Figura 1). Em peso e comprimento de vagem também, destacou-se o ancestral Alagoano, com médias de 5,62 g e 26,20 cm, respectivamente (Figuras 2 e 3).

Para número de grãos por vagem a variação entre os ancestrais foi de 12,13 a 18,34 grãos vagem<sup>-1</sup>. Entre os 16 ancestrais avaliados, nove apresentaram os maiores números de grãos por vagem: TVu 408 - P2, TVu 410, TVu 1190, UCR 194, Pitiúba, TVu 36, TVu 2331, Alagoano e Aparecido Moita ( Figura 4).

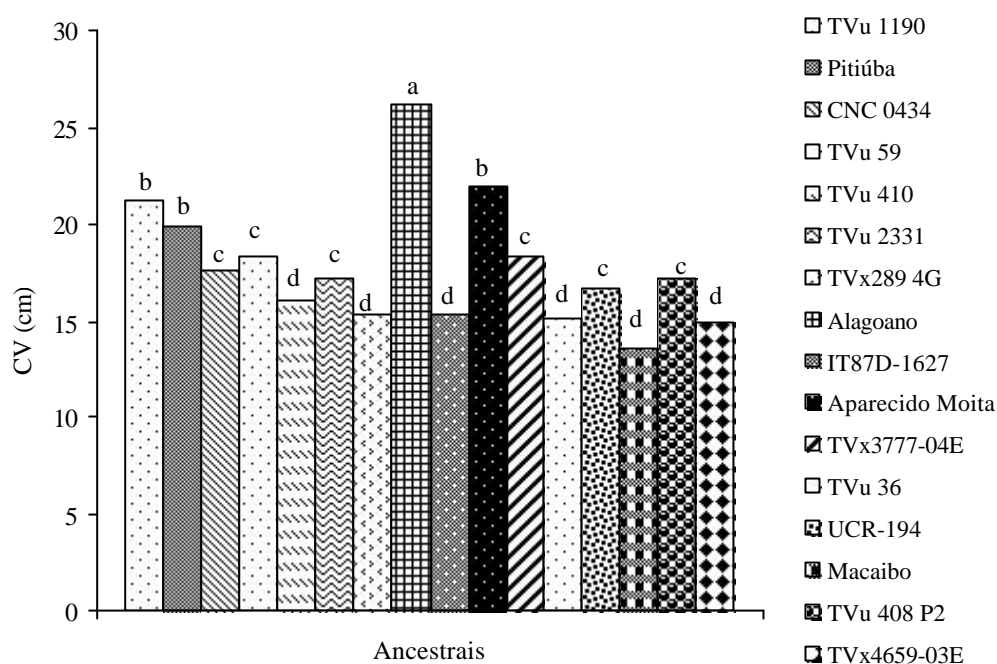
Quanto ao peso de grãos por vagem os genótipos ancestrais avaliados apresentaram peso variando de 1,36 g a 4,23 g. Sendo que o Alagoano foi significativamente superior aos demais (Figura 5).



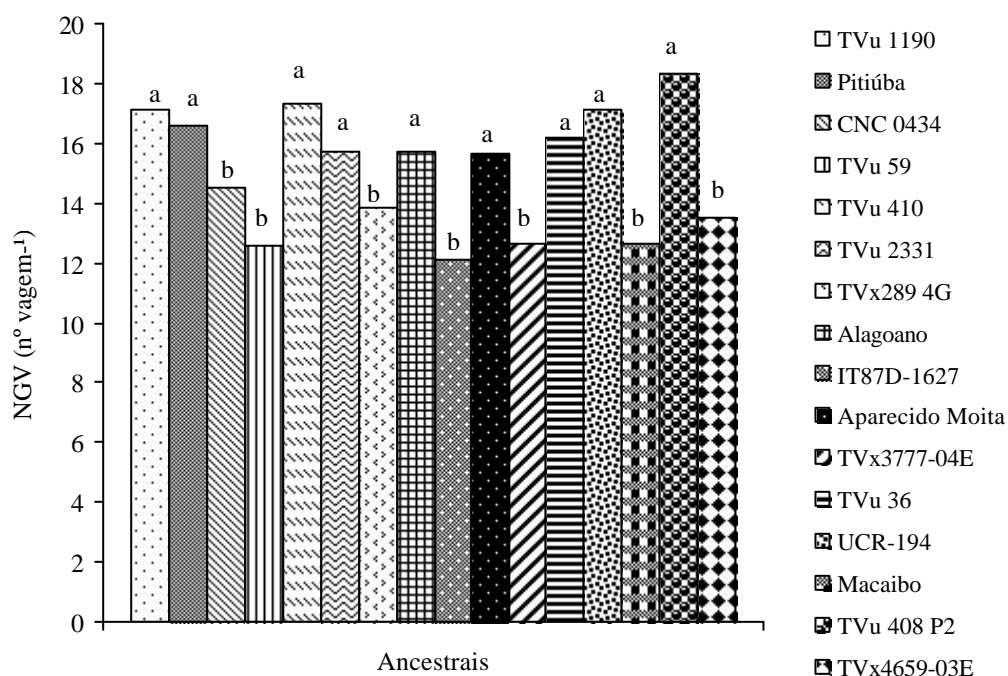
**Figura 1.** Peso de 100 sementes (P100S) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.



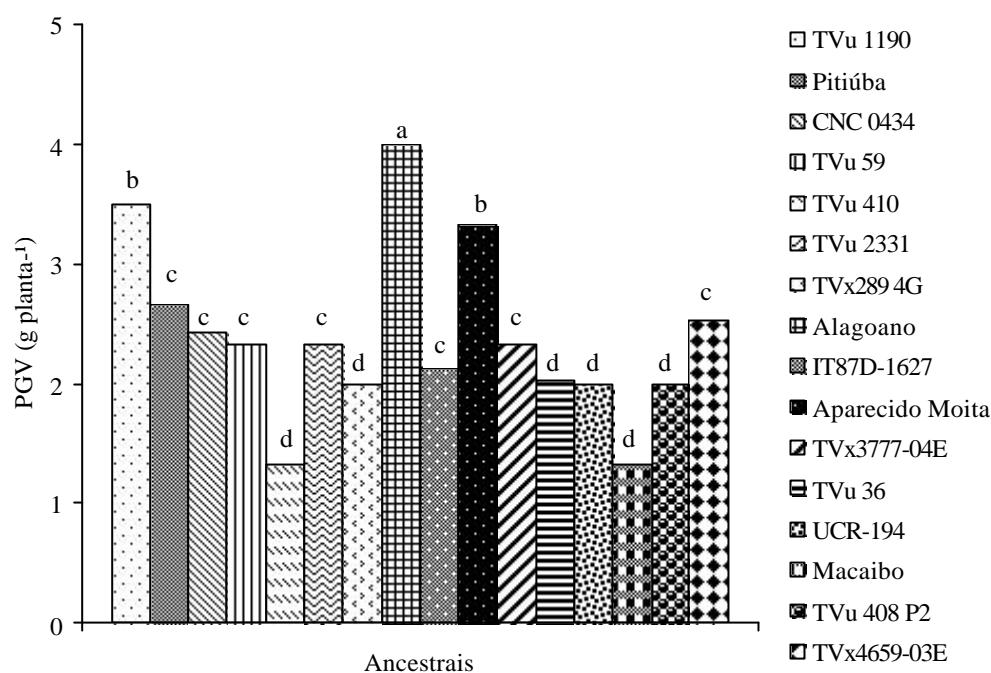
**Figura 2.** Peso de vagem (PV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.



**Figura 3.** Comprimento de vagem (CV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI. 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.

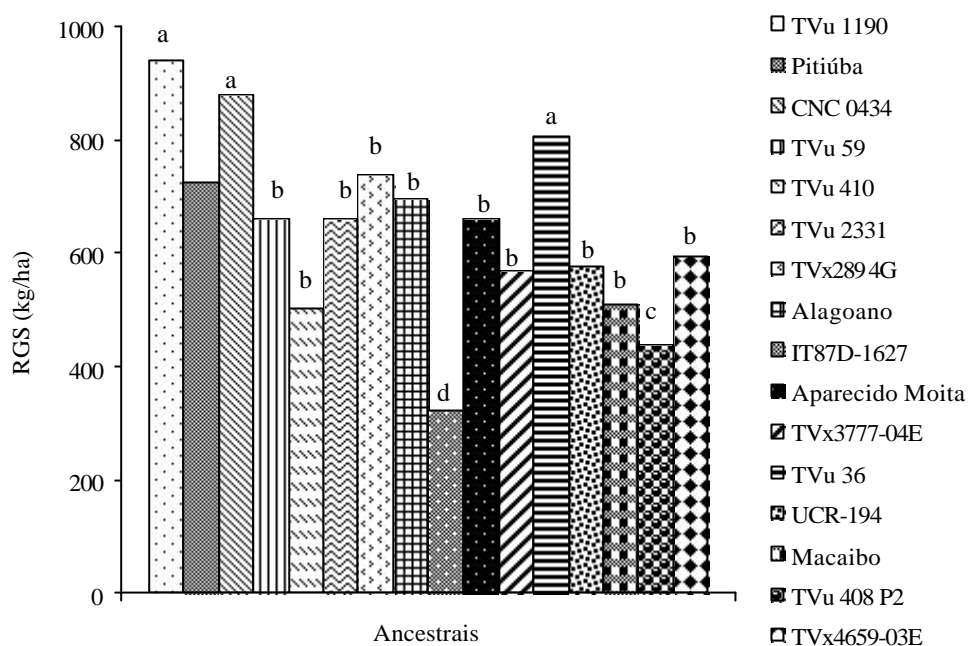


**Figura 4.** Número de grãos por vagem (NGV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.



**Figura 5.** Peso de grãos por vagem (PGV) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.

Em rendimento de grãos secos, os ancestrais TVu 1190, CNC 0434 e TVu 36 diferiram dos demais ancestrais com produtividades médias de 800 a 940 kg ha<sup>-1</sup>. Esses valores estão abaixo dos obtidos por SAMPAIO et al. (2006) com linhagens de porte semiereto. No entanto, são superiores à produtividade média nacional (300 a 400 kg ha<sup>-1</sup>) de cultivares de feijão-caupi (Figura 6).



**Figura 6.** Rendimento de grãos secos (RGS) de genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.

Nas variáveis referentes à nodulação foram observadas correlações positivas e significativas, na fase de desenvolvimento vegetativo, para número de nódulos e massa seca de nódulos. MSN também se correlacionou com MSPA e NAPA. Nas fases de início da floração e maturação das vagens observaram-se altos coeficientes para NN em relação à MSPA e NAPA. A variável MSPA apresentou correlações significativas com eficiência de nodulação e nitrogênio acumulado na parte aérea, que por sua vez correlacionou-se significativamente com EN, nestas duas fases (Anexo D).

Esses resultados são indicativos de um bom desempenho da FBN e estão em consonância com dados obtidos por WADISIRISUK & WEAVER (1985) que observaram, em estudos de nodulação com a cultura do feijão-caupi, correlação positiva entre número de nódulos e a quantidade de N acumulado. Foi constatado também, que de acordo com DÖBEREINER (1966), a massa nodular apresenta correlações positivas com a quantidade de N acumulado em leguminosas.

Entre os componentes de produção, na fase de maturação de vagens, foram obtidos coeficientes significativos para peso de vagens em relação ao comprimento de vagem, peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e rendimento de grãos secos. Para comprimento de vagens foi observada correlação com peso de grãos por vagem e peso de 100 sementes. Peso de grãos por vagem apresentou correlação com peso de 100 sementes e rendimento de grãos secos (Anexo D).

Na análise de correlação realizada na fase de maturação de vagens, entre as variáveis de nodulação e de produção, observou-se coeficiente significativo e positivo para número de nódulos e número de grãos por vagem; massa seca de nódulos e número de vagem por planta e também para eficiência de nodulação e número de grãos por vagem (Anexo D).

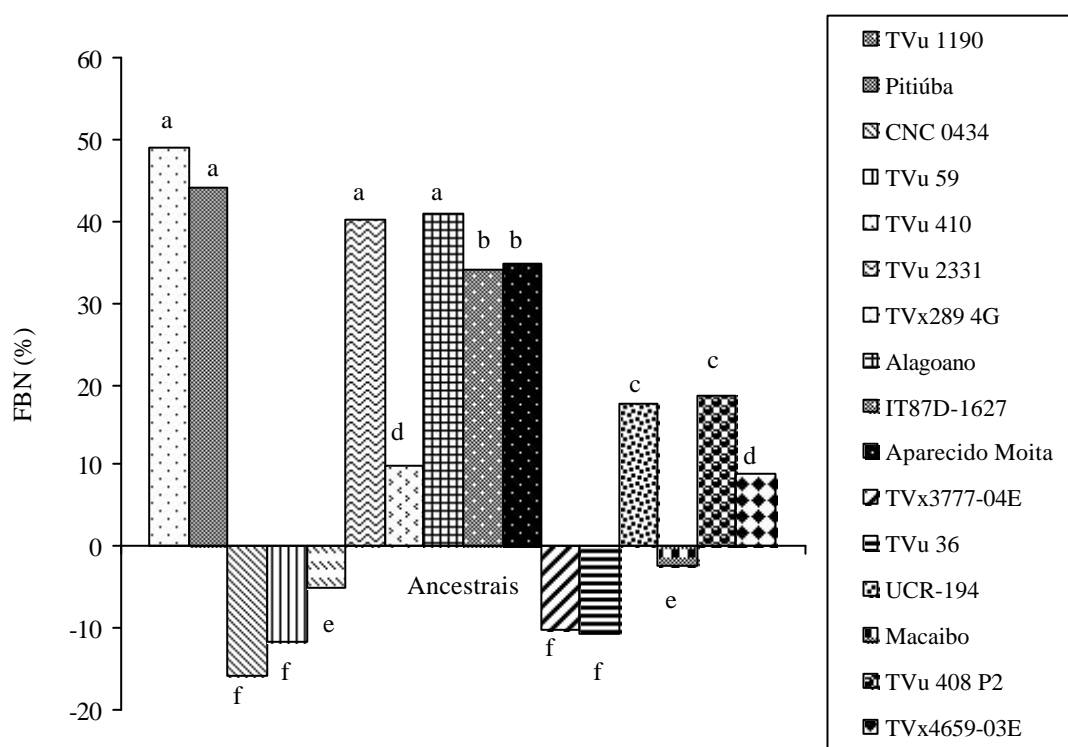
A quantificação da FBN indicou resultados bastante variados entre os ancestrais. Os ancestrais TVu 1190, Pitiúba, Alagoano e TVu 2331 apresentaram as maiores percentagens de FBN que corresponderam a 48,93%, 44,14%, 40,93% e 40,12%, respectivamente. Para os

genótipos TVx 289 4G e TVx 4659-03E foram observados baixos percentuais (8,92 e 9,74%), enquanto que os resultados obtidos com CNC 0434, TVu 59, TVx3777-04E e TVu 36 indicaram que não foi detectada contribuição da FBN para estes ancestrais (Figura 7).

Para a cultura do feijão-caupi as estimativas da contribuição da FBN são bastante variadas, sendo considerados valores numa faixa de 40 a 90% do total de N acumulado pela cultura (RUMJANEK et al., 2005). Essa variabilidade nos níveis de FBN pode estar relacionada ao teor de N disponível no solo, bem como a características do genótipo da planta ou do rizóbio.

ADJEI-NSIAH et al. (2008) observaram em diferentes cultivares de feijão-caupi quantidades de N<sub>2</sub> fixadas que variaram na faixa de 61 a 77%. PEOPLES et al. (2009) estimaram para diferentes regiões geográficas do mundo, as seguintes proporções de N fixado: 33 a 77% para a Ásia; 15 a 89% para a África e 32 a 74% para a América do Sul. Neste trabalho a variação foi de 8,92 a 48,93%, ou seja, o valor inferior obtido ficou muito abaixo da estimativa para a América do Sul. No entanto, o valor superior corresponde às estimativas.

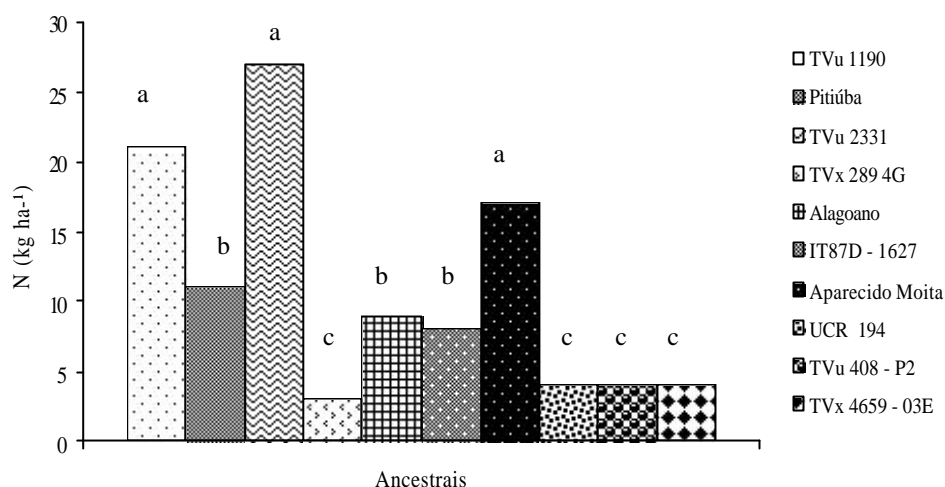
Em estudos recentes, BELANE & DAKORA (2010) verificaram em 30 genótipos de feijão-caupi uma quantidade de FBN variando na faixa de 63,5 a 86,7% para o primeiro ano de plantio e de 56,2 a 96,3% para o segundo ano. Enquanto que PULE-MEULENBERG et al. (2010) encontraram valores de 69,3 a 86,6% de FBN para nove cultivares de feijão-caupi. Resultados estes, muito contrastantes com os observados neste trabalho.



**Figura 7.** Percentagem de N derivado da FBN em genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina-PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.

Com base no percentual de nitrogênio obtido para os ancestrais, cujos dados foram positivos, foi possível calcular a quantidade de nitrogênio derivada da FBN. Verificou-se uma ampla variação (4 a 27 kg N ha<sup>-1</sup>), com resultados significativos para TVu 1190, TVu 2331 e Aparecido Moita (Figura 8).





**Figura 8.** Quantidade de N derivado da FBN em genótipos ancestrais de feijão-caupi. Teresina - PI, 2009. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Scott-Knott a 5%.

Tem sido observado que a quantidade de N fixado na cultura do feijão-caupi varia de 20 a 200 kg ha<sup>-1</sup>, o que representa 55 a 70% do total de N acumulado pela planta, sendo que uma quantidade expressiva desse nitrogênio é exportada por meio dos grãos, os quais possuem um teor de proteína entre 20 e 30% (CARSKY et al., 2002).

Estudos de quantificação de FBN em feijão-caupi desenvolvidos por NAAB et al. (2009) na Região Oeste de Gana, indicaram resultados próximos aos deste trabalho, com variações de 1,3 a 34 kg N ha<sup>-1</sup>. Resultados bem diferentes foram obtidos por ADJEI-NSIAH et al. (2008) que observaram em cinco linhagens de feijão-caupi quantidades de N fixado que variaram em média de 49 a 86 kg N ha<sup>-1</sup> para as linhagens IT810D-1010 e Legon Prolific, respectivamente. Em estudo similar, YUSUF et al. (2008) verificaram quantidades de N fixado na faixa de 13 a 18 kg N ha<sup>-1</sup> para o ancestral IT 96D-724 e de 49 a 51 kg N ha<sup>-1</sup> para TGx 1448-2E, em solos de cerrado da Nigéria. Anteriormente, também em solos de cerrado da Nigéria, SANGINGA et al. (2000) haviam obtido para 43 linhagens de feijão-caupi, média de N fixado em torno de 22 kg N ha<sup>-1</sup>.

BELANE & DAKORA (2009) avaliaram 30 genótipos ancestrais de feijão-caupi, em Gana, quanto à fixação de N<sub>2</sub> e observaram uma ampla variação na quantidade de N fixado, com valor mínimo de 8 kg N ha<sup>-1</sup> para o ancestral TVu 1509 e máximo de 149 kg N ha<sup>-1</sup> para IT84S-2246. Em outro trabalho, os mesmos autores (BELANE & DAKORA, 2010) verificaram em genótipos de feijão-caupi avaliados em dois anos, variações de 49 a 178 kg N ha<sup>-1</sup> para os genótipos ITH98-46 e Vuli-1, respectivamente, no primeiro ano. No segundo ano, obtiveram resultados equivalentes a 62 kg N ha<sup>-1</sup> para CH14 e de 198 kg N ha<sup>-1</sup> para TVu11424.

Na avaliação simbiótica de genótipos de feijão-caupi no sul da África, MAKOI et al. (2009) comprovaram a variação de quantidades de N fixado entre os genótipos testados que corresponderam a 46 a 60 kg N ha<sup>-1</sup> no primeiro ano de cultivo e de 51 a 86 kg N ha<sup>-1</sup> no ano seguinte. Em ensaios de avaliação da FBN em leguminosas, conduzidos em Zambia, NYEMBA & DAKORA (2010) verificaram em feijão-caupi quantidades de N fixado em torno de 35 a 63 kg N ha<sup>-1</sup> e de 35 a 58 kg N ha<sup>-1</sup> para as regiões central e sul daquele país.

Os dados da literatura supracitada evidenciam uma ampla variação na quantidade de N fixado e indicam que essa variação está relacionada com as características de cada genótipo.

Os dados mais próximos aos observados neste trabalho foram os obtidos por YUSUF et al. (2008), o qual também utilizou ancestrais nas avaliações de N fixado.

Em número de nódulos, massa de nódulos secos, massa seca da parte aérea e eficiência nodular, os dados obtidos indicaram alguns ancestrais como Macaibo e TVu 59 com resultados promissores. Considerando-se que os dois possuem ciclo médio tardio, cuja maturidade ocorre entre 81 a 90 dias após a semeadura (FREIRE FILHO et al., 2009d), é possível sugerir que estes resultados podem estar relacionados ao ciclo. Segundo GRAHAM (1981) genótipos de feijoeiro de ciclo longo (maturação tardia) são mais eficientes na fixação de N do que aqueles de ciclo curto (maturação precoce).

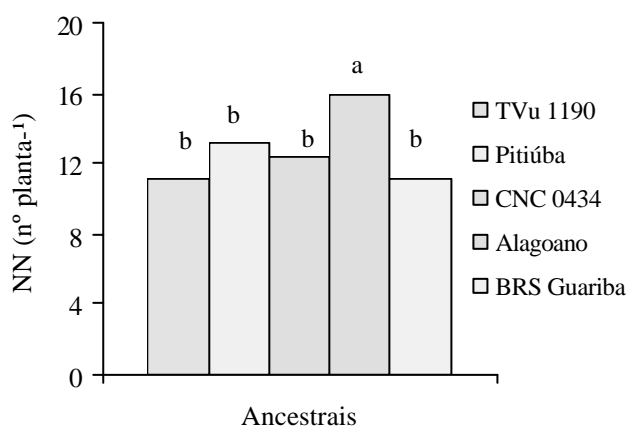
Tem sido observado que o baixo desempenho da fixação de N em cultivares de maturação precoce pode ser devido a não efetividade da fixação de nitrogênio ou ao rápido declínio da atividade nodular após o florescimento. Com relação ao ciclo curto da cultura, HUNGRIA & THOMAS (1987) citam que ocorre um período inicial de deficiência de N devido à falta de sincronização do esgotamento das reservas dos cotilédones da planta hospedeira e o início da fixação e exportação do N<sub>2</sub> fixado pelos nódulos.

Para essa limitação tem sido sugerido o prolongamento do período ativo de fixação por meio da busca de combinações simbióticas com nodulação e fixação precoces, ou seja, devem ser considerados os dois componentes da associação.

Os dados de produção indicaram o genótipo ancestral Alagoano como superior aos demais para as seguintes variáveis: peso de 100 sementes, peso de vagens, comprimento de vagens, número de grãos por vagem e peso de grãos por vagem.

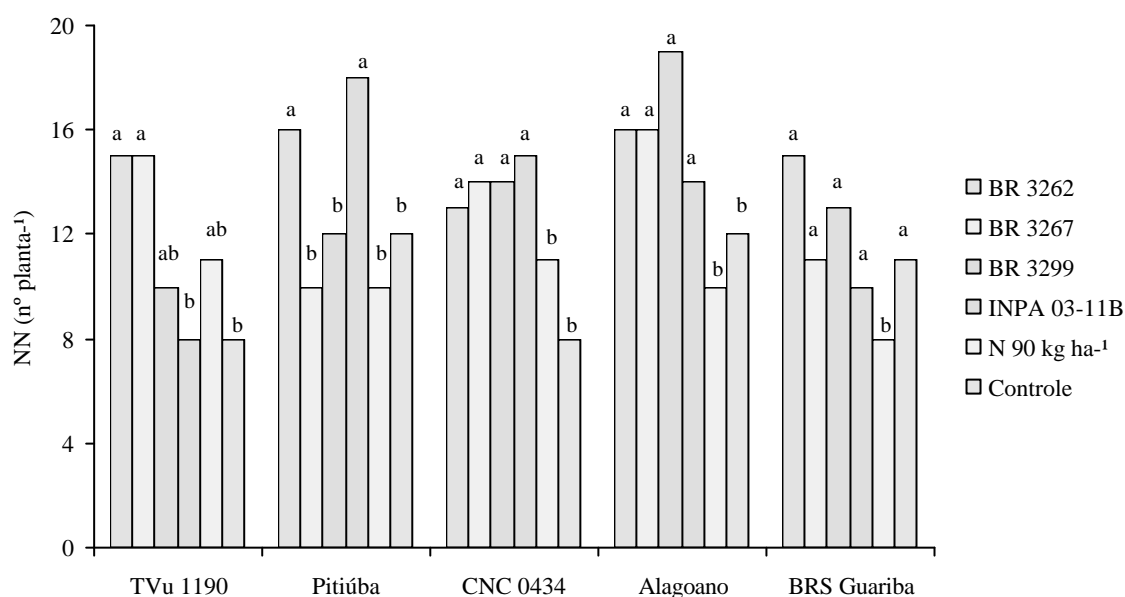
#### 4.4. Avaliação de Genótipos de Feijão-caupi em Interação com Estirpes de *Bradyrhizobium* em Condições de Campo

A análise de variância dos dados de nodulação indicou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para ancestrais e ancestrais x fontes de N em relação a número de nódulos, massa seca da parte aérea, massa seca de nódulos, eficácia relativa, nitrogênio total acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação. Em número de nódulos, o ancestral Alagoano mostrou diferença significativa em relação aos outros genótipos, inclusive em relação a cultivar BRS Guariba, independentemente da fonte de nitrogênio (Figura 9).



**Figura 9.** Número de nódulos (NN) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Na interação dos genótipos com as diferentes fontes de N, observou-se que o ancestral TVu 1190 apresentou maior número de nódulos quando associado às estirpes BR 3262, BR 3267 e BR 3299 e com o tratamento nitrogenado. No entanto, a BR 3299 não diferiu da INPA 03-11B, do tratamento nitrogenado e do controle, enquanto que as estirpes com resultados superiores não diferiram do tratamento com adubação nitrogenada. Para Pitiúba as melhores associações ocorreram com as estirpes BR 3262 e INPA 03-11B. As estirpes BR 3267 e BR 3299 não diferiram dos tratamentos com adubação nitrogenada e do controle (Figura 10).



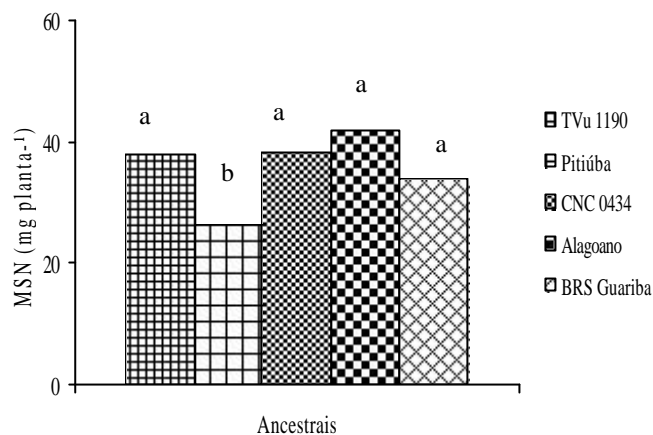
**Figura 10.** Número de nódulos (NN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Os ancestrais CNC 0434 e Alagoano apresentaram diferenças estatísticas significativas para as quatro estirpes avaliadas em relação aos outros tratamentos, sendo que para Alagoano não foi verificado diferença entre as estirpes e o tratamento controle. Comportamento semelhante foi observado para a cultivar BRS Guariba, no entanto, o tratamento com adubação nitrogenada foi inferior aos demais.

Observou-se que os ancestrais e a cultivar apresentaram diferença nas associações com as estirpes e que na maioria dos casos a nodulação com as estirpes foi superior ao tratamento nitrogenado. Há relatos da maior capacidade de formar nódulos da estirpe BR 3262. Em solos de cerrado do nordeste brasileiro, ZILLI et al. (2006) observaram a alta capacidade dessa estirpe em competir com a população de rizóbio estabelecida, chegando a formar mais de 65% dos nódulos da cultivar BR 17 Gurguéia. Em outro estudo com a cultivar BRS Mazagão, ZILLI et al. (2009a) observaram que as estirpes BR 3267, BR 3262 e INPA 03-11B proporcionaram os maiores números de nódulos, sendo os valores dos tratamentos com as duas primeiras significativamente superiores aos tratamentos não inoculados e aos tratamentos com as estirpes BR 3299 e BR 3302.

ALMEIDA et al. (2010) verificaram que as estirpes BR 3267 e BR 3299 associadas à cultivar BR 17 Gurguéia apresentavam número de nódulos similares aos obtidos com o tratamento nitrogenado. Sugerindo que a população nativa de bactérias nodulíferas não havia sido inibida pela adição de N mineral.

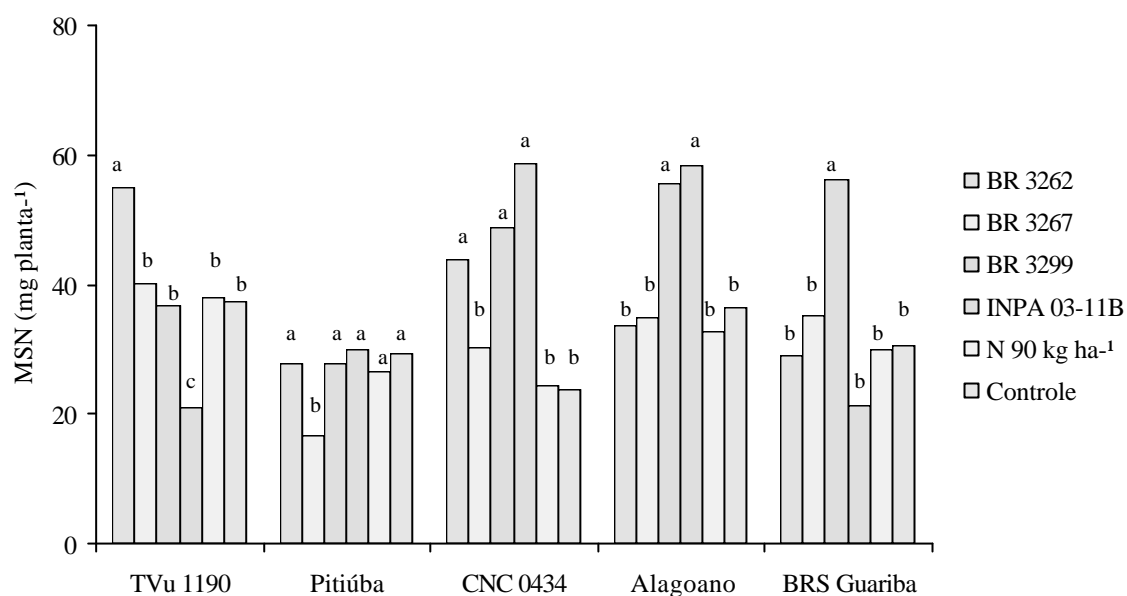
Para massa seca de nódulos, o ancestral Pitiúba apresentou a menor média, o que correspondeu a um incremento de 30% apresentado pelos outros genótipos. Não houve diferença entre os demais ancestrais e a cultivar BRS Guariba (Figura 11).



**Figura 11.** Massa seca de nódulos (MSN) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

O genótipo ancestral TVu 1190 apresentou superioridade em interação com a BR 3262, diferindo dos demais tratamentos. Para os ancestrais Pitiúba e CNC 0434 as melhores interações foram com as estirpes BR 3262, BR 3299 e INPA 03-11B. No entanto, para Pitiúba não houve diferença entre essas estirpes e os tratamentos com nitrogênio e controle.

O ancestral Alagoano foi superior em massa seca de nódulos quando associado às estirpes BR 3299 e INPA 03-11B. A BRS Guariba apresentou maior massa seca de nódulos em associação com a BR 3299, diferindo de todos os tratamentos (Figura 12).

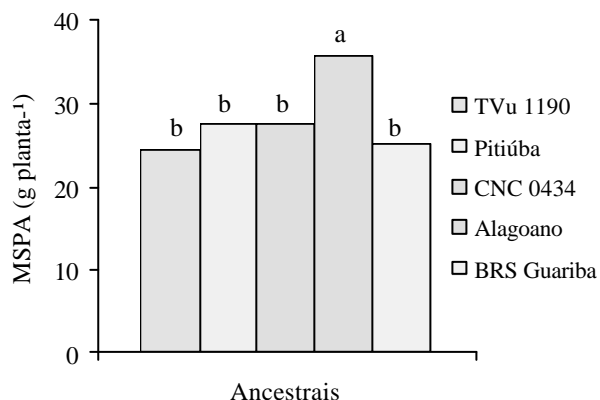


**Figura 12.** Massa seca de nódulos (MSN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Constatou-se que em massa seca de nódulos, as estirpes BR 3299 e INPA 03-11B apresentaram bons resultados com a maioria dos ancestrais. ZILLI et al. (2009a) verificaram que a cultivar de feijão-caupi BRS Mazagão em interação com INPA 03-11B não diferiu em massa seca de nódulos das estirpes BR 3267, BR 3262 e BR 3299.

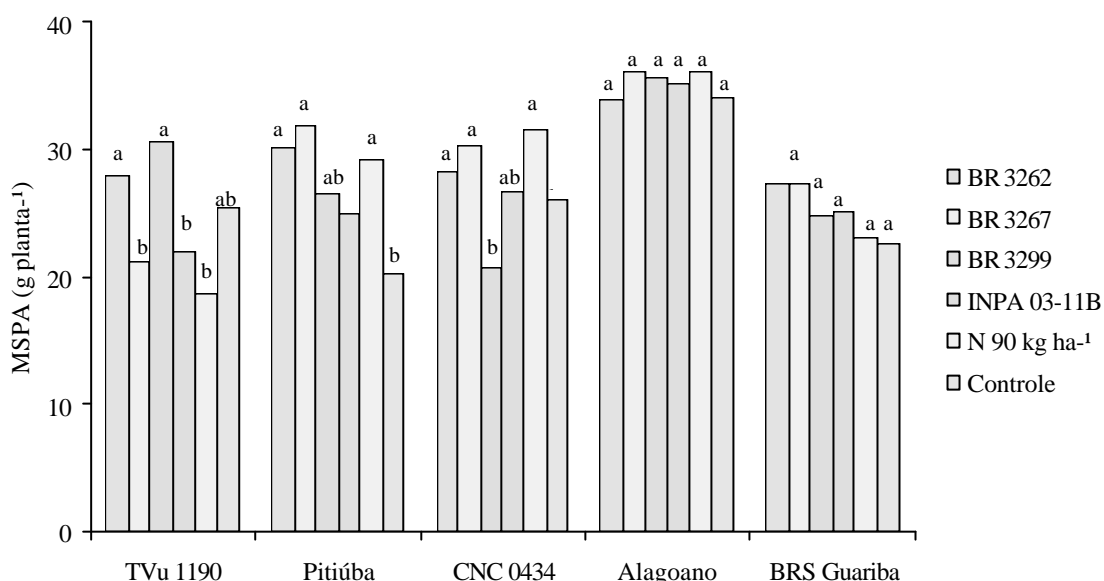
Por outro lado, ALMEIDA et al. (2010) verificaram uma redução da massa seca de nódulos nos tratamentos com N em relação às estirpes BR 3267, BR 3299 e INPA 03-11B associadas a cultivar BR 17 Gurguéia. Concluíram que houve efeito inibidor do nitrogênio para a população nativa de rizóbio.

Com relação à massa seca da parte aérea, o ancestral Alagoano foi significativamente superior aos demais, independentemente do tratamento. O incremento deste ancestral em relação aos demais alcançou a faixa de 27% (Figura 13).



**Figura 13.** Massa seca da parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

O ancestral TVu 1190 apresentou maior biomassa com as estirpes BR 3262 e BR 3299, porém estas não diferiram do tratamento controle. O Pitiúba apresentou resultados satisfatórios com todas as estirpes. No entanto, estas não diferiram do tratamento nitrogenado, enquanto que a BR 3299 e a INPA 03-11B não apresentaram diferença do tratamento controle. Quanto ao CNC 0434, a interação com a BR 3299 obteve a menor quantidade de massa seca da parte aérea, embora não tenha diferido da INPA 03-11B e do tratamento com nitrogênio. Para o ancestral Alagoano e a cultivar BRS Guariba não houve interação significativa em MSPA (Figura 14).

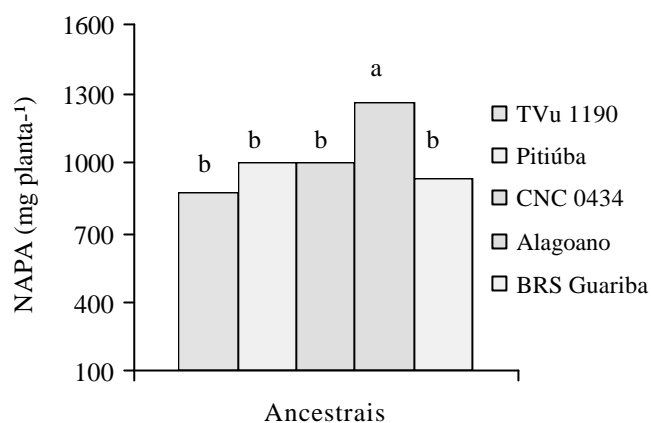


**Figura 14.** Massa seca da parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

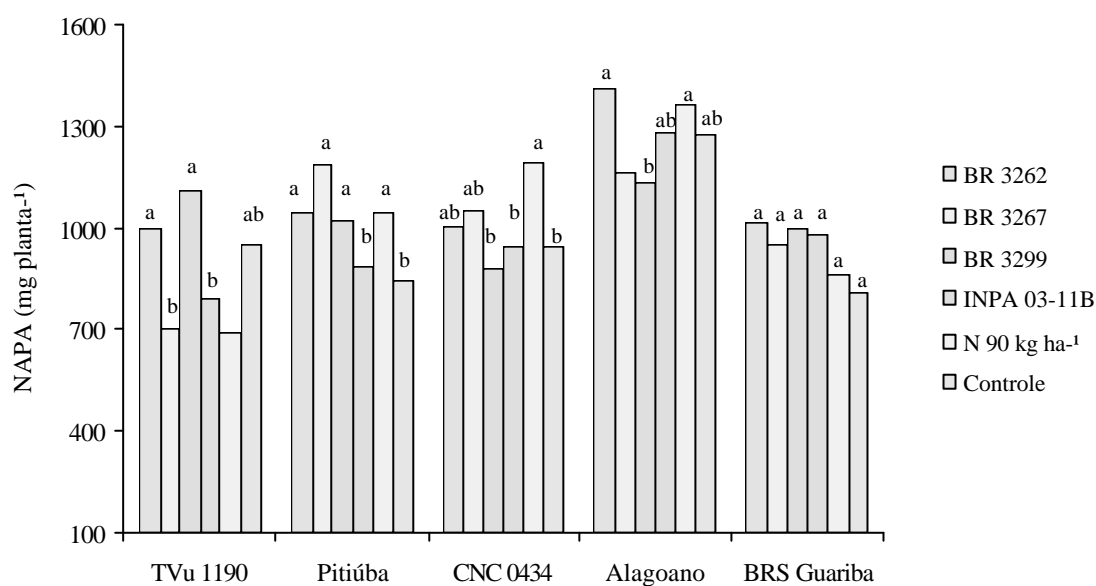
As estirpes avaliadas apresentaram efeito nos ancestrais TVu 1190, Pitiúba e CNC 0434. A estirpe BR 3267 tem se destacado em experimentos de campo em relação à produção de massa. ZILLI et al. (2006) obtiveram com a interação da cultivar BR 17 Gurguéia e da estirpe BR 3267, médias de MSPA significativamente superiores (15%) ao tratamento nitrogenado.

Em nitrogênio acumulado na parte aérea, o comportamento dos genótipos foi muito semelhante ao da massa seca da parte aérea, sendo o genótipo Alagoano superior aos demais em torno de 25% (Figura 15).

O ancestral TVu 1190 obteve maior acúmulo de N quando em interação com as estirpes BR 3262 e BR 3299, porém não houve diferença estatística significativa em relação ao tratamento controle. Com Pitiúba houve maior quantidade de N acumulado na parte aérea, nas associações com as estirpes BR 3262, BR 3267 e BR 3299. Sendo que não houve diferença entre o uso de nitrogênio e as interações simbióticas (Figura 16).



**Figura 15.** Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



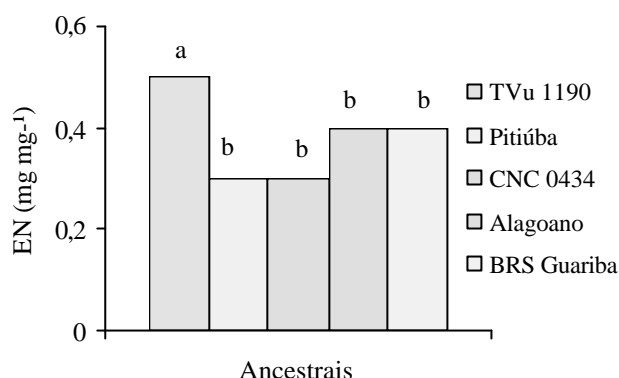
**Figura 16.** Nitrogênio acumulado na parte aérea (MSPA) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

O comportamento do CNC 0434 foi semelhante ao do Pitiúba, porém esse ancestral não apresentou bom acúmulo de N quando associado à BR 3299. Para Alagoano as melhores interações foram com a BR 3262 e INPA 03-11B, no entanto estas não diferiram do tratamento controle e do nitrogenado. Com a cultivar BRS Guariba, houve interações satisfatórias com todas as estirpes, as quais não apresentaram diferença estatística significativa com o tratamento com nitrogênio.

As associações dos ancestrais Pitiúba, CNC 0434 e Alagoano e da cultivar BRS Guariba com a estirpe BR 3262 apresentaram acúmulo de N semelhante ao tratamento que

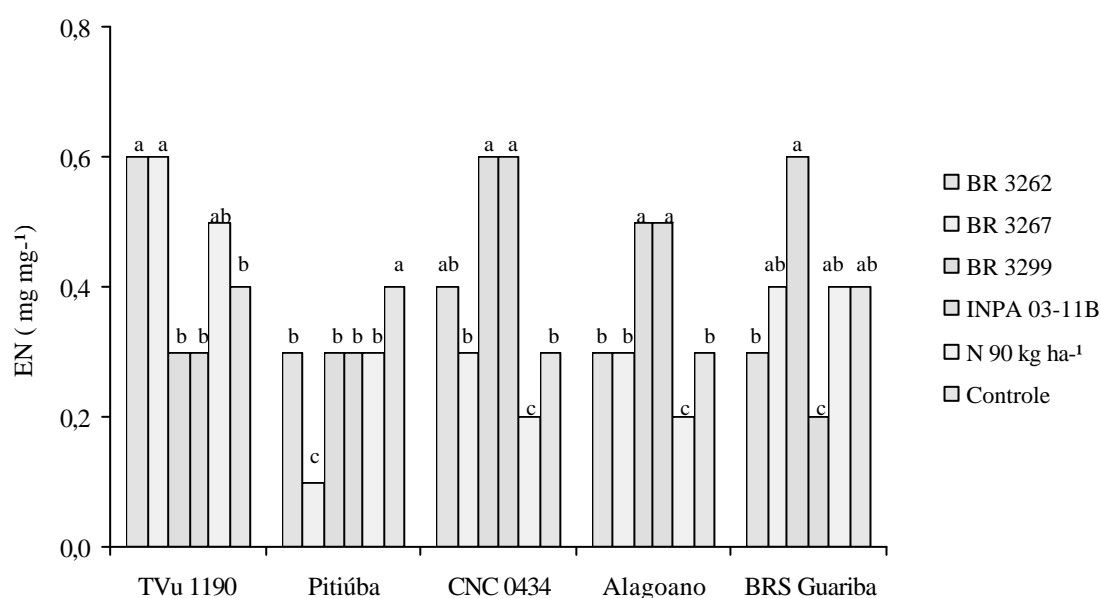
recebeu adubação nitrogenada o que permite inferir que essas interações apresentaram boa eficiência na fixação biológica.

Em eficiência de nodulação, o ancestral TVu 1190 apresentou diferença significativa em relação aos outros ancestrais e à cultivar BRS Guariba (Figura 17).



**Figura 17.** Eficiência de nodulação (EN) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

O ancestral TV 1190 apresentou maiores eficiências com as estirpes BR 3262 e BR 3267, não diferindo do tratamento com adubação nitrogenada. O Pitiúba não mostrou diferença significativa com nenhuma das estirpes, apresentando maior eficiência de nodulação com o tratamento controle. CNC 0434 revelou melhores eficiências com as estirpes BR 3262, BR 3299 e INPA 03-11B, porém neste caso, a associação com a BR 3262 não diferiu da BR 3267 e do tratamento controle (Tabela 18).



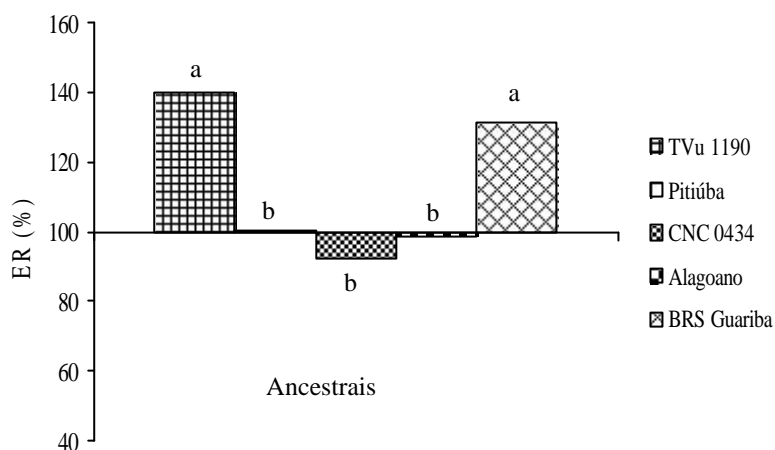
**Figura 18.** Eficiência de nodulação (EN) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



O Alagoano foi mais eficiente em nodulação com as estirpes BR 3299 e INPA 03-11B, enquanto que a cultivar BRS Guariba indicou melhores índices de eficiência com as BRs 3267 e 3299. Que não diferiram dos tratamentos com nitrogênio e do controle.

Os dados obtidos em eficiência de nodulação neste trabalho estão abaixo dos obtidos por MELO & ZILLI (2009) na avaliação da FBN em cultivares de feijão-caupi, no estado de Roraima. Com relação às estirpes, estes autores observaram a superioridade da BR 3262. Neste caso, a BR 3262 revelou eficiência com os ancestrais TVu 1190 e CNC 0434.

Para eficácia relativa, o ancestral TVu 1190 e a cultivar BRS Guariba apresentaram valores superiores a 100% (Figura 19).



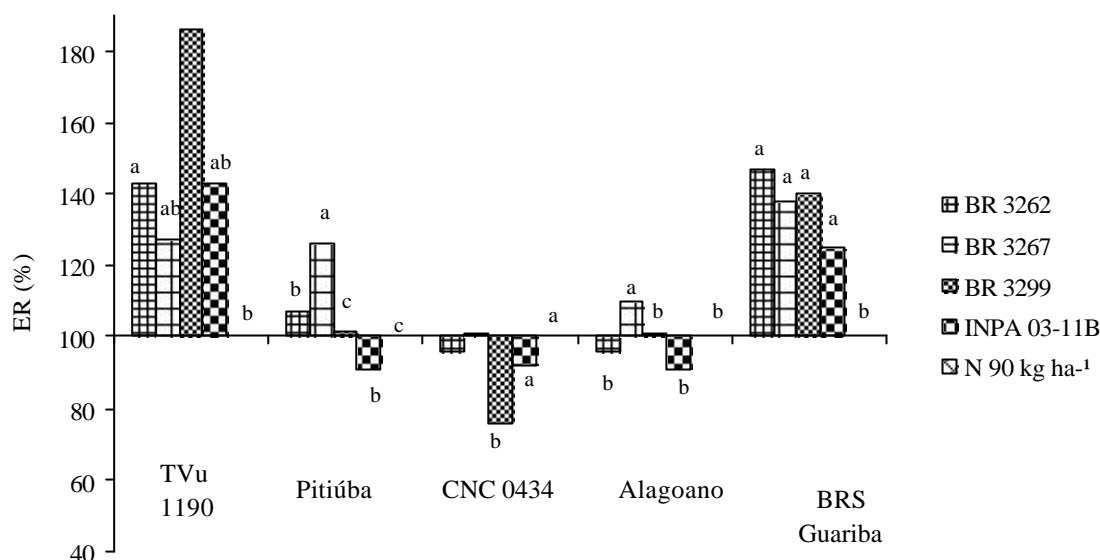
**Figura 19.** Eficácia relativa (ER) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

As quatro estirpes associadas ao TVu 1190 foram superiores ao tratamento nitrogenado, mas apenas a interação com a BR 3299 foi significativamente maior (186%). O Pitiúba e o Alagoano revelaram maior eficácia relativa com a estirpe BR 3267 (126% e 110%, respectivamente), enquanto que com o CNC 0434 a menor eficácia (76%) foi apresentada na interação com a BR 3299. A cultivar BRS Guariba mostrou eficácia relativa superior a 100% com todas as estirpes avaliadas e não houve diferença entre as interações (Figura 20).

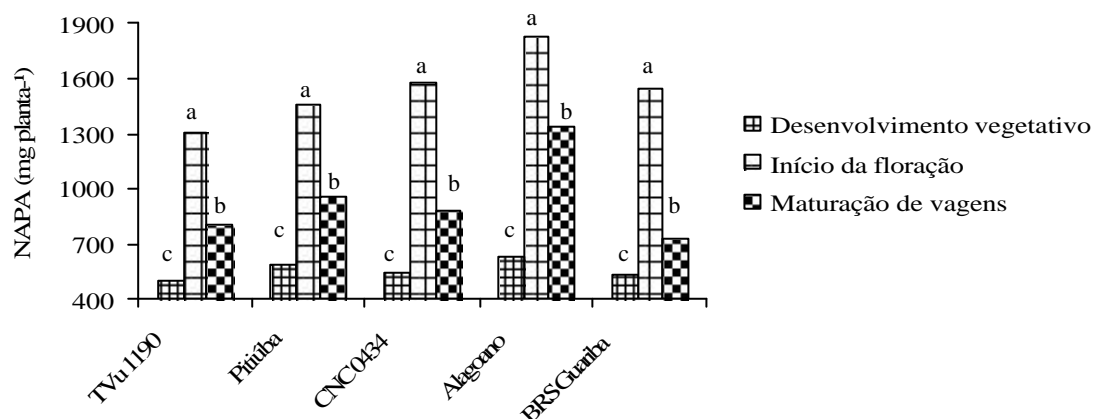
A eficácia relativa das estirpes obtida foi muito superior a maioria dos dados encontrados na literatura. LACERDA et al. (2004) avaliando o efeito de estirpes na nodulação e produção do feijão-caupi, obtiveram 78,05% e 95,5% de eficácia relativa com as estirpes INPA 03-11B e UFLA 03-36, respectivamente, em associação com a cultivar BR 14 Mulato.

SOARES et al. (2006) em estudos de eficiência simbiótica de estirpes, observaram valores de eficácia em torno de 84,40% e de 61,58% para INPA 03-11B e UFLA 33-36, respectivamente. Por outro lado, GUALTER (2010) verificou resultados muito próximos dos obtidos neste trabalho, os quais corresponderam a 137,7%, 134,3% e 106,7% para as estirpes BR 3299, BR 3262 e INPA 03-11B, respectivamente.

Com relação às coletas foi constatado que em nitrogênio acumulado na parte aérea, os genótipos apresentaram maior concentração na fase inicial da floração que ocorreu entre 38 DAE a 45 DAE. Aos 30 DAE foi observada menor quantidade de nitrogênio, o mesmo ocorrendo na fase de maturação de vagens (Figura 21).



**Figura 20.** Eficácia relativa (ER) de genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

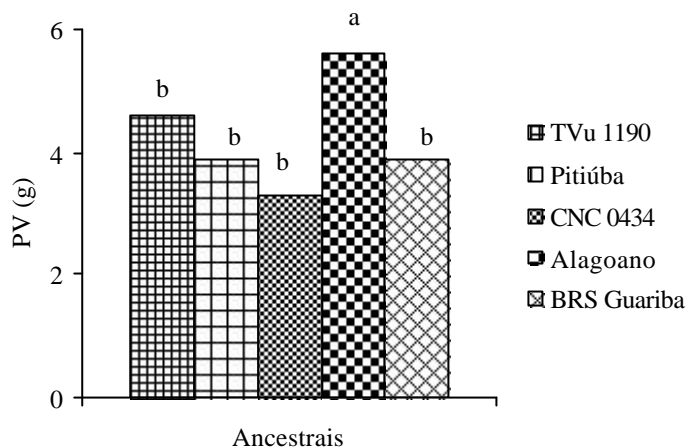


**Figura 21.** Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de genótipos de feijão-caupi em três estádios de desenvolvimento da planta. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

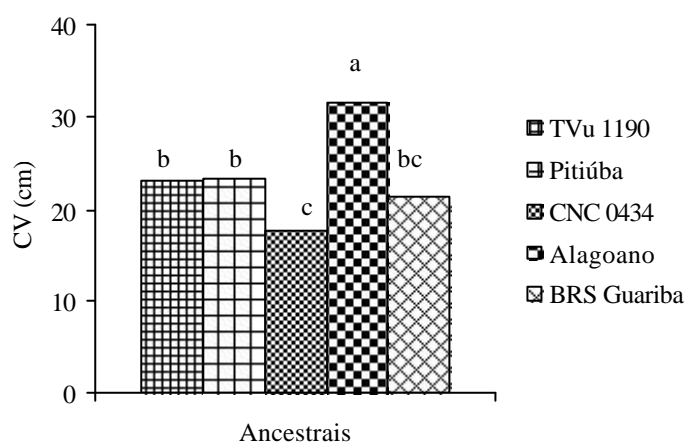
Os dados confirmam que a maior quantidade da FBN ocorre na fase de floração. XAVIER et al. (2007b) também observaram em feijão-caupi que a FBN aumentava significativamente durante o ciclo fenológico, apresentando maiores valores entre os estádios de início do florescimento e início da formação das vagens.

Entre os componentes de produção, a análise de variância revelou efeito significativo para ancestrais e para a interação ancestrais x fontes de N em relação às seguintes variáveis: número de vagem, peso de vagem, comprimento de vagem, número de grãos por vagem, peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e rendimento (Anexo C).

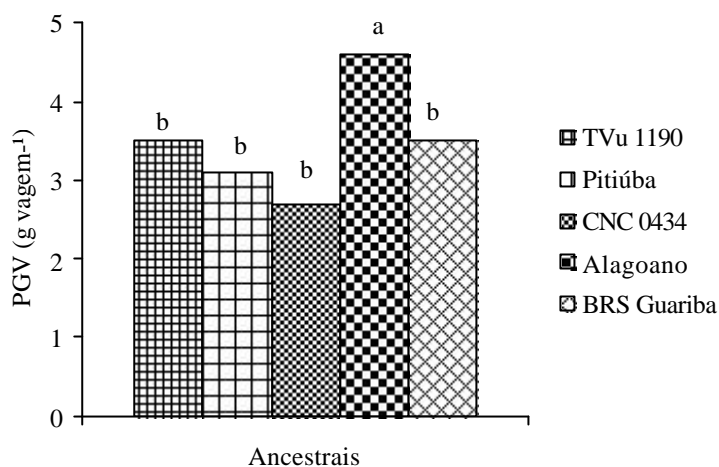
Em peso de vagem, comprimento de vagem e peso de grãos por vagem, o ancestral Alagoano apresentou melhores resultados que os demais genótipos. Tendo sido observados incrementos na ordem de 45% em relação a cultivar BRS Guariba para peso de grãos (Figuras 22, 23 e 24).



**Figura 22.** Peso de vagem (PV) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



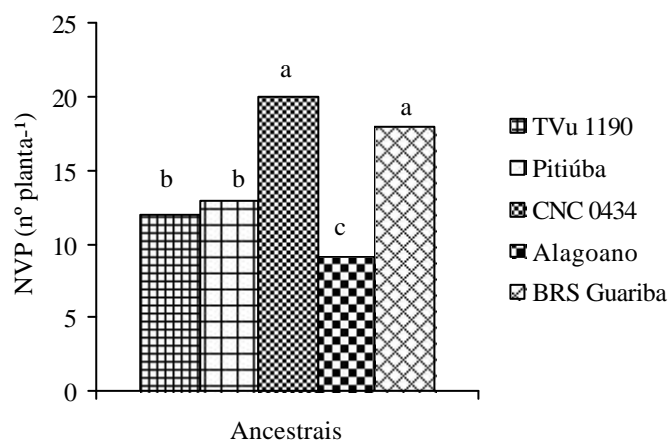
**Figura 23.** Comprimento de vagem (CV) de genótipos de feijão-caupi Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 24.** Peso de grãos por vagem (PGV) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Os valores de comprimento de vagens obtidos com os ancestrais TVu 1190, Pitiúba e Alagoano foram superiores a 23 cm, ou seja maiores que 18 cm, considerado o padrão comercial de comprimento de vagens (FREIRE FILHO et al., 2009d). SAMPAIO et al. (2006), testando 40 linhagens, afirmaram que as do tipo semiereto e ereto apresentaram valores médios inferiores a 20 cm. OLIVEIRA et al. (2002) em estudo de avaliação de genótipos ancestrais de feijão-caupi, observaram materiais com comprimento de vagem na faixa de 19 a 25 cm. GUALTER (2010) avaliando o efeito das estirpes BR 3299, BR 3262 e INPA 03-11B na produção de feijão-caupi, cultivar BRS Guariba, obteve valores muito próximos aos deste trabalho.

Em número de vagem por planta, o ancestral CNC 0434 mostrou maior número de vagens que os demais ancestrais e não diferiu da cultivar BRS Guariba (Figura 25).



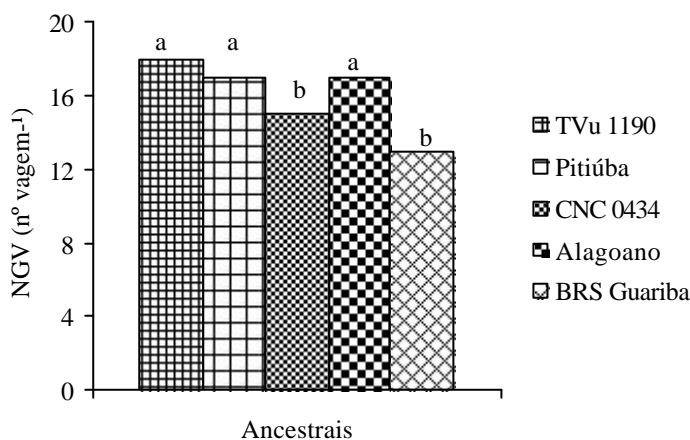
**Figura 25.** Número de vagem por planta (NVP) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

O ancestral Alagoano que apresentou resultados superiores, em relação a peso de vagem, comprimento de vagem e peso de grãos por vagem, obteve menor número de vagens que os demais genótipos. O CNC 0434 produziu em média, 20 vagens por planta. GUALTER (2010) obteve com a cultivar BRS Guariba em torno de 11 a 31 vagens por planta.

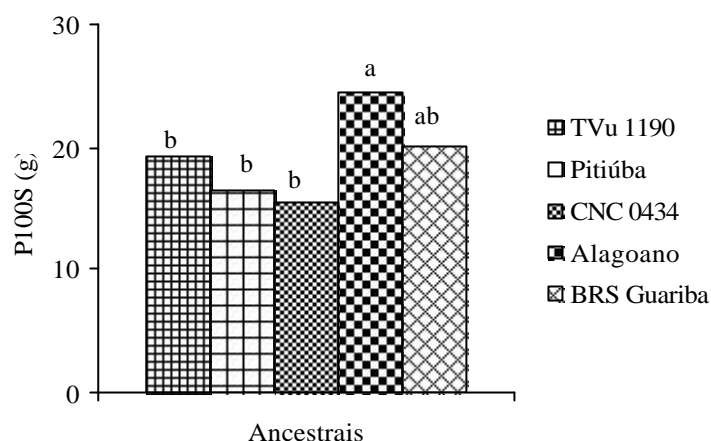
Para número de grãos por vagem, os genótipos ancestrais TVu 1190, Pitiúba e Alagoano revelaram maior quantidade de grãos e foram superiores ao CNC 0434 e a BRS Guariba (Figura 26). Os ancestrais apresentaram médias de grãos por vagem superiores (16 a 18 grãos) à cultivar BRS Guariba (15 grãos) e também superiores ao padrão comercial que é de 12 grãos (FREIRE FILHO et al., 2009d). SAMPAIO et al. (2006) verificaram na avaliação de ancestrais uma variação de 12 a 15 grãos para materiais de porte ereto e semiereto, respectivamente.

Em peso de 100 sementes, o ancestral Alagoano diferiu significativamente dos demais ancestrais, porém não diferiu da cultivar avaliada. Esta, por sua vez não diferiu dos outros genótipos ancestrais (Figura 27). GUALTER (2010) observou valores similares aos obtidos neste trabalho para a cultivar BRS Guariba. SANTOS et al. (2009), avaliando componentes produtivos de variedades de feijão-caupi, obtiveram valores coerentes com o peso de 100 sementes obtidos neste trabalho, tanto para os ancestrais quanto para a cultivar avaliada.

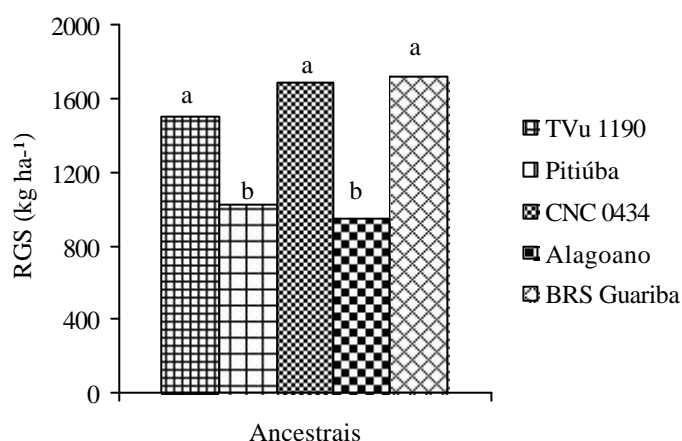
Quanto ao rendimento de grãos secos, os genótipos ancestrais TVu 1190 e CNC 0434 e a cultivar BRS Guariba apresentaram maiores rendimentos, diferindo significativamente dos genótipos Pitiúba e Alagoano (Figura 28).



**Figura 26.** Número de grãos por vagem (NGV) de de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 27.** Peso de 100 sementes (P100S) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 28.** Rendimento de grãos secos (RGS) de genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Em média o rendimento de grãos dos genótipos ancestrais variou de 948 a 1505 kg ha<sup>-1</sup> o que é considerado uma boa produtividade com base na média da Região Nordeste, que está na faixa de 300 a 400 kg ha<sup>-1</sup>.

SOARES et al (2006) verificaram para a cultivar BR-14 Mulato, inoculada com as bactérias UFLA 03-36, UFLA 03-129, UFLA 03-84 e INPA 03-11b, rendimentos na faixa de 700 a 900 kg ha<sup>-1</sup>. GUALTER et al. (2007), avaliando os efeitos da inoculação de feijão-caupi observaram rendimentos em torno de 1200 kg ha<sup>-1</sup> para BRS Guariba, enquanto que MELO & ZILLI (2009) observaram produtividades de 1200 a 1400 kg ha<sup>-1</sup> com as cultivares BRS Guariba e BRS Mazagão. SOARES et al. (2006) também verificaram que as estirpes INPA 03-11B e BR 3302 destacaram-se das demais (UFLA 03-36, UFLA 03-129 e BR 2001), promovendo rendimentos de grãos semelhantes aos da testemunha com N, que recebeu uma adubação mineral de 70 kg ha<sup>-1</sup> de N-uréia.

As correlações entre as variáveis de nodulação foram significativas e positivas nas fases de desenvolvimento vegetativo e início da floração para número de nódulos e massa

seca de nódulos e da parte aérea. Da mesma forma, massa seca da parte aérea correlacionou-se com nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação. Na fase de maturação de vagens as correlações foram significativas para NN e MSN e também para MSPA e NAPA (Anexo D). A alta correlação visualizada para MSPA e NAPA, nos diferentes estádios de desenvolvimento, confirma a citação de HAYDOCK et al. (1980) de que as estirpes mais eficientes poderiam ser selecionadas com base apenas na biomassa da parte aérea, sem a necessidade de determinar o teor de N nos tecidos.

PIMRATCH et al. (2004), também consideram a biomassa da parte aérea como um atributo criterioso na identificação do desempenho da FBN e a consideram como a característica mais confiável para seleção de cultivares com maior potencial simbiótico em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio.

Para os componentes de produção foram observadas correlações significativas para peso de vagens e comprimento de vagem, peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e número de grãos por vagem. A variável comprimento de vagem correlacionou-se com peso de grãos por vagem, peso de 100 sementes e número de grãos por vagem, enquanto que peso de grãos por vagem apresentou alta correlação com peso de 100 sementes e número de vagem por planta com rendimento de grãos secos (Anexo D).

O número de vagem por planta é considerado um determinante no rendimento de grãos. Neste estudo, foi constatado que embora o genótipo ancestral Alagoano tenha se destacado dos demais na maioria dos componentes de produção, o seu rendimento foi baixo devido ao pequeno número de vagens, característico desse genótipo.

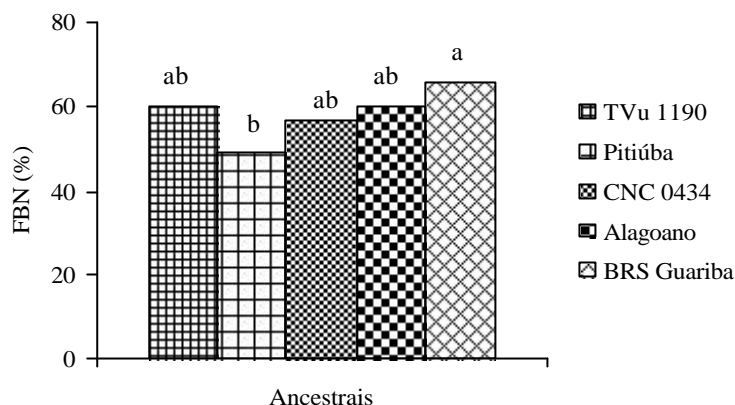
Entre as variáveis de nodulação e os componentes de produção foram verificadas correlações significativas, na fase de maturação de vagens, para massa seca de nódulos com número de vagem por planta e rendimento de grãos secos. A massa seca da parte aérea e o nitrogênio acumulado na parte aérea correlacionaram-se com peso e comprimento de vagem, enquanto que a eficácia relativa correlacionou-se com peso de vagem, peso de grãos por vagem e peso de 100 sementes.

Em termos de quantificação da FBN verificou-se uma variação de 49 a 66% entre os genótipos avaliados. Os ancestrais TVu 1190, CNC 0434 e Alagoano não diferiram significativamente da cultivar BRS Guariba que apresentou maior percentual e do Pitiúba que revelou menor valor de FBN (Figura 29).

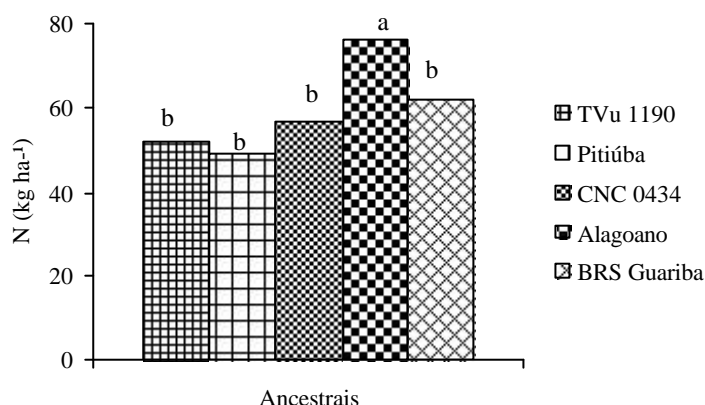
Os resultados obtidos foram superiores aos obtidos no primeiro experimento de campo e estão coerentes com os resultados encontrados por BELANE & DAKORA (2009) na avaliação da FBN de 30 genótipos pela técnica da abundância natural. HERRIDGE et al. (2008) consideraram a faixa de 8 a 97% de N derivado da FBN para a cultura de feijão-caupi na avaliação de vários ensaios de campo. YUSUF et al. (2008) avaliando o efeito de genótipos de feijão-caupi sobre a nodulação, observaram variações da FBN em torno de 19 a 46%.

PULE-MEULENBERG & DAKORA (2009) observaram em diferentes zonas agroecológicas de Botswana variações de 12 a 87% e de 31 a 80% de N derivado da FBN para genótipos de feijão-caupi, em dois anos seguidos.

Em quantidade de N derivado da FBN verificou-se que os genótipos avaliados contribuíram com 49 a 76 kg N ha<sup>-1</sup> e que o ancestral Alagoano destacou-se dos demais com maior quantidade (Figura 30).



**Figura 29.** Percentagem de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 30.** Quantidade de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Em diferentes regiões geográficas, PEOPLES et al. (2009) estimaram as seguintes quantidades de N fixado para feijão-caupi: 51 a 125 kg N ha<sup>-1</sup> para o Sul da Ásia; 3 a 201 kg N ha<sup>-1</sup> na África e 9 a 51 kg N ha<sup>-1</sup> na América do Sul. Observa-se que as quantidades de N fixado apresentam grande variabilidade entre regiões de cultivo e na própria região.

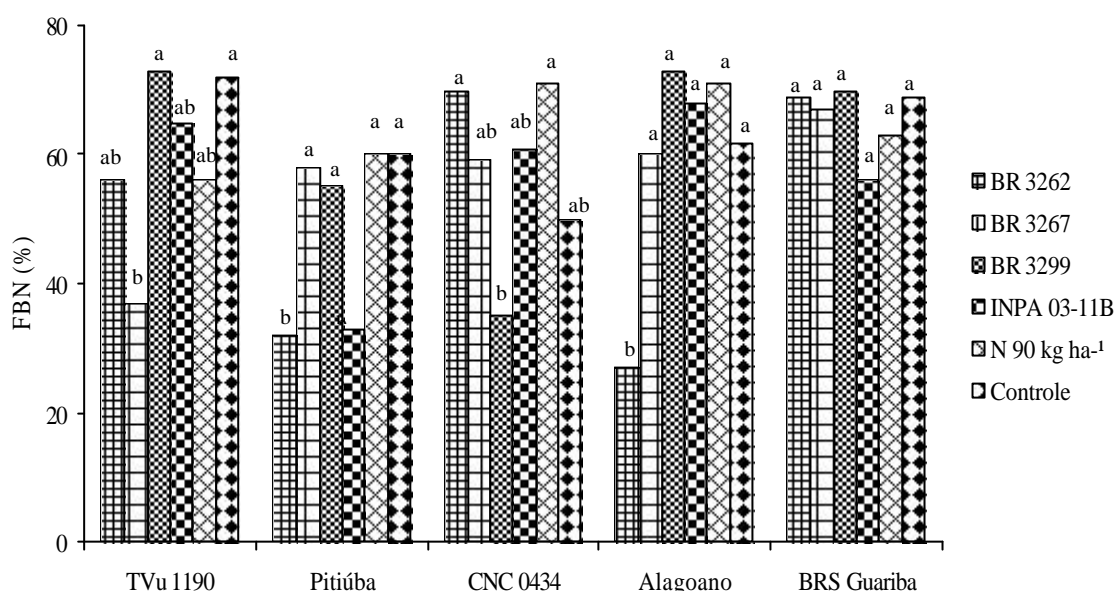
Os dados deste experimento são superiores aos estimados para a América do Sul, por PEOPLES et al. (2009) e muito próximos aos obtidos por MAKOI et al. (2009) e NYEMBA & DAKORA (2010) em trabalhos desenvolvidos no sul da África.

BELANE & DAKORA (2010) verificaram quantidades de N fixado em torno de 49 a 178 kg N ha<sup>-1</sup> e de 62 a 198 kg N ha<sup>-1</sup> em 30 genótipos de feijão-caupi, utilizando a técnica da abundância natural na quantificação da FBN.

Os genótipos ancestrais mostraram especificidade para algumas estirpes. Para a cultivar BRS Guariba não houve diferença estatística significativa, em percentagem de FBN, entre os tratamentos. O mesmo não ocorreu com os ancestrais TVu 1190, Pitiúba, CNC 0434 e Alagoano.



O ancestral TVu 1190 mostrou maior percentual de N derivado da FBN com a estirpe BR 3299, no entanto esta, só diferiu da BR 3267 que apresentou o menor valor. O tratamento controle também se destacou, demonstrando que a capacidade da população de rizóbio nativa foi eficiente na fixação de N. Para Pitiúba as estirpes BR 3262 e INPA 03-11B mostraram diferença significativa em relação aos outros tratamentos, apresentando os menores percentuais de FBN (Figura 31).



**Figura 31.** Percentagem de N derivado da FBN em genótipos de feijão-caupi sob diferentes fontes de N. Teresina-PI, 2010. Barras sobrepostas por letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Quanto ao CNC 0434, a estirpe BR 3299 revelou o menor valor de FBN, embora não tenha diferido das estirpes BR 3267 e INPA 03-11B. Do mesmo modo que ocorreu com o TVu 1190, observou-se que o tratamento controle também apresentou média significativa superior. O ancestral Alagoano mostrou que as associações com as estirpes BR 3267, BR 3299 e INPA 03-11B proporcionaram maior contribuição da FBN. O tratamento controle não diferiu das estirpes que apresentaram resultados superiores (Figura 31).

A estirpe BR 3262 não foi eficiente apenas nas associações com os ancestrais Pitiúba e Alagoano. Os dados são confirmados por ZILLI et al. (2009a), cujos relatos indicaram que a BR 3262 apresentava superioridade em efetividade da FBN, além de possuir grande capacidade de promover o crescimento de plantas de feijão-caupi.

Os dados analisados permitiram visualizar que o potencial dos genótipos ancestrais na fixação biológica de N é similar ao da cultivar avaliada e que a contribuição em termos quantitativos foi superior para o genótipo Alagoano que apresentou especificidade em relação às estirpes associadas.

## 5. CONCLUSÕES

- A cultivar Mauá foi superior em número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, nitrogênio acumulado na parte aérea e eficiência de nodulação na fase inicial da floração, sob condições assépticas.
- O genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais, quando associado à estirpe BR 3267, em número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, na fase de desenvolvimento vegetativo, sob condições assépticas.
- Em condições de campo, os genótipos ancestrais TVu 1190, TVu 59, TVx 3777-04E e TVx 4659-03E foram superiores em massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em interação com a estirpe BR 3267.
- O genótipo ancestral Alagoano foi superior aos demais em peso de 100 sementes, peso e comprimento de vagem, peso de grãos por vagem e número de grãos por vagem, sob condições de campo.
- Os ancestrais TVu 1190 e Alagoano apresentaram maior percentual de N derivado da FBN.
- A maior quantidade de N derivado da FBN foi obtida com o genótipo ancestral Alagoano.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A otimização da capacidade de fixação de nitrogênio das leguminosas, por meio do melhoramento genético vegetal, é um processo complexo porque existem dois componentes associados a serem considerados, a planta hospedeira e o rizóbio. A seleção de estirpes tem sido muito estudada, mas com relação à planta hospedeira, poucas informações têm sido obtidas, até mesmo devido à complexidade do genoma da célula vegetal.

O melhoramento genético do feijão-caupi no Brasil tem sido realizado buscando atender as demandas da cadeia formada por produtores, comerciantes, distribuidores e consumidores. O resultado tem sido a obtenção e a recomendação de cultivares de alto potencial produtivo. Só na última década foram lançadas 19 cultivares, adequadas para os diferentes setores da cadeia produtiva. No entanto, para nenhum desses genótipos foi avaliado o potencial para a fixação biológica do nitrogênio.

Este estudo é uma primeira iniciativa de verificar o comportamento da base genealógica da cultura do feijão-caupi com relação à FBN, e deixou óbvia a necessidade de que mais estudos sejam direcionados nesse sentido, com o propósito de que a fixação biológica do nitrogênio passe a ser considerada como um componente do melhoramento genético vegetal.

Os dados deste estudo confirmaram que a contribuição da FBN para as cultivares melhoradas é muito variável e que nem sempre a estirpe do rizóbio representa o fator determinante para que ocorra um bom desempenho da nodulação e da fixação biológica. Ou seja, a habilidade em fixar N está intrinsicamente associada aos fatores genéticos da planta, relacionados diretamente à FBN.

Neste aspecto, este estudo indica possíveis linhas de pesquisa, tais como: a avaliação das linhagens elites quanto à FBN e a influência do ciclo e do porte da cultura na contribuição da fixação biológica de N. A primeira, justifica-se pelo fato de que atualmente os cruzamentos da cultura do feijão-caupi envolvem, principalmente, linhagens elites e acessos introduzidos com pelo menos uma característica relevante. Até o momento não há registros de estudos de fixação biológica de N utilizando essas linhagens, no entanto a partir deste estudo, já há informação sobre a FBN em genótipos ancestrais.

Com relação ao ciclo e ao porte, há atualmente uma crescente demanda por cultivares de porte ereto e ciclo curto que atendam as exigências dos produtores, no entanto, há indícios de que em cultivares de ciclo longo as respostas à FBN são melhores, em virtude da atividade dos nódulos diminuírem com a formação dos grãos.

Além desses aspectos, associado a esses estudos deve ser considerado que embora a adoção da tecnologia da inoculação em feijão-caupi já tenha alcançado reconhecimento dos seus benefícios econômicos, sociais e ambientais, sendo inclusive certificada pela Fundação Banco do Brasil como tecnologia social, é ainda muito pouco utilizada nos sistemas de produção do feijão-caupi.

Essa pequena utilização da prática de inoculação é decorrente do baixo aporte tecnológico da cultura, cujos cultivos em sua maioria ainda são de subsistência e também, principalmente, devido à falta de informação aos produtores sobre o uso, os benefícios e a disponibilidade de inoculantes recomendados para a cultura do feijão-caupi.

Em síntese, as linhas de pesquisa vislumbradas com este estudo são necessárias para que a FBN em feijão-caupi seja melhor entendida e otimizada. Mas, para que a inoculação do feijão-caupi com estirpes de *Bradyrhizobium* seja uma prática comum, é imprescindível que essa tecnologia seja bem difundida entre os produtores.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADJEI-NSIAH, S.; KUYPER, T. W.; LEUWIS, C.; ABEKOE, M. K.; COBBINAH, J.; SAKYI-DAWSON, O.; GILLER, K. E. Farmers' agronomic and social evaluation of productivity, yield and N<sub>2</sub>-fixation in different cowpea varieties and their subsequent residual N effects on a succeeding maize crop, **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 80, p. 199 – 209, 2008.
- ALBINO, U. B.; CAMPO, R. J. Efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência do *Bradyrhizobium* e na fixação biológica de nitrogênio em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 527-534, 2001.
- ALCÂNTARA, J. dos P.; MONTEIRO, I. D.; VASCONCELOS, O. L.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, E. P. da; BOAVENTURA, J. R.; AMORIM, R.; SILVA, W. P. **BRS Paraguaçu (Tuiuiú)**. Teresina: Embrapa-CPAMN/EBDA, 2002a. (Embrapa - CPAMN/EBDA. Folder).
- ALCÂNTARA, J. dos P.; ROCHA, E. M. M.; MARQUES, H. S.; NETO, J. G. N.; VASCONCELOS, O. L.; DOURADO, V. V.; FREIRE FILHO, F. R. RIBEIRO, V. Q.; SILVA, E. P.; LIMA, J. G.; ALVES, J. R.; LOPES, P. V. L.; AMORIM, R.; SILVA, W. P. **BRS Rouxinol**. Teresina: Embrapa - CPAMN/EBDA, 2002b. (Embrapa - CPAMN/EBDA. Folder).
- ALCANTARA, R. M. C. M de; FORTALEZA, J. M.; XAVIER, G. R.; GUALTER, R. M. R. Efeitos da inoculação de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* ( L.) Walp.) com *Bradyrhizobium japonicum* em Teresina, Piauí. In: FERTBIO, 4, 2006, Bonito. **Anais...** Bonito: SBCS, 2006. CD-ROM.
- ALMEIDA, A. L. G de.; ALCANTARA, R. M. C. M. de.; NÓBREGA, R. S. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. da.; NÓBREGA, J. C. A. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p.364-369, jul.-set. 2010.
- ALTIERI, M. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 592p.
- ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v. 252, p. 1-9, 2003.
- ALVES, B. J. R.; SANTOS, J. C. F. dos; URQUIAGA, S.; BODDEY R. M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa – SPI, 1994. p. 449-509. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 46).
- ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L.; FERNANDES, F. M.; HECKLER, J. C.; MACEDO, R. A. T. de.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; URQUIAGA, S. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n.3, p.449-456, mar. 2006.

ANKOMAH, A. B.; ZAPATA, F.; HARDARSON, G.; DANSO, S. K. A. Yield, nodulation, and N<sub>2</sub> fixation by cowpea cultivars at different phosphorus levels. **Biology and Fertility of Soils**, v. 22, p.10-15, 1996.

ARAÚJO, A. S. F. de.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. de. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N<sub>2</sub> e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, 2010. On line.

ARAÚJO, A. S. F. de; CARVALHO, E. M. S.; ALCANTARA, R. M. C. M. de. Fixação biológica do nitrogênio nas culturas da soja e do feijão-caupi. In: LEITE, L. F. C.; OLIVEIRA, F. das C.; ARAÚJO, A. S. F. (Edit.) **Tópicos em manejo e fertilidade do solo com ênfase no Meio-Norte do Brasil**. 1. ed. Teresina: Embrapa- CPAMN, 2006. p. 167-194.

ARAÚJO, E. S. **Estimativa da quantidade de N acumulada pelo sistema radicular da soja e sua importância para o balanço de N do solo**. 2004. 101p. Dissertação (Mestrado Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2004.

ARAÚJO, J. P. P. de Melhoria do caupi no Brasil, In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Brasília: Embrapa-CNPAF; Ibadan: IITA, 1988.

ATTEWELL, J.; BLISS, F. A. Host plant characteristics of common bean line selected using indirect measures of N<sub>2</sub> fixation. In: EVANS, H.J.; BOTTOMLEY, P.J.; NEWTON, W. E. (Eds.) **Nitrogen Fixation Research Progress**. Martinus Nijhoff: Dordrecht, p. 3-9, 1985.

BAREA, J. M. Mycorrhiza/bacteria interactions on plant growth promotion. In: OGOSHI, A.; KOBAYASHI, K.; HOMMA, Y.; KODAMA, F.; KONDO, N.; AKINO, S. (Eds.) **Plant growth promoting rhizobacteria present status and future prospects**. p. 150-158, Sapporo: Faculty of Agriculture, Hokkaido University. 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances. **Canada Journal Microbial**, v. 43, p.103- 121, 1997.

BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 4, p. 729-770, 1998.

BELANE, A. K.; DAKORA, F. D. Symbiotic N<sub>2</sub> fixation in 30 field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in the Upper West Region of Ghana measured using <sup>15</sup>N natural abundance. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, p. 191–198, 2010.

BELANE, A.; DAKORA, F. D. Measurement of N<sub>2</sub> fixation in 30 cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) genotypes under field condition in Ghana, using the <sup>15</sup>N natural abundance technique. **Symbiosis**, v. 48, p. 47-56, 2009.

BELIMOV, A. A.; KOJEMIAKOV, A. P.; CHUVARLIYEVA, C. V. Interaction between barley and mixed cultures of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing bacteria. **Plant Soil**, v. 173, p. 29-37, 1995.

BEZERRA, A. A. C. **Variabilidade e diversidade genética em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) precoce, de crescimento determinado e porte ereto e semi-ereto**. 1997. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1997.

BINNECK, E.; BARROS, A. C. S. A.; VAHL, L. C. Inoculação com rhizobium, aplicação de molibdênio e secagem das sementes tratadas de trevo branco. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, p. 35-38, 2000.

BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.; ALVES, B.J.R., URQUIAGA, S. Field application of the  $^{15}\text{N}$  isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. **Fertilizer Research**, v.42, n.1-3, p.77-87, 1995.

BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique for the quantification of the contribution of  $\text{N}_2$  fixation to grasses and cereals. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 1-7, 2001.

BORTELS, H. Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung. **Archives of Microbiology**, v. 1, p. 333-342, 1930.

BRITO, M. de M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. da.; Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de  $^{15}\text{N}$ . **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 895-905, 2009.

BULEN, W. A.; LeCONTE, J. R. The nitrogenase system from *Azotobacter*: two enzyme requirements for  $\text{N}_2$  reduction, ATP-dependent  $\text{H}_2$  evolution, and ATP hydrolysis. **National Academy of Sciences of the United States of America Proceedings**, v. 56, p. 979-986, 1966.

CAIRES, E. F.; ROSOLEM, C. A. Nodulação e absorção de nitrogênio pelo amendoim em resposta à calagem, cobalto e molibdênio. *Scientia Agrícola*, v. 57, p. 337-341, 2000.

CARDOSO, M. J.; FREIRE FILHO, F. R.; ATHAYDE SOBRINHO, C. **BR 14- Mulato**: nova cultivar de feijão macassar para o Estado do Piauí, Teresina: Embrapa-UEPAE de Teresina, 1990. 4p. (Embrapa-UEPAE de Teresina. Comunicado Técnico, 48).

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

CARSKY, R. J.; VANLAUWE, B.; LYASSE, O. Cowpea rotation as a resource management technology for cereal-based systems in the savannas of West Africa. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. M.; TAMO, M. (Ed.). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p. 252-266.

CASTILLEJA, G.; ROSKOSKI, J. P.  $\text{N}_2(\text{C}_2\text{NH}_4)$  fixing activity in 17 varieties of field-grown cowpea. **Turrialba**, v. 33, n. 1, p. 67-71, 1983.

CASTRO, C.M.; ALVES, B. J. R.; ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, R. L. D. Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da berinjela em sistema orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 779-785, 2004.

CAVALCANTE, E. da S.; FREIRE FILHO, F.R.; SOBRINHO, C. A.; SILVA, P. H. S.; RIBEIRO, V. Q. **BRS-Mazagão**. Teresina: Embrapa - CPAMN, 2006, (Folder).

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, G. R. dos; CHAGAS, L. F. B. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, out-dez, 2010.

CREWS, T. E.; PEOPLES, M. B. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A review. **Nutrition Cycling Agroecosystem**, v. 72, p.101-120, 2005.

DEMEZAS, D. H.; REARDON, T. B.; STRAIN, S. R.; WATSON, J. M.; GIBSON, A. H. Diversity and genetic structure of a natural population of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* isolated from *Trifolium subterraneum* L. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 209-220, 1995.

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

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N. B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 475-487, 1967.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. **Efeito da água no rendimento das culturas**. Campina Grande: UFPB-FAO, 1994. 306p. (FAO. Irrigação e Drenagem, 33).

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1-3, p. 87-204, 1997.

ELSHANSHOURY, A. R. Interactions of *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Streptomyces mutabilis*, in relation to their effect on wheat development. **Journal Agronomy Crop Science**, v. 175, p.119-127,1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa - CNPS, 1997, 212 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA - EMBRAPA. **V Plano Diretor 2008-2023**. Brasília: Empraba, 2008, 74p.

FALL, L.; DIOUF, D.; NDIAYE, M. A. F.; BADIANE, F. A.; GUEYE, M. Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] varieties determined by ARA and RAPD techniques. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 48-50, February, 2003.

FAO. FAOSTAT. Crops. Cowpeas, dry. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> > Acesso em: 24 fev. 2011.

FAUVART, M.; MICHIELS, J. Rhizobial secreted proteins as determinants of host specificity in the rhizobium-legume symbiosis. **FEMS Microbiology**, v. 285, p. 1-9, 2008.

FERREIRA, D. F. **Sistema para análise de variância para dados balanceados (SISVAR)**. versão 4.3. Lavras: UFLA, 2003

FERREIRA, E. M.; CASTRO, I. V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p.1177-1183, 1995.

FLOURI, F.; SINI, K.; BALIS, C. Interactions between *Azospirillum* and *Phialophora radiculicola*. In: FENDRIK, M.; DEL GALLO, J.; VANDERLEYDEN, J; ZAMAROCZY, M de. (Eds) **Azospirillum and related microorganisms**. Genetics-physiology-ecology. Berlin: Springer Verlag v. G37, p. 231-237, 1995.

FRANCO, A. A. Rizobiologia: estudo no Estado do Rio de Janeiro. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. p. 436-442.

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

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; SANTOS, A. A. Cultivares de caupi para região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M. J. (Org.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa- CPAMN, 2000. p. 67-88. (Embrapa- CPAMN. Circular Técnica, 28).

FREIRE FILHO, F. R.; BENVINDO, R. N.; NÓBREGA, E. M. da.; RIBEIRO, V. Q. Comportamento de cultivares introduzidas e seleções locais de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na microrregião homogênea de Campo Maior. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 4, 1986, Teresina. **Resumos...** Teresina: Embrapa-UEPAE de Teresina, 1986. p.161-170.

FREIRE FILHO, F. R.; CARVALHO, H. W. L de; ROCHA, M. de M.; OLIVEIRA, I. R. de; RAPOSO, J. A. A; COSTA, A. F. da; FERNANDES, J. B; RIBEIRO, V. Q; NUTTI, M. R; SAGRILO, E.; ALCÂNTARA, J. dos P.; VILARINHO, A. A.; CRAVO, M. da S.; CAVALCANTE, E. da S.; SOUZA, F. de F.; SITTOLIN, I. M.; GONÇALVES, J. R. P. **BRS Xiquexique**: cultivar de feijão-caupi rica em ferro e zinco. Teresina: Embrapa-CPATC/CPAMN. 2008 (Embrapa- CPATC/CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; CAVALCANTE, E. da S.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; LOPES, A. de M; VILARINHO, A. A; RAPOSO, J. A. A; COSTA, A. F. da; FERNANDES, J. B; LIMA, J. M. P. de; SAGRILO, E; SITTOLIN, I. M; SOUZA, F. de F; VIEIRA JUNIOR, J. R.; GONÇALVES, J. R. P.; NUTTI, M. R; CARVALHO, J. L. V. de. **BRS Tumucumaque**: cultivar de feijão-caupi com ampla adaptação e rica em ferro e zinco. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009a (Embrapa – CPAMN. Folder).



FREIRE FILHO, F. R.; CRAVO, M. da S.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; CASTELO, E. O.; BRANDÃO, E. S.; BELMINO, C. S. **BRS- Urubuquara**: cultivar de feijão-caupi para a Região Bragantina, PA. Belém: Embrapa - CPATU. 2005a (Embrapa – CPAMN. Comunicado Técnico,135).

FREIRE FILHO, F. R.; FERNANDES, J. B.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; LIMA, J. M. P. de; RAPOSO, J. A. A.; COSTA, A. F. da; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; CAVALCANTE, E. da S.; VILARINHO, A. A.; LOPES, A. de M.; SAGRILO, E.; SITTOLIN, I. M.; SOUZA, F. de F.; VIEIRA JUNIOR, J. R.; GONÇALVES, J. R. P. **BRS Potengi**: nova cultivar de feijão-caupi de grão branco. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009b (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; RAPOSO, J. A. A.; COSTA, A. F. da; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; LOPES, A. de M.; VILARINHO, A. A.; CAVALCANTE, E. da S.; FERNANDES, J. B.; LIMA, J. M. P. de; SAGRILO, E.; SITTOLIN, I. M.; SOUZA, F. de F.; VIEIRA JUNIOR, J. R.; GONÇALVES, J. R. P. **BRS Pajeú**: cultivar de feijão-caupi com grão mulato-claro. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009c (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. dos. Melhoramento genético: In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q (Org.). **Feijão caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa - Informação Tecnológica, p 28-92, 2005b.

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. de M.; SILVA, K. J. D. e; RIBEIRO, V. Q.; NOGUEIRA, M. S. da R. Feijão-caupi: melhoramento genético, resultados e perspectivas. In: VIDAL NETO, F. das C.; BERTINI, C. H. C. de M.; ARAGÃO, F. A. S.; CAVALCANTI, J. J. V. (Ed.) **O melhoramento genético m contexto atual**. Fortaleza: Embrapa - CNPAT, 2009d. p. 25 – 59.

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; LOPES, A. de M.; VILARINHO, A. A.; SABOYA, R. de C. C.; CAVALCANTE, E. da S.; COSTA, A. F. da.; ALCÂNTARA, J. dos P.; SITTOLIN, I. M. **BRS Itaim**: cultivar de feijão-caupi com grãos tipo fradinho. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009e (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; LOPES, A. de M.; VILARINHO, A. A.; SABOYA, R. de C. C.; CAVALCANTE, E. da S.; COSTA, A. F. da.; ALCÂNTARA, J. dos P.; SITTOLIN, I. M.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. de. **BRS Aracê**: cultivar de feijão-caupi com grãos de cor verde-oliva e rica em ferro e zinco. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009f (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CARVALHO, H. W. L de; CRAVO, M. da S.; LOPES, A. de M.; VILARINHO, A. A.; SABOYA, R. de C. C.; CAVALCANTE, E. da S.; COSTA, A. F. da.; ALCÂNTARA, J. dos P.; SITTOLIN, I. M.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. de. **BRS Juruá**: primeira cultivar brasileira de feijão-caupi com grãos de cor verde. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009g (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; SANTOS, A. A. dos; CARDOSO, M. J.; SILVA P. H. S. da; RIBEIRO, V. Q. **BR 17 Gurguéia**: nova cultivar de caupi com resistência a vírus para o Piauí. Teresina: Embrapa- CPAMN, 1994. 6p. (Embrapa-CPAMN. Comunicado Técnico, 61).

FREIRE FILHO, F. R.; CRAVO, M. da S.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA.; M. M.; CASTELO, E. O.; BRANDÃO, E. S.; BELMINO, C. S. **BRS-Milênio**: nova cultivar de feijão-caupi para a Região Bragantina, PA. Belém: Embrapa - CPATU. 2005c (Embrapa – CPAMN. Comunicado Técnico, 136).

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ALCÂNTARA, J. dos P.; BELARMINO FILHO, J.; ROCHA, M. de M. **BRS Marataoã cultivar de feijão caupi com grãos sempre-verde**. Teresina: Embrapa - CPAMN, 2004a. (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F. **Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) na região nordeste**. Petrolina: Embrapa – CPATSA, 1998, 42p.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. de M.; SILVA, S. M. S.; SITTOLIN, I. M. **BRS Guariba nova cultivar de feijão caupi para a Região Meio-Norte**. Teresina: Embrapa - CPAMN, 2004b. (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE FILHO, F. R.; VILARINHO, A. A.; ROCHA, M. de M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. e; CAVALCANTE, E. da S; CRAVO, M. da S; SOUZA, F. de F; SAGRILLO, E; CARVALHO, H. W. L de; LOPES, A. de M; RAPOSO, J. A. A.; COSTA, A. F. da; FERNANDES, J. B; LIMA, J. M. P de; SITTOLIN, I. M.; VIEIRA JUNIOR, J. R.; GONÇALVES, J. R. P; NUTTI, M. R. **BRS Cauamé**: nova cultivar de feijão-caupi com porte semiereto. Teresina: Embrapa - CPAMN. 2009h (Embrapa – CPAMN. Folder).

FREIRE, J. R. J.; VIDOR, C. Rizobiologia: estudos no Estado do Rio Grande do Sul. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, p. 417-425, 1981.

FROMMEL, M. I.; PAZOS, G. S.; NOWAK, J. Plant growth stimulation and biocontrol of Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici) by co-inoculation of tomato seeds with *Serratia plymuthica* and *Pseudomonas* sp. **Fitopatologia**, v. 26, p. 66-73, 1991.

FROTA, A. B.; PEREIRA, P. R. Caracterização da produção de feijão-caupi na região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M. J. (Org.) **A cultura do feijão-caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa - CPAMN, 2000. p. 9-25. (Embrapa – CPAMN. Circular Técnica, 28).

GALLI, L. V. **Avaliação de genótipos de soja ( *Glycine max* (L.) Merrill) e estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* para eficiência simbiótica**. 1987. 137f. Dissertação (Mestrado em Solo e Nutrição de Plantas). Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba, 1987.

GALLOWAY, J. N.; ABER, J. D.; ERISAMN, J. W.; SEITZINGER, S. P.; HOWARTH, R. W.; COWLING, E. B.; COSBY, B. J. The nitrogen cascade. **BioScience**, v. 53, p. 341-356, 2003.

GARCIA, M.; DUNLAP, J.; LOH, J.; STACEY, G. Phenotypic characterization and regulation of the *nolA* gene of *Bradyrhizobium japonicum*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 9, n. 7, p. 625-635, 1996.

GLIESSMAN, S. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Editora Universidade/UFRGS, 2000. 653p.

GORI, A.; FAVILLI, F. First results on individual and dual inoculation with *Azospirillum - Glomus* on wheat. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; ZAMAROCZY, M. de. (Eds.) **Azospirillum VI and related microorganisms, genetics - physiologyecology**, v. 37, p. 245-249, Berlin: Springer Verlag. 1995.

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

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs **Field Crops Research**, v. 65, p. 93-106, 2000.

GUALTER, R. M. R.; LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F. de; ALCANTARA, R. M. C. M. de.; COSTA, D. B. Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade de grãos. **Revista Scientia Agrária**, v. 9, n. 4, 2008.

GUALTER, R. M. R.; LEITE, L. F. C.; ALCANTARA, R. M. C., M de; COSTA, D. B.; LIMA, S. S. Avaliação dos efeitos da inoculação de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) com *Bradyrhizobium elkanii*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p.637-640, 2007.

GUALTER, R. M. R. **Efeito da inoculação com diferentes estirpes de rizóbio na nodulação, fixação biológica de nitrogênio e na produtividade em feijão-caupi**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo). Coordenação de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

GUEDES, R. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. L. D. Consórcios de caupi e milho em cultivo orgânico para produção de grãos e espigas verdes. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 174-177, 2010.

HANSEN, A.P.; YONEYAMA T.; KOUCHI H.; MARTIN P.; Respiration and nitrogen fixation of hydroponically cultured *Phaseolus vulgaris* L. cv OAC Rico and supernodulant mutant I. Growth, mineral composition and effect of sink removal. **Planta**, v. 189, p. 538-545, 1993.

HARA, F.A. dos S.; OLIVEIRA, L.A. de. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, v. 34, p. 343-357, 2007.

HARDARSON, G.; ATKINS, C. Optimising biological N<sub>2</sub> fixation by legumes in farming systems. **Plant and Soil**, v. 252, p. 41-54, 2003.

HARDY, R. W. F.; HAVELKA, U. D. Nitrogen fixation: a key to world food. **Science**, v. 188, p. 633-643, 1975.

HAYDOCK, K. P.; NORRIS, D. O.; MANNETJE, L. T. The relation between nitrogen percent and dry weight of inoculated legumes. **Plant and Soil**, v. 57, p. 353-362, 1980.

HERRIDGE, D. F.; BERGERSEN, F.J. Symbiotic nitrogen fixation. In: WILSON, J. R. (Ed.), **Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems**. CAB International, Wallingford, UK, p. 46-65, 1988.

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

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, p. 1-18, 2008.

HERRIDGE, D. F.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, v. 65, p. 229-248, 2000.

HERRIDGE, D. F.; TURPIN, J. E.; ROBERTSON, M. J. Improving nitrogen fixation of crop legumes through breeding and agronomic management: analysis with simulation modeling. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 3, p. 391- 401, 2001.

HESPANHOL, A. N. Agricultura, desenvolvimento e sustentabilidade. In: ENCONTRO NACIONAL DE GEOGRAFIA AGRÁRIA, XVIII, Rio de Janeiro. **Anais...** RJ: UERJ, 2006. CD-ROM.

HESPANHOL, R. A. de M. Perspectivas da agricultura sustentável no Brasil. **Confins**, n. 2, 2008. On line.

HOLGUIN, G. BASHAN, Y. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, p. 1651-1660, 1996.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Recife. **Anais...** Recife: SBCS; Embrapa – CNPCS/UFRPE, 2005. CD ROM.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P. Efeito da manipulação de fotossintatos na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, p.9-24, 1986.

HUNGRIA, M.; THOMAS, R. J. Effects of cotyledons and nitrate on the nitrogen assimilation of *Phaseolus vulgaris*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 3, p. 411-419, 1987.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ANDRADE, D. S.; CAMPO, R. J.; CHUEIRE, L. M. O.; FERREIRA, M. C.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio em leguminosas de grãos. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Ed.) **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCS, 1999. p. 597-620.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting  $N_2$  fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.

ISOPI, R.; FABBRI, P.; DEL GALLO, M.; PUPPI, G. Dual inoculation of sorghum bicolor (L.) Moench ssp. bicolor with vesicular arbuscular mycorrhizas and *Acetobacter diazotrophicus*. **Symbiosis**, v. 18, p. 43-55, 1995.

JANZEN, R. A.; ROOD, S. B.; DORMAAR, J. F.; MCGILL, W. B. *Azospirillum brasilense* produces gibberellin in pure culture on chemically-defined medium and in co-culture on straw. **Soil Biology Biochemistry**, v. 24, p. 1061-1064, 1992.

JENKINSON, D. A. The impact of humans on the nitrogen cycle, with focus on temperate arable agriculture. **Plant Soil**, v. 228, p. 3-15, 2001.

JENSEN, E.S.; CASTELLANOS, J. Z. The role of grain legumes in nitrogen cycling of low input sustainable agro-ecosystems. **Transactions.... WORLD CONGRESS ON SOIL SCIENCE**, 15 Acapulco, México, v. 5, p. 32-45, 1994.

JENSEN, E. S.; HAUGGAARD-NIELSEN, H. How can increased use of biological  $N_2$  fixation in agriculture benefit the environment? **Plant and Soil**, v. 252, p. 177-186, 2003.

KUSDRA, J. F. Nodulação do feijoeiro e fixação biológica do nitrogênio em resposta à microbiolização das sementes e à aplicação de micronutrientes. **Scientia Agraria**, v. 4, p.81-96, 2003.

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

LIMA, J. A. de A.; NELSON, M. R. Etiology and epidemiology of mosaic of cowpea in Ceará, Brazil. **Plant Disease Reporter**, v. 61, n. 10, p. 864-867, 1977.

LINCOLN, T.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-112.

LIPPI, D.; CACCIARI, I.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Interactions between *Azospirillum* and *Arthrobacter* in diazotrophic mixed culture. **Symbiosis**, v.13, p.107-114, 1992.

MAKOI, J. H. J. R.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. Effect of legume plant density and mixed culture on symbiotic  $N_2$  fixation in five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in South Africa. **Symbiosis**, v. 48, p. 57-67, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Balança comercial do agronegócio – Síntese dos resultados no período de 1997-2007**. Brasília: CGOE; DPI; SRI; MAPA, 2008. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/portal/page?\\_papeid=33,1537717&\\_dad=portal&\\_schema=PO](http://www.agricultura.gov.br/portal/page?_papeid=33,1537717&_dad=portal&_schema=PO) RTAL Acesso em: 20 jan. 2011.

MARRA, L. M., SOARES, C. R. F. S., MOREIRA, F. M. S. Eficiência simbiótica de isolados de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBCS, 2009. CD-ROM.

MARTINS, L. M. V. **Comportamento de estirpes de rizóbio introduzidas como inoculantes para caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do semi-árido brasileiro**. 2003. 66f. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo). Coordenação de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.

MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; MORGADO, L. B.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. Avaliação do estabelecimento e sobrevivência de estirpes de rizóbio introduzidas em área irrigada do semi-árido brasileiro. In: FERTBIO, 1., 1998, Caxambu. **Anais...** Caxambu: SBCS/UFLA, 1998. p. 775-775.

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

MAYZ, J.; CAMPOS, F. & VALLADARES, N. Evaluation of rhizobial ( *Rhizobium* sp.) isolates for their effects on cowpea [ *Vigna unguiculata* (L.) Walp.] growth and yield. **Tropic Agricultural**, v. 80, p. 36-40, 2003.

MEEKS, J. C.; WOLK, C. P.; SCHILLING, N.; SHAFFER, P. W.; AVISSAR, Y.; CHIEN W. S. Initial organic products of fixation of [<sup>13</sup>N] dinitrogen by root nodules of soybean (*Glycine max*). **Plant Physiology**, v.61, p.980-983, 1978.

MELO, S. R. de.; ZILLI, J. É. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1177-1183, set. 2009.

MENDES, I.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F.; BUENO, F. **Fixação biológica do nitrogênio na soja**: bom para a qualidade do solo, para o bolso do agricultor e para o Brasil. Disponível em: < <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/secoes/home.asp>>. Acesso em: 11 mar. 2011.

MYTTON, L. R. Developing a breeding strategy to exploit quantitative variation in symbiotic nitrogen fixation. **Plant and Soil**, v. 82, p. 329-335, 1984.

MONTALVÁN, R.; MAIA, J. P.; MACIEL, S. V. P. A.; RAMOS, S. R. R.; FREIRE FILHO, F. R. Base genética das cultivares brasileiras de feijão-caupi. In: CONGRESSO NACIONAL

DE FEIJÃO-CAUPI, 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa- CPAMN, 2006. CD-ROM.  
MOREIRA, F. M. S.; FARIA, S. M.; MARSH, T.; MARTINEZ-ROMERO, E.; PEDROSA, F. O.; PITARD, R.; YOUNG, P. J. W. *Azorhizobium doebereineriae* sp. nov. microsymbiont of *Sesbania virgata* (Caz.) Pers. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 29, p. 197-206, 2006.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: UFLA, 2008. p. 621-680.

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

MÜLLER, J. M.; LOVATO, P. E.; MUSSOI, E. M. Do tradicional ao agroecológico: as veredas da transição (o caso dos agricultores familiares de Santa Rosa de Lima/SC). **Eisforia**, v. 1, n. 1, p. 98-121, 2003.

NAAB, J. B.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. N<sub>2</sub> fixation in cowpea plants grown in farmers' fields in the Upper West Region of Ghana, measured using 15N natural abundance. **Symbiosis**, v. 48, p.37-46, 2009.

NASCIMENTO, L.R. S.; SOUSA, C.A.; SANTOS, C.E. R. S.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I.M. M. B.; SAMPAIO, E.V. S. B. Eficiência de isolados de rizóbios nativos do agreste paraibano em caupi. **Revista Brasileira de Ciencias Agrárias**, v. 5, n. 1,p. 36-42, 2010.

NDIAYE, M. A. F.; SPENCER, M. M.; GUEYE, M. Genetic variability in dinitrogen fixation between cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] cultivars determined using the nitrogen-15 isotope dilution technique. **Biology Fertility Soils**, v. 32, p. 318–320, 2000.

NICOLÁS, M. F.; ARRABAL ARIAS, C. A.; HUNGRIA, M. Genetics of nodulation and nitrogen fixation in Brazilian soybean cultivars. **Biology Fertility Soils**, v. 36, p. 109-117, 2002.

NODARI, R. O.; TSAI, S. M.; GUZMÁN, P.; GILBERTSON, R. L.; GEPTS, P. Toward an integrated linkage map of common bean. III Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. **Genetics**, v. 134, p. 341-350, 1993.

NORRIS, D. O.; T'MANNETJE, L. The symbiotic specialization of African *Trifolium* spp. In relation to their taxonomy and their agronomic use. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 29, p. 214-235, 1964.

NYEMBA, R. C.; DAKORA, F. D. Evaluating N<sub>2</sub> fixation by food grain legumes in farmers' fields in three agro-ecological zones of Zambia, using <sup>15</sup>N natural abundance. **Biology Fertility of Soils**. v. 46, p. 461-470, 2010.

OKITO, A.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Isotopic fractionation during N<sub>2</sub> fixation by four tropical legumes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 1179-1190, 2004.

OLIVEIRA, A. P.; TAVARES SOBRINHO, J.; NASCIMENTO, J. T.; ALVES, A. U.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 180-182, 2002.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L. de; FAVERET FILHO, P.; ROCHA, L. T. M. da. Agricultura Orgânica: quando o passado é futuro. **Revista BNDES**, Rio de Janeiro, n. 15, p.3-34, 2002.

PAFFETTI, D.; DAGUIN, F.; FRANCELLI, S.; GNOCCHI, S.; LIPPI, F.; SCOTTI, C.; BAZZICALOPO, M. Influence of plant genotype on the selection of nodulating *Sinorhizobium meliloti* strains by *Medicago sativa*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 73, 1998.

PAZDERNIK, D. L.; GRAHAM, P. H.; ORF, J. H. Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean. **Crop Science**, v. 37, p.1482-1486, 1997.

PEOPLES, M. B.; BROCKWELL, J.; HERRIDGE, D. F.; ROCHESTER, I. J.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; DAKORA, F. D.; BHATTAARAI, S.; MASKEY, S. L.; SAMPET, C.; RERKASEM, B.; KHANS, D. F.; HAUGGAARD-NIELSEN, H.; JENSEN, B. S. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems **Symbiosis**, v. 48, p. 1-17, 2009.

PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F. Quantification of biological nitrogen fixation in agricultural systems. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Pub., 2000, p. 519-524.

PERRET, P.; STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W. J. Molecular Basis of Symbiotic Promiscuity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 180-201, 2000.

PIMRATCH, S. Heritability and correlation for nitrogen fixation and agronomic traits of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Songklanakarin Journal Science Technology**, v. 26, n. 3, p. 305-315, 2004.

PRADELLA, J. G. C.; OLIVEIRA, M. S.; URENHA, L. C. Produção de inoculantes Agrícolas. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Coord.). **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 3. p. 279-305.

PULE-MEULENBERG, F.; BELANE, A. K.; KRASOVA-WADE, T.; DAKORA, F. D. Symbiotic functioning and bradyrhizobial biodiversity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in Africa. **Biomedical Central Microbiology**, v. 10, p. 78-89, 2010.

PULE-MEULENBERG, F.; DAKORA, F. D. Assessing the symbiotic dependency of grain and tree legumes on N<sub>2</sub> fixation for their N nutrition in five agro-ecological zones of Botswana. **Symbiosis**, v. 48, p. 68-77, 2009.

RANALLI, P.; CUBERO, J. I. Bases for genetic improvement of grain legumes. **Field Crops Research**, v. 53, p. 69-82, 1997.

RAYMOND, J.; SIEFERT, J. L.; STAPLES, C. R.; BLAKENSHIP, R. E. The Natural History of Nitrogen Fixation. **Molecular Biology and Evolution**. 2004. On line.



REIS, M. R. Inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio para aplicação em gramíneas. In: FERTBIO, 2006, Bonito. **Anais...** Bonito: SBM. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. CD ROM (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82).

RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Técnicas utilizadas na quantificação da fixação biológica de nitrogênio**. Seropédica: Embrapa - CNPAB, 2003. 26 p. (Embrapa - CNPAB. Documentos, 165).

RIOS, G. P.; WATT, E. E.; ARAÚJO, J. P. P. de; NEVES, B. P. das. Cultivar CNC 0434 imune ao mosaico severo do caupi. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 1., 1982, Goiânia. **Resumos...** Brasília: Embrapa - CNPAF, 1982. p. 113-115 (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 4).

REDE DE INOVAÇÃO E PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA PARA O AGRONEGÓCIO - RIPA. **Cenários do Ambiente e atuação das instituições públicas e privadas de PD&I para o agronegócio e o desenvolvimento rural sustentável: horizonte 2023**. São Carlos, 2008. 98p.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. 2005. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 281- 335.

RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; MORGADO, L. B.; ALCANTARA, R. M. C. M.; FREIRE FILHO, F. R.; DANTAS, J. P. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi. In: RELARE, 2006, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa - CNPSO, 2006. p.37-38.

SAMPAIO, L. S.; CRAVO, M. da S. ; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; RIBEIRO, V. Q. Avaliação de linhagens de feijão-caupi em Igarapé Açu-PA. . In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 1., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa, 2006. CD ROM.

SANGINGA, N.; LYASSE, O.; SINGH, B.B. Phosphorus use efficiency and nitrogen balance of cowpea breeding lines in a low P soil of the derived savanna zone in West Africa. **Plant and Soil**, v. 220, p. 119–128, 2000.

SANGINGA, N.; DASHIELL, K.; DIELS, J.; VANLAUWE, B.; LYASSE, O.; CARSKY, R. J.; TARAWALI, S.; ASAFOADJEI, B.; MENKIR, A.; SCHULZ, S.; SINGH, B. B.; CHIKOYE, D.; KEATINGE, D.; ORTIZ, R. Sustainable resource management coupled to resilient germplasm to provide new intensive cereal-grain-legume-livestock systems in the dry savanna. **Agricultural Ecosystem Environmental**, v.100, p. 305- 314, 2003.

SANGINGA, N.; WIRKOM, L. E; OKOGUM, A.; AKOBUNDU, I. O; CARSKY, G.; TIAN, G. Nodulation and estimation of symbiotic nitrogen fixation by herbaceous and shrub legumes in Guinea savana in Nigeria. **Biology and Fertility of Soils**, v.23, p. 442-448, 1996.

SANTOS, A. A. dos; FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J. BR 10-Piauí: cultivar de feijão macassar (*Vigna unguiculata*) com resistência múltipla de vírus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12 n.4, p. 400-4002, 1987.

SANTOS, A. A. dos; FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; FROTA, A. B. Nova cultivar de feijão macassar (*Vigna unguiculata*) com resistência múltipla a vírus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, 1990.

SANTOS, A. A.; dos; FREIRE FILHO, F. R. Genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) com resistência de campo ao vírus do mosaico dourado do caupi. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 4., 1986, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa-UEPAE de Teresina, 1986. p. 191-203.

SANTOS, C. A. F.; SANTOS, I. C. N. dos; RODRIGUES, M. A. BRS Pujante: nova cultivar de feijão-caupi para áreas irrigada e de sequeiro do vale do rio São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.1, 2007.

SANTOS, C. E. de R. e S. **Diversidade de rizóbio nativo na Região Nordeste do Brasil capaz de nodular amendoim (*Arachis hypogaea*) *Stylosanthes* e *Aeschynomene***. 2001. 174f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) Coordenação de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; BORGES, W. L. ; NEVES, M. C. P.; RUNJAEK, N. G.; NASCIMENTO, L. R.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; BEZERRA, R. V. Faixa hospedeira de rizóbios isolados das espécies *Arachis hypogaea*, *Stylosanthes guyanensis* e *Aeschynomene americana*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, p. 20-27, 2007.

SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I. T.; BRITO, C. H. de.; SANTOS, M. C. A. Produção e componentes produtivos de variedades de feijão-caupi na microregião Cariri paraibano. **Engenharia Ambiental**, v. 6, p. 214-222, 2009.

SATTAR, M. A.; QUADER, M. A.; DANSO, S. K. A. Nodulation, N, fixation and yield of chickpea as influenced by host cultivar and *Bradyrhizobium* strain differences. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 21, n. 415, p. 725-727, 1995.

SHEARER, G.; KOHL D. H. N<sub>2</sub>-fixation in field settings: estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 13, p. 699-756, 1986.

SILVA JÚNIOR, A. F. M.; SILVA, L. E. S. F.; ARAÚJO, A. S. F.; LYRA, M. C. C. P.; BURITY, H. A. Seleção de estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* tolerantes a altas temperaturas, In: CONGRESSO DE INCIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 1996, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 1996, p.81.

SILVA, E. C.; FERREIRA, D. F.; BEARZOTI, E. Avaliação do poder e taxas de erro tipo I do teste de Scott-Knott por meio do método de Monte Carlo1. **Ciência Agrotecnológica**, v.23, n.3, p. 687-696, jul./set., 1999

SILVA, K. J. D. Estatística da produção de feijão-caupi. 2009. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/estatistica.pdf>>. Acesso em 26 fev. 2011.

SILVA, R. P.; SANTOS, C. E. R. S.; LIRA JÚNIOR, M.; STAMFORD, N. P. Efetividade de estirpes selecionadas para feijão caupi em solo da região semi-árida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 3, n. 2, p. 105-110, 2008.

SILVEIRA, J. A. G.; CONTADO, J. L.; RODRIGUES, J. L. M.; OLIVEIRA, J. T. A. Phosphoenolpiruvate carboxilase and glutamine synthetase activities in relation to nitrogen fixation in cowpea nodules. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 1, p. 19-23, 1998.

SILVEIRA, J. A. G.; COSTA, R. C. L.; OLIVEIRA, J. T. A. Drought-induced effects and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* spp. under moderate nitrate level. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 187-194, 2001.

SINGH, B. B. Cowpea breeding at IITA: highlights of advances and impacts In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa -CPAMN, 2006. CD-ROM.

SINGH, B. B.; EHLERS, J. D.; SHARMA B.; FREIRE-FILHO, F. R. Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. M.; TAMO, M. (Eds). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p. 22-40.

SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS-SAEG: **SAEG versão 9.0**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2005. CD ROM.

SOARES, A. L. de.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M. do.; LIMA, A. S.; ANDADE, J. B. de.; MOREIRA, F. M. de S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I – caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p.795-802, 2006.

SOUZA, F. C. S. Repensando a agricultura: o enfoque da sustentabilidade como padrão alternativo à agricultura moderna. **Holos**, v. 20, outubro, 2004.

SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CHUEIRE, L. M. O.; BARCELLOS, F. G.; CAMPO R. J. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 71-82, 2008.

STAMFORD, N. P. **Efeito de estirpes de *Rhizobium* sp., do nitrogênio, fósforo e enxofre, na avaliação da fixação do N<sub>2</sub>, crescimento e absorção de nutrientes em cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1978. 151f. Tese (Doutorado em Solo e Nutrição de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1978.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, D. R.; SILVA, V. M.; SANTOS, C. E. R. S.; MONTEIRO, M. C. Fixação do N<sup>2</sup> e matéria seca do caupi em dois solos do Semi-árido brasileiro submetidos à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 14, p. 283-290, 1990.

STAMFORD, N. P; NEPTUNE, A. M. L. Especificidade hospedeira e competição entre estirpes de *Rhizobium* em inoculação cruzada com quatro cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Caderno Ômega**, v. 3, n. 1-2, p. 25-34, 1979.

TADINI, T. A.; GUEDES, R.E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Interação entre estirpes de *Bradyrhizobium* e cultivares de feijão-caupi. In: FERTBIO, 7., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: SBCS, 2008. CD ROM.

UNKOVICH, M. J.; PATE, J. An appraisal of recent field measurements of symbiotic  $N_2$  fixation by annual legumes. **Field Crops Research**, v.211, p. 211-228, 2000.

UNKOVICH, M. J.; PATE, J. S. Assessing  $N_2$  fixation in annual legumes using  $^{15}N$  natural abundance. In: UNKOVICH, M. J.; PATE, J. S.; McNEILL, A. M.; GIBBS, D. J. (Ed.). **Application of stable isotope techniques to study biological processes and functioning of ecosystems**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001, p. 103-118.

UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems**. Canberra: ACIAR, 2008. 258 p.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do  $N_2$  na cultura da soja. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds.) **Biologia dos solos de Cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. p. 297-360.

VARGAS, M. A. T.; PERES, J. R.R.; SUHET, A. R. Adubação nitrogenada, inoculação e época de calagem para a soja em um solo sob cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, p. 1127-1132, 1982.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Efeitos de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 15, p. 343-347, 1980.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C., PERES, J. R. R. **Fixação biológica de nitrogênio em solos de cerrados**. Brasília: Embrapa-CPAC/SPI, 1994. 83p.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. de C.; CARVALHO, A. M. de; LOBO-BURLE, M.; HUNGRIA, M. Inoculação de leguminosas e manejo de adubos verdes. In: SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. (Eds.) **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 97-127.

VASCONCELOS, I.; ALVES, J. F.; LIMA, I. T. Nodulação do feijão de corda *Vigna sinensis* (L.) Savi, ao longo do ciclo cultural da planta. **Ciência Agrônômica**, v. 6, n. 6, p. 11-15, 1976.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant & Soil**, v. 255, n.2, p. 571-586, aug. 2003.

VILARINHO, A. A. **BRS Novaera**: nova cultivar de feijão-caupi para a Região Norte do Brasil.2007. Disponível em: <<http://www.infobibos.com/Artigos/2007/NovaEra/index.htm>>. Acesso em: 11 mar. 2008.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970. 164p.

WADISIRISUK, P.; WEAVER, R. W. Importance of bacteroid number in nodules and effective nodule mass to dinitrogen fixation by cowpeas. **Plant and Soil**, v.87, p.223-231, 1985.

WANI, S.P.; RUPELA, O. P.; LEE, K. K. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen in grain legumes. **Plant and Soil**, v.174, p.29-49, 1995.

WEBER, C. R. Nodulating and non-nodulating soybean isolines: agronomic and chemical attributes. **Agronomy Journal**, v. 58, p. 43–46, 1966.

WETZEL, M. M. V. S.; FREIRE, M. S.; FAIAD, M. G. R.; FREIRE, A. de B. Recursos genéticos: coleção ativa e de base. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 159-190.

XAVIER, G. R. **Estudo da ocupação nodular de rizóbio em genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) agrupados pela técnica de RAPD**. 2000. 104f Dissertação (Mestrado em Agronomia- Ciência do Solo) Coordenação de Pós-graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2000.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; FREIRE FILHO, F. R. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 4, p. 353-359, 2004.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Heat tolerant strains of cowpea rhizobia isolated from the North – East region of Brazil. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, 26., 1997, Caxambu. **Resumos....** Caxambu: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 1997. p. 49.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Edaphic factors as determinatioin for the distribution of intrinsic antibiotic resistance in a cowpea rhizobia population. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 386-392, 1998.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. de A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Revista Caatinga**, v.1 p. 25-33, 2006.

XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; MORGADO, L. B.; ALCANTARA, R. M. C. M de; FORTALEZA, J. M.; FREIRE FILHO, F. R.; DANTAS, J. P.; SANTOS, C. E.; ZILLI, J. E. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbios em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp). In: REUNIÓN LATINOAMERICANA DE RIZOBIOLOGIA, 23., 2007, Córdoba. **Anais...** Córdoba, 2007a. p.209.

XAVIER, G. R.; ZILLI, J. E. ; SILVA, F. V.; SALLES, J. F.; RUMJANEK, N. G. O papel da ecologia microbiana e de qualidade do solo na sustentabilidade dos agroecossistemas. In: AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de. (Org.). **Processos ecológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agriculturas sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, p. 29-46.

XAVIER, T. F.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B.; CAMPOS, F. L. Ontogenia da nodulação em duas cultivares de feijão-caupi. **Ciência Rural**, v. 37, p. 561-564, 2007b.

YUSUF, A. A.; ABAIDOO, R. C.; IWUAFOR, E. N. O.; OLUFAJO, O. O. Genotype effects of cowpea and soybean on nodulation, N<sub>2</sub>-fixation and N balance in the northern Guinea savanna of Nigeria. **Journal of Agronomy**, v.7, n. 3, p. 258-264, 2008.

ZHANG, W.T.; YANG, J. K.; YUAN, T.Y.; ZHOU, J. C. Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, p. 201-210, 2007.

ZILLI, J. É.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 749-758, 2009a.

ZILLI, J. É.; VALICHESKI, R. R.; RUMJANEK, N. G.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; FREIRE FILHO, F. R.; NEVES, M. C. P. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 811-818, 2006.

ZILLI, J. É.; XAVIER, G. R.; MOREIRA, F. M. de S.; FREITAS, A. C. R. de; OLIVEIRA, L. A. Fixação biológica de nitrogênio. In: ZILLI, J. É.; VILARINHO, A. A.; ALVES, J. M. A. (Ed.). **A cultura do feijão-caupi na Amazonia brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009b. p. 185-221.

## 8. ANEXOS

**Anexo A.** Cultivares melhoradas de feijão-caupi lançadas no Brasil no período de 1968 a 2010\*.

Cultivar	Ano do lançamento	Instituição coordenadora	Região de adaptação
Seridó	1968	UFC	CE
IPEANV-69	1969	IPEAN	PA
Pitiúba	1970	UFC	CE
CE-315	1978	UFC	CE, PI
Quarenta-dias	1981	Embrapa Meio-Norte	PI
Pendanga	1981	Embrapa Meio-Norte	PI
Sempre-verde	1981	Embrapa Meio-Norte	PI
Manaus	1981	Embrapa Amazônia Ocidental	AM
IPA-201	1981	IPA	PE
IPA-202	1981	IPA	PE
IPA-203	1981	IPA	PE
Epace-1 (Vita 7)	1981	EPACE	CE
Emapa-822 (Vita 3)	1982	EMAPA	MA, PI
Emapa-821	1982	EMAPA	MA
Epace-6	1983	EPACE	CE
Otilia	1984	UFC	CE
Frade Preto	1984	UFC	CE
BR1-Poty	1984	Embrapa Meio-Norte	MA, PI, CE,
BR2-Bragança	1985	Embrapa Amazônia Oriental	PA
BR3-Tracuateua	1985	Embrapa Amazônia Oriental	PA
BR4-Rio Branco	1985	Embrapa Acre	AC
BR5-Cana-verde	1985	Embrapa Acre	AC
BR6-Serrano	1985	EMPARN <sup>(12)</sup>	RN
CNC-0434	1985	Embrapa Amapá	MA
BR7-Parnaíba	1986	Embrapa Meio-Norte	PI
BR8-Caldeirão	1986	Embrapa Amazônia Ocidental	AM
BR9-Longá	1987	Embrapa Meio-Norte	PI
BR10-Piauí	1987	Embrapa Meio-Norte	PI
IPA-204	1987	IPA	PE
IPA-205	1988	IPA	PE
BR12-Canindé	1988	Embrapa Meio-Norte	PI
EPACE-10	1988	EPACE	CE
Setentão	1988	UFC	CE
João Paulo II	1989	UFC	CE
IPA-206	1989	IPA	PE
BR13-Caicó	1989	EMPARN	RN
Riso-do-ano	1990	EMPARN	RN
BR14-Mulato	1990	Embrapa Meio-Norte	PI
BR15-Asa-branca	1990	EMPARN	RN
BR16-Chapéu-de-couro	1990	EMPARN	RN
EPACE 11	1991	EPACE	CE
Pampo	1994	UFC	CE
EMEPA-1	1994	EMEPA	PB

\*Adaptada de FREIRE FILHO et al. (2009d) Continua...

**Anexo A. Continuação\***

<b>Cultivar</b>	<b>Ano do lançamento</b>	<b>Instituição coordenadora</b>	<b>Região de adaptação</b>
BR17 - Gurguéia	1994	Embrapa Meio-Norte	PI
Amapá	1997	Embrapa Amapá	AP
BR18 - Pericumã	1998	EMAPA	MA
Monteiro	1998	Embrapa Meio-Norte	PI
Patativa	1999	Embrapa Agroindústria Tropical	CE
EPACE V-96	1999	Embrapa Agroindústria Tropical	CE
BRS-Mazagão	2000	Embrapa Amapá	AP
BRS-Rouxinol	2001	EBDA	BA
BRS-Paraguaçu	2002	EBDA	BA
Poços-de-caldas-MG	2003	EPAMIG	MG
BRS-Guariba	2004	Embrapa Meio-Norte	PI, MA
BRS-Marataoã	2004	Embrapa Meio-Norte	PI, PB, BA
BRS-Urubuquara	2005	Embrapa Amazônia Oriental	PA
BRS-Milênio	2005	Embrapa Amazônia Oriental	PA
BRS Potiguar	2005	EMPARN	RN
BRS-Novaera	2007	Embrapa Meio-Norte	RO, RR, PA, AP, AM, MA, RN
BRS-Pujante	2007	Embrapa Trópico Semi-Árido	PE, BA
BRS-Xiquexique	2008	Embrapa Meio-Norte	RR, AM, PA, AP, PE, AL, SE,
BRS-Cauamé	2009	Embrapa Meio-Norte	RO, RR, AP, AM, PA, PE, AL, SE, MT
BRS-Tumucumaque	2009	Embrapa Meio-Norte	RO, AM, RR, PA, AP, MA, PI, RN, PE, AL, SE, MT, MS
BRS-Pajeu	2009	Embrapa Meio-Norte	RR, MA, PI, PE, Al, SE, MT, MS
BRS-Potengi	2009	Embrapa Meio-Norte	RO, RR, AM, MA, PI, RN, PE, MT, MS
BRS-Itaim	2009	Embrapa Meio-Norte	RR, PA, TO, PI,
BRS-Juruá	2009	Embrapa Meio-Norte	RR, PA, TO, PI, SE, BA, MT
BRS-Aracê	2009	Embrapa Meio-Norte	RR, PA, TO, PI, SE, BA, MT

\*Adaptada de FREIRE FILHO et al. (2009d)



**Anexo B.** Ancestrais das cultivares brasileiras de feijão-caupi\*.

Genitor	Procedência	Contribuição genética relativa (%)	Contribuição genética acumulada (%)	Frequência relativa do ancestral no pedigree (%)
Seridó	Brasil	10,11	10,11	Seridó
Pitúba	Brasil	9,47	19,58	Pitúba
CNC 0434	Nigéria	7,08	26,65	CNC 0434
TVu-1190 (Vita 3)	Nigéria	5,15	31,80	TVu-1190 (Vita 3)
TVu-410	Nigéria	4,37	36,17	TVu-410
CE-315 (TVu-2331)	Nigéria	3,86	40,03	CE-315 (TVu-2331)
Sempre Verde	Brasil	3,68	43,70	Sempre Verde
TVu 612	Nigéria	3,35	47,06	TVu 612
BR3-Tracueteua	Brasil	3,31	50,37	BR3-Tracueteua
TVu-59	Nigéria	3,22	53,58	TVu-59
40 Dias	Brasil	2,21	55,79	2,94
TVx-289-4G (Vita-7)	Nigéria	2,21	58,00	2,94
Aparecido Moita	Brasil	2,11	60,11	10,29
IT87D-611-3	Nigéria	2,02	62,13	5,88
Vagem Roxa -PI	Brasil	1,93	64,06	10,29
Prima	Nigéria	1,84	65,90	4,41
TVu 1888	Nigéria	1,65	67,56	4,41
IT82D-60	Nigéria	1,52	69,07	7,35
40 Dias Vermelho	Brasil	1,47	70,54	1,47
Pendanga	Brasil	1,47	72,01	1,47
4R-0267-01F (Vita 11)	Nigéria	1,47	73,48	1,47
Alagoano	Brasil	1,47	74,95	2,94
Princess Ann	Estados Unidos	1,47	76,42	2,94
IT81D-1627	Nigéria	1,47	77,90	1,47
Alvinegro	Brasil	1,47	79,37	2,94
V-48	Costa Rica	1,47	80,84	1,47
Quebra Cadeira	Brasil	1,47	82,31	1,47
TVx3777-04E	Nigéria	1,47	83,78	1,47
Riso-do-ano	Brasil	1,47	85,25	1,47
Monteiro	Brasil	1,47	86,72	1,47
Vaina blanca	Peru	1,47	88,19	1,47
Macaibo	Brasil	0,83	89,02	2,94
TVu-36	Nigéria	0,74	89,75	1,47
TVx2939-01D	Nigéria	0,74	90,49	1,47
371	Provavelmente Nigéria	0,74	91,22	1,47
UCR-194	Estados Unidos	0,74	91,96	1,47
372	Provavelmente Nigéria	0,74	92,69	1,47
CNC 1735	Brasil	0,74	93,43	1,47
IT89KD-245-1	Nigéria	0,74	94,16	1,47
IT86D-716	Nigéria	0,74	94,90	1,47
375	Provavelmente Nigéria	0,69	95,59	5,88
Califórnia Blackeye-3	Estados Unidos	0,55	96,14	1,47
AU-78-1	Estados Unidos	0,55	96,69	2,94
Bettergreen	Estados Unidos	0,55	97,24	2,94
TVu 408-P2	Nigéria	0,37	97,61	1,47
Bengala	Brasil	0,37	97,98	1,47
Paulista	Brasil	0,37	98,35	1,47
CNC 1601	Brasil	0,37	98,71	1,47
TVx1850-01E	Nigéria	0,25	98,97	7,35
TVx 4659-03E	Nigéria	0,25	99,22	7,35
TVx1836-013J (Vita 10)	Nigéria	0,18	99,40	1,47

\*Adaptada de FREIRE FILHO et al. (2009d) e MONTALVÁN et al. (2006). Continua...

## Anexo B. Continuação\*

Genitor	Procedência	Contribuição genética relativa (%)	Contribuição genética acumulada (%)	Frequência relativa do ancestral no pedigree (%)
Purple hull	Estados Unidos	0,18	99,59	1,47
IT90N-277-2	Nigéria	0,18	99,77	1,47
Tvu 966	Nigéria	0,09	99,86	1,47
Otilia	Brasil	0,09	99,95	1,47
Mississipe Silver	Estados Unidos	0,05	100,00	1,47

\*Adaptada de FREIRE FILHO et al. (2009d) e MONTALVÁN et al. (2006).

## Anexo C. Resumos das análises de variâncias dos experimentos

**Experimento 1** - Interação entre estirpes de *Bradyrhizobium* e cultivares de feijão-caupi em condições assépticas.

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 30 DAE.

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	414,10	8380,10	35792,56	250,59	5580,32
Cultivar	14	3918,92	3346,51	166858,74	240,62	8521,95
Estirpe	2	593,79	14457,47	1035,79	15,61	10744,81
Cultivar x Estirpe	28	680,31	12250,92	31269,31	50,77	3473,81
Médias		66,81	217,16	680,74	19,87	110,04
CV (%)		42,58	49,32	20,48	43,31	30,60

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 52 DAE.

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	3585,81	36780,21	725045,34	480,36	3712,16
Cultivar	14	24247,14	237224,74	10375688,71	9276,78	19141,22
Estirpe	2	4576,23	44114,72	389013,39	1010,82	1282,07
Cultivar x Estirpe	28	2276,16	21479,36	576090,42	1096,08	6057,23
Médias		125,30	395,26	1913,35	54,76	150,93
CV (%)		44,48	43,64	41,87	57,27	41,28

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

## Experimento 2 - Interação simbiótica entre genótipos ancestrais de feijão-caupi e estirpes de *Bradyrhizobium* em condições assépticas

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 36 DAE – Ensaio 1

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	19836,91	71565,45	1,38	1286,64	586,57
Ancestral	9	24798,73	80388,83	5,20	6425,67	1618,80
Estirpe	2	13409,53	54666,17	4,22	8328,67	1044,24
Ancestral x Estirpe	20	10120,28	33476,50	3,33	4487,33	1053,34
Médias		117,68	202,50	0,88	34,67	40,25
CV (%)		52,36	44,15	48,40	42,38	26,13

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 56 DAE - Ensaio 1

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	9522,95	184725,21	0,03	1274,03	6197,69
Ancestral	9	195339,07	568330,83	3,90	40235,03	7023,20
Estirpe	2	51142,79	164753,43	1,49	11893,79	4157,34
Ancestral x Estirpe	20	56453,98	329592,86	1,05	17515,05	7813,09
Médias		357,59	831,19	5,14	152,64	510,53
CV (%)		41,67	49,79	42,69	46,03	43,52

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 30 DAE - Ensaio 2

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	1089,02	8112,17	670312,96	940,80	1032,10
Ancestral	5	2857,97	6572,62	349047,41	455,90	565,89
Estirpe	2	9098,57	8790,17	422274,07	536,93	53,20
Ancestral x Estirpe	10	1129,56	5580,26	161336,30	233,83	607,28
Médias		58,02	89,22	684,81	22,97	531,86
CV (%)		26,86	20,87	39,46	32,72	42,51

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

Resumo da análise de variância da coleta realizada aos 50 DAE - Ensaio 2

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	4479,24	55048,22	163946,30	3889,13	366,98
Ancestral	5	21624,43	99447,91	6899792,96	10963,10	225,49
Estirpe	2	86030,69	341548,39	19546390,74	39125,80	482,36
Ancestral x Estirpe	10	13029,22	179983,90	8818912,96	19145,60	354,75
Médias		173,74	518,00	3292,04	143,59	284,46
CV (%)		37,00	38,79	38,41	30,97	46,60

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

### Experimento 3 - Interação simbiótica entre genótipos ancestrais de feijão-caupi e a estirpe BR 3267 em condições de campo

Resumo da análise de variância dos dados de nodulação

FV	GL	QM				
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN
Bloco	2	122,95	125,89	221,80	47182,09	887,23
Ancestral	15	128,72	167,40	259,41	224563,24	688,10
Coleta	2	2492,06	2008,88	7721,48	8921213,80	28583,19
Ancestral x coleta	30	81,54	109,28	190,43	176230,47	1220,33
Médias		9,84	16,54	13,48	385,59	86,53
CV1 (%)		34,55	46,07	26,53	27,03	36,53
CV2 (%)		26,64	44,82	25,88	37,07	27,67

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação.

Resumo da análise de variância dos dados de produção

FV	GL	QM						
		PV	CV	PGV	NVP	NGV	P100S	RGS
Bloco	2	0,06	3,53	0,04	61,02	1,12	0,49	60429,12
Ancestral	15	2,85	462,68	1,70	35,88	12,06	67,08	77347,65
Médias		3,24	17,82	2,43	13,02	15,15	15,56	642,46
CV (%)		14,82	7,42	15,08	31,97	11,75	4,65	35,29

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos.

### Experimento 4 - Avaliação de genótipos de feijão-caupi em interação com estirpes de *Bradyrhizobium* em condições de campo

Resumo da análise de variância dos dados de nodulação

FV	GL	QM					
		NN	MSN	MSPA	NAPA	EN	ER
Bloco	2	46,29	2,32	228,62	683573,31	2141,73	11628,49
Fonte de N	5	175,58	1,45	94,52	73958,90	9119,21	3091,57
Ancestral	4	97,18	1,93	1111,05	1241859,54	7001,72	24822,46
Coleta	2	244,95	35,80	18588,38	2193080,76	5120,13	8412,43
Fonte de N x ancestral	20	54,78	1,04	80,30	152460,86	4710,05	2467,43
Fonte de N x coleta	40	47,57	0,68	52,97	69993,27	2659,22	787,72
Ancestral x coleta	8	64,56	2,32	283,68	247956,10	3027,39	13956,48
Fonte de N x ancestral x coleta	40	49,63	0,42	85,67	145796,23	3150,73	1753,59
Médias		12,46	35,67	28,09	1016,19	16,67	112,63
CV1 (%)		49,68	48,44	41,28	41,43	47,72	48,34
CV2 (%)		42,18	47,29	39,83	43,69	43,74	46,47

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; NN - número de nódulos; MSN - massa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; ER - eficácia relativa.

#### Resumo da análise de variância dos dados de produção

FV	GL	QM						
		PV	CV	PGV	NVP	NGV	P100S	RGS
Bloco	2	0,25	0,23	0,14	65,07	0,22	7,56	436132,98
Fonte de N	5	0,14	1,33	0,17	33,39	1,00	0,75	81521,78
Ancestral	4	10,77	450,75	6,54	328,06	20,92	203,38	2388306,49
Fonte de N x ancestral	20	0,20	1,64	0,15	17,43	1,45	0,88	95416,88
Média		4,31	23,41	3,36	14,35	16,86	19,13	1377,42
CV (%)		10,38	6,56	12,19	38,66	6,51	5,26	18,65

FV - fontes de variação; GL - grau de liberdade; QM - quadrado médio; PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos.

#### Anexo D. Coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis de nodulação e produção dos experimentos

##### Experimento 1 - Interação entre estirpes de *Bradyrhizobium* e cultivares de feijão-caupi em condições assépticas

###### Correlações dos dados de nodulação aos 30 DAE

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,87*	0,54*	0,50*	-0,70*
MSN	-	0,43*	0,35*	-0,62*
MSPA	-	-	0,92*	0,06 <sup>ns</sup>
NAPA	-	-	-	0,02*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

###### Correlações dos dados de nodulação aos 52 DAE

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,99*	0,85*	0,87*	-0,30*
MSN	-	0,85*	0,86*	-0,19*
MSPA	-	-	0,95*	0,41*
NAPA	-	-	-	0,41*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

##### Experimento 2 - Interação simbiótica entre genótipos ancestrais de feijão-caupi e estirpes de *Bradyrhizobium* em condições assépticas

###### Correlações dos dados de nodulação aos 36 DAE – Ensaio 1

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,79*	0,54*	0,54*	-0,29*
MSN	-	0,83*	0,88*	-0,19 <sup>ns</sup>
MSPA	-	-	0,98*	0,20 <sup>ns</sup>
NAPA	-	-	-	0,18 <sup>ns</sup>

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação aos 56 DAE – Ensaio 1

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,61*	0,49*	0,44*	-0,18*
MSN	-	0,92*	0,88*	0,37*
MSPA	-	-	0,95*	0,95*
NAPA	-	-	-	0,70*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação aos 30 DAE – Ensaio 2

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,43*	0,32*	0,37*	0,01*
MSN	-	0,75*	0,66*	0,16*
MSPA	-	-	0,99*	0,14*
NAPA	-	-	-	0,08*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \*significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação aos 50 DAE – Ensaio 2

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,37*	0,08*	0,09*	0,25 <sup>ns</sup>
MSN	-	0,77*	0,49*	0,08*
MSPA	-	-	0,83*	0,49*
NAPA	-	-	-	0,77*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \*significativo a 5%; ns - não significativo.

### Experimento 3 - Interação simbiótica entre genótipos ancestrais de feijão-caupi e a estirpe BR 3267 em condições de campo

Correlações dos dados de nodulação na fase de desenvolvimento vegetativo

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,71*	0,26*	0,39*	-0,68*
MSN	-	0,49*	0,52*	-0,28 <sup>ns</sup>
MSPA	-	-	0,98*	0,31 <sup>ns</sup>
NAPA	-	-	-	0,21 <sup>ns</sup>

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \*significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação na fase inicial da floração

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	0,46*	0,82*	0,62*	0,35*
MSN	-	0,38*	0,24*	-0,37*
MSPA	-	-	0,92*	0,64*
NAPA	-	-	-	0,76*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação na fase de maturação de vagens

	MSN	MSPA	NAPA	EN
NN	-0,04*	0,64*	0,68*	0,76*
MSN	-	0,11*	0,13 <sup>ns</sup>	-0,30*
MSPA	-	-	0,96*	0,96*
NAPA	-	-	-	0,82*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de produção

	CV	PGV	P100S	NVP	NGV	RGS
PV	0,75*	0,99*	0,84*	0,04*	0,12*	0,56*
CV	-	0,75*	0,67*	0,05*	0,22*	0,35*
PGV	-	-	0,87*	0,05*	0,11 <sup>ns</sup>	0,55*
P100S	-	-	-	0,05*	-0,37*	0,38*
NVP	-	-	-	-	-0,11*	0,19*
NGV	-	-	-	-	-	0,10*

PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação e produção

	PV	CV	PGV	P100S	NVP	NGV	RGS
NN	-0,25*	-0,39*	-0,26*	-0,05*	0,19*	0,44*	-0,05*
MSN	0,07*	-0,05*	0,07*	-0,09*	0,59*	0,03*	0,07*
MSPA	-0,10*	-0,19*	-0,13*	0,09 <sup>ns</sup>	0,11*	-0,39*	0,12*
NAPA	0,23*	0,28*	0,26*	0,03*	0,17*	0,33*	0,01*
EN	0,21*	0,22*	0,26*	0,04*	0,02*	0,40*	0,12*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

#### Experimento 4 - Avaliação de genótipos de feijão-caupi em interação com estirpes de *Bradyrhizobium* em condições de campo

Correlações dos dados de nodulação na fase de desenvolvimento vegetativo

	MSN	MSPA	NAPA	EN	ER
NN	-0,60*	0,50*	0,50*	0,10*	-0,20*
MSN	-	-0,09*	-0,09*	0,07*	0,50*
MSPA	-	-	0,95*	0,90*	-0,08*
NAPA	-	-	-	0,90*	-0,08*
EN	-	-	-	-	-0,09*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação na fase inicial da floração

	MSN	MSPA	NAPA	EN	ER
NN	0,40*	0,50*	0,20*	0,60*	-0,20*
MSN	-	0,30*	0,40*	0,01*	-0,01*
MSPA	-	-	0,90*	0,70*	-0,09*
NAPA	-	-	-	0,60*	-0,08*
EN	-	-	-	-	-0,04*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação na fase de maturação de vagens

	MSN	MSPA	NAPA	EN	ER
NN	0,70*	0,30*	0,38*	0,36*	-0,30*
MSN	-	0,31*	0,30*	-0,30 <sup>ns</sup>	-0,35*
MSPA	-	-	0,97*	0,36*	-0,20*
NAPA	-	-	-	0,30*	-0,20*
EN	-	-	-	-	-0,05*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de produção

	CV	PGV	P100S	NVP	NGV	RGS
PV	0,90*	0,90*	0,70*	-0,89*	0,60*	0,08*
CV	-	0,70*	0,60*	-0,90*	0,50*	-0,90*
PGV	-	-	0,90*	-0,90*	0,30*	-0,05*
P100S	-	-	-	-0,70*	-0,10*	0,03*
NVP	-	-	-	-	-0,06*	0,80*
NGV	-	-	-	-	-	-0,06*

PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos; \* significativo a 5%; ns - não significativo.

Correlações dos dados de nodulação e produção

	PV	CV	PGV	P100S	NVP	NGV	RGS
NN	-0,40*	-0,30*	-0,30*	-0,10*	0,40*	-0,07*	0,10*
MSN	-0,06*	-0,05*	-0,30*	0,10*	0,60*	-0,90*	0,60*
MSPA	0,50*	0,70*	0,20*	0,10*	-0,05*	0,30*	-0,90*
NAPA	0,50*	0,70*	0,20*	0,10*	-0,50 <sup>ns</sup>	0,30*	-0,09*
EN	-0,40*	-0,30*	-0,70*	-0,90*	0,40*	0,30*	-0,10*
ER	0,60*	0,20*	0,80*	0,60*	-0,60*	0,30*	-0,10*

NN - número de nódulos; MSN - mssa seca de nódulos; MSPA - massa seca da parte aérea; NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea; EN - eficiência de nodulação; PV - peso de vagem; CV - comprimento de vagem; PGV - peso de grãos por vagem; NVP - número de vagem por planta; NGV - número de grãos por vagem; P100S - peso de 100 sementes; RGS - rendimento de grãos secos; \* significativo a 5%; ns - não significativo.