UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO

MARIELA THIM VITORINO

Cultivares de feijão comum submetidas à inoculação de sementes com diferentes estirpes de rizóbio e doses de nitrogênio

MARINGÁ PARANÁ-BRASIL FEVEREIRO – 2015

MARIELA THIM VITORINO

Cultivares de feijão comum submetidas à inoculação de sementes com diferentes estirpes de rizóbio e doses de nitrogênio

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto de Bastos Andrade.

MARINGÁ PARANÁ-BRASIL FEVEREIRO - 2015

PÁGINA DESTINADA À FOLHA DE APROVAÇÃO. ENCONTRA-SE NA SECRETARIA DO PGM.

Aos meus avós, Ulysses (*in memorian*) e Amália, meus melhores exemplos.

Aos meus pais, Valdemir e Lucinéia, cuja dedicação, amor e trabalho, permitiu às suas filhas a oportunidade de realizar planos e sonhos.

Às minhas irmãs, Gabriela, Rafaela e Marcela, pelo estímulo e apoio e pela paciência e grande amizade.

Com amor, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua divina providência e luz em minha vida.

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM), pela oportunidade de realizar este Curso, e a todos os professores, pela importante participação em minha vida acadêmica.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da Bolsa de Estudos.

Ao meu Orientador, professor doutor Carlos Alberto de Bastos Andrade, pelos momentos a mim dedicados, pela presença constante e disponibilidade irrestrita, pela amizade, paciência e orientação.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial à professora doutora Fátima Maria de Souza Moreira e ao professor doutor Bruno Lima Soares, por preparar e disponibilizar os inoculantes e pela disponibilidade em aceitar participar da Banca de Defesa.

Ao Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), por fornecer as sementes das cultivares de feijão comum avaliadas.

Ao professor Alessandro Braccini, por ceder a área experimental e pela disponibilidade em aceitar participar da Banca de Defesa.

Ao Laboratório de Solos e ao Núcleo de Pesquisas Aplicadas à Agricultura (NUPAGRI), pela estrutura física disponibilizada para essa pesquisa.

Aos Secretários do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Francisco José da Cruz e Maria Valquíria Magro, pela ajuda e trabalho indispensáveis.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, senhores Gildo Ferreira Duarte e Antonio Rodrigues Queiroz Filho, pela colaboração nos trabalhos de campo. Ao técnico do Laboratório de Solos, Roberto Carlos D'Avila, pelos ensinamentos e auxílio na realização das amostras laboratoriais.

À amiga e doutoranda Alessandra Guedes Baleroni, pela ajuda com as análises estatísticas e pelo grande apoio.

À Camila Scaff, pela amizade, paciência apoio e ajuda nas análises.

À minha amiga, doutora Sandra Camacho Reck, por todos os ensinamentos, paciência e amizade.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

MARIELA THIM VITORINO, filha de Valdemir Aparecido Vitorino e de Aparecida Lucinéia Thim Vitorino, nasceu em vinte e três de abril de 1990, na cidade de Araras, estado de São Paulo.

Concluiu o Ensino Fundamental, em 2004, na Escola Municipal de Ensino Fundamental Campos Salles Julio Ridolfo, e o Ensino Médio, em 2007, na Escola Estadual Doutor Cesário Coimbra, na cidade de Araras, estado de São Paulo.

Ingressou no Curso de Ciências Biológicas, em 2008, na Fundação Hermínio Ometto (UNIARARAS), na cidade de Araras, estado do São Paulo, obtendo o título de Bióloga em 2011.

Em março de 2013, iniciou o Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM), na Universidade Estadual de Maringá (UEM), na cidade de Maringá, Paraná, Brasil

SUMÁRIO

VITORINO, Mariela Thim, M. Sc. Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2014. Cultivares de feijão comum submetidas à inoculação de sementes com diferentes estirpes de rizóbio e doses de nitrogênio. Orientador: Carlos Alberto de Bastos Andrade. Coorientadores: Carlos Alberto Scapim e Ronald José Barth Pinto.

O feijão comum (Phaseolus vulgaris L.) é uma cultura bastante exigente em nitrogênio (N), podendo suprir parte das suas necessidades mediante associação com bactérias do gênero Rhizobium, capazes de fixar simbioticamente o N2 atmosférico. Os estudos com estirpes de rizóbio com elevado potencial simbióticos, previamente selecionadas, e estirpes recomendadas para produção de inoculantes comerciais no Brasil tornam-se de grande importância para obtenção de aumentos na nodulação, na fixação biológica de nitrogênio e na produtividade do feijão comum, em condições tropicais. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta do feijão comum submetido à inoculação com estirpes de Rhizobium sp. e adubação nitrogenada, analisando aspectos relacionados à nodulação das plantas e produtividade de grãos em quatro genótipos. O delineamento utilizado foi parcelas sub subdivididas em esquema fatorial 4 X 4 X 3 (Cultivar X Dose X Estirpe), com quatro repetições, constituindo-se das combinações de inoculação com as estirpes UFLA 02-127, de R. leguminosarum bv. phaseoli, SEMIA 4077 (= CIAT 899=BR 322), de R. tropici e sem inoculação e da adubação nitrogenada, realizada com quatro doses de N (0, 20, 40 e 80 kg ha⁻¹). A inoculação das sementes foi imediatamente antes da semeadura com inoculante turfoso e a adubação nitrogenada foi realizada utilizando-se como fonte de N a ureia, sendo as doses divididas na semeadura e em cobertura (V4). As características avaliadas consistiram em: número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, teor e acúmulo de nitrogênio na parte aérea, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 grãos, produtividade, teor de nitrogênio do grão e acúmulo de nitrogênio no grão. Os genótipos de feijão comum submetidos à inoculação com estirpes de Rhizobium sp. e adubação nitrogenada apresentaram respostas distintas, evidenciando que as cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais, apresentam maior potencial à nodulação, quando comparadas às cultivares IPR

Andorinha e IPR Tangará. Constatou-se, ainda, a adubação nitrogenada, no aumento das doses de N, até a dose 60kg/há⁻¹, fato que influenciou de forma crescente a produtividade de grãos nas cultivares inoculadas com a estirpe CIAT 899.

Palavras-chave: Phaseolus vulgaris, Rhizobium sp., fixação biológica de nitrogênio.

ABSTRACT

THIM, Mariela Thim, M.Sc. Universidade Estadual de Maringá, July, 2014. **Common bean cultivars inoculated seeds with different strains of rhizobia and nitrogen doses.** Adviser: Carlos Alberto de Bastos Andrade. Committee Members: Carlos Alberto Scapim e Ronald José Barth Pinto.

Studies with rhizobia strains with high symbiotic potential, previously selected and recommended strains for production of commercial inoculants in Brazil become of great importance to obtaining increases in nodulation, biological fixation of nitrogen and yield of common bean in tropical conditions. Thus, the present study aimed to evaluate the response of common beans subjected to inoculation with strains of Rhizobium sp. and nitrogen fertilization, analyzing aspects related to nodulation of plants and grain yield in three genotypes of crops in the rainy season 2012/2013, 2013/2014 and the dry season 2013. The design was split plot in sub factorial 4 X 4 X 3 (Growing X Strain X Dose), with four replications, consisting of combinations of inoculation with UFLA 02-127 of R. leguminosarum bv. phaseoli, SEMIA 4077 (CIAT 899 = BR 322) of R. tropici and without inoculation and nitrogen fertilization performed with three N rates (0, 20, 60 and 80 kg ha⁻¹). Inoculation of seeds was immediately before sowing with peat inoculant and nitrogen fertilization was performed using as source of N as urea, being divided doses at sowing and coverage (V4). The characteristics evaluated were: number of nodules, nodule dry weight, shoot dry mass, content and accumulation of nitrogen in shoots, number of pods per plant, number of grains per pod, weight, 100 grains, yield, content of nitrogen and grain nitrogen accumulation in the grain. The common bean genotypes submitted to inoculation with Rhizobium sp. and nitrogen fertilization had different responses, showing that the IPR 139 and IPR Campos Gerais cultivars have greater potential to nodulation compared cultivars IPR Tangará and IPR Andorinha. It has been found yet, nitrogen fertilization, increasing N rates up to a dose 60kg / ha⁻¹, increasingly influenced grain yield in cultivars inoculated with strain CIAT 899.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium* sp., biological fixation of nitrogen.

1.INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos nutrientes que mais limita a produção do feijoeiro, sendo esse nutriente o mais extraído e exportado pelo vegetal. As fontes desse elemento são: o solo, por meio da decomposição da matéria orgânica; os fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de N₂ atmosférico (FBN) (Hungria e Vargas, 2000; Glisseman, 2001). A aplicação de adubos nitrogenados, além do elevado custo econômico e, possivelmente, da baixa freqüência de resposta, ainda pode provocar impactos ambientais, pois aproximadamente 50% das quantidades aplicadas de N são perdidas pelo processo de lixiviação e escorrimento superficial, acarretando a poluição do lençol freático e, consequentemente, a contaminação dos aqüíferos subterrâneos, rios e lagos (Ferreira et al., 2004).

O aproveitamento dos benefícios da FBN é de fundamental importância, mas, dentre as leguminosas, o feijoeiro-comum é aquela em que a FBN se apresenta com menor eficiência, devido a várias características intrínsecas da planta, como a baixa capacidade de FBN de algumas cultivares, a alta suscetibilidade a estresses ambientais, ao ataque de pragas e doenças, e às características intrínsecas das estirpes do rizóbio, como a baixa capacidade competitiva e a eficiência no processo de FBN (Moreira, Siqueira, 2006).

Apesar da inoculação com estirpes de rizóbio constituir uma tecnologia de baixo custo para fornecimento de N aos vegetais, essa técnica na cultura do feijoeiro ainda não possui total credibilidade dos agricultores e técnicos, devido à existência de inúmeros fatores limitantes da FBN (Silva et al., 2006).

A prática de inoculação das sementes não é freqüente em nenhuma região produtora e as recomendações oficiais de adubação, geralmente, ignoram a possibilidade de contribuição da FBN no atendimento à grande demanda de nitrogênio por esta leguminosa. Por esse fato, o mercado de inoculantes para o feijoeiro-comum no Brasil é ainda incipiente, representando apenas 4% do mercado nacional, contra 95% dos inoculantes destinados à cultura da soja (Moreira; Siqueira, 2006). Entretanto, um número cada vez maior de pesquisas evidencia a possibilidade da cultura realmente se beneficiar da FBN em condições de campo, desde que estabelecidas boas práticas de inoculação e adaptação no manejo dos fatores relacionados.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta de quatro cultivares de feijão comum, tipo carioca, submetido à inoculação com estirpes de *Rhizobium* sp. e adubação nitrogenada, analisando aspectos relacionados à nodulação das plantas e à produtividade de grãos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

A cultura do feijoeiro é tida como uma das mais importantes na agricultura brasileira, uma vez que, juntamente com o arroz, registra importância não só econômica, mas também social e cultural, estando este grão presente na mesa da maioria dos brasileiros, independentemente de sua classe social (Vieria et al., 2006). Pertencente à família Fabaceae, o feijoeiro comum é uma planta herbácea, da subfamília Faboideae, gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus vulgaris* L. (Santos; Galvilanes, 2006). Entre as cinco mais cultivadas do gênero, trata-se da espécie mais importante, por ser a mais antiga e a mais cultivada nos cinco continentes (Cepef, 2001).

Com centros de domesticação independentes, o feijão comum (*P. vulgaris* L.) é uma planta anual diplóide (2n=2x=22), originada das Américas, com centros de domesticação independentes (Harlan, 1975).

A maior parte da produção de feijão é produzida pela Região Centro-Sul, com quase 87% da produção total, destacando-se Paraná, Minas Gerais, Goiás, Santa Catarina e São Paulo, mesmo ocupando apenas 56,5% das áreas cultivadas com a cultura. No Paraná, o cultivo na safra de 2015 (três safras) deverá chegar a 422,4 mil hectares e produção de 771,3 mil t, resultando numa média de 1.826 kg ha⁻¹ (Conab, 2015).

O feijão comum é uma cultura antiga originária da América Central e da América do Sul. A partir destas regiões, surgiu uma grande variedade de grãos de diferentes cores, formas e tamanhos (Gepts; Debouck, 1991), sendo tais características visuais a base para a classificação das atuais classes comerciais de feijão. No mercado brasileiro, as principais classes cultivadas incluem grãos dos tipos carioca, preto, roxo, mulatinho, rosinha e vermelho. (Baldoni; Teixeira; Santos, 2002). Feijões do grupo carioca são os mais cultivados no Brasil, embora exista preferência regional por determinado tipo de grão, representando 70% do consumo nacional (Del Peloso e Melo, 2005).

Diminuindo oscilações de preço, a introdução do feijão comum do tipo de grão carioca na agricultura do país fez aumentar o rendimento por hectare e a

consolidação das três safras contribuíram para a regularização da oferta do produto ao longo do ano. (Wander, 2007).

A espécie *P. vulgaris* L. é uma leguminosa de grande valor nutricional e se destaca como excelente fonte de proteínas, vitaminas, minerais (Ca, Cu, Mg, Mn e Zn) (Miklas et al., 2006), carboidratos e ferro (Gonçalves-Vidigal et al., 2007).

No Brasil, o cultivo do feijoeiro está difundido em praticamente todo o território nacional, mas grande parte da produção está concentrada em apenas alguns estados: Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Ceará, Pernambuco e Pará (Conab, 2015).

2.2. Nitrogênio

As plantas, de maneira geral, necessitam de vários nutrientes para um bom desenvolvimento e para que consigam alcançar grandes produtividades. Dentre todos os elementos, o nitrogênio é o mais exigido pelas plantas e, em especial, pelo feijoeiro (Embrapa, 2003) e isso se deve principalmente pelo seu sistema radicular pequeno, pelo grande acúmulo de nitrogênio nos grãos e na parte aérea e, também, pelo curto ciclo de vida. Por ser exigido em grandes quantidades e por participar dos processos relacionados à fotossíntese, na região tropical, o nitrogênio é um dos elementos que mais limitam o crescimento das plantas. (Perin, et al., 2004; Moreira e Siqueira, 2006).

A utilização do nitrogênio atmosférico pelas plantas é um processo que depende da transformação e da redução do N2 para a forma amoniacal NH3 e NH4, através de interações com microrganismos do solo (Halbleib e Ludden, 2000). Esta transformação é indispensável, uma vez que, se permanecer na forma de N2, o nitrogênio é indisponível devido à forte ligação existente entre as duas moléculas de nitrogênio (Araujo, 2008). O nitrogênio assume posição de destaque entre os nutrientes necessitados para o desenvolvimento e produção normal das culturas por suas funções relevantes nos processos fisiológicos das plantas. Embora o nitrogênio seja um dos elementos essenciais existentes em maior abundância na natureza, é também o mais crítico em relação ao atendimento das necessidades das plantas (Vidor et al, 1983; Jorge, 1988; Hungria, 1994). Esse elemento é um nutriente exigido em grande quantidade para o crescimento das plantas sendo suas fontes

fornecedoras decorrentes basicamente da decomposição da matéria orgânica, dos fertilizantes nitrogenados.

O N no solo possui comportamento dinâmico, estando sujeito ao grande número de processos que resultam em transformações de formas orgânicas em inorgânicas e vice-versa, que podem resultar em ganhos ou perdas para o sistema como um todo (Raij, 1991). As perdas para o solo podem ocorrer por meio dos seguintes processos: remoção pelas colheitas, lixiviação, erosão e pela volatilização da amônia e desnitrificação (forma gasosa) (Mello et al., 1989). O retorno, que se caracteriza como ganho, ocorre basicamente de três formas: pela adubação orgânica, adubação mineral e fixação do N atmosférico, (Jorge, 1988).

No Paraná, em se tratando de fornecimento adicional de N, recomenda-se a aplicação de 15 a 20 kg ha⁻¹ de N, no sulco de semeadura, e de 20 a 60 kg ha⁻¹, em cobertura, 15 a 25 dias após a emergência das plantas (Comissão Técnica Sul-Brasileira de Feijão, 2012). Com a aplicação total de apenas 50 kg ha⁻¹ de N (plantio + cobertura), por exemplo, espera-se uma produtividade de 1.800 kg ha⁻¹ de grãos (Chagas et al., 1999), para a qual é estimada absorção de N superior a 100 Kg ha⁻¹ (Vieira, 2006). No entanto, a maior fonte de N na natureza, o N atmosférico, não é assimilável por grande parte dos seres vivos (Chubatsu et al., 2012). O processo biológico responsável pela redução do nitrogênio molecular (N₂) em amônia (NH₃) é denominada fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Franche et al., 2009).

2.3. Fixação biológica de nitrogênio

Aproximadamente 79% da atmosfera terrestre é constituída de nitrogênio (N) na forma molecular diatômica (N2) utilizável apenas por determinadas espécies de microrganismos procarióticos que possuem capacidade de reduzi-lo à forma de amônia (NH3), por meio do processo conhecido como fixação biológica do nitrogênio (FBN). Assim, a atmosfera é um imenso reservatório natural de N, esta forma gasosa, extremamente estável e não diretamente utilizável pelos seres vivos como fonte de proteína, exceto por algumas espécies microbianas que possuem a enzima nitrogenase capaz de catalisar a reação de fixação do N atmosférico. Apesar da enorme quantidade de N no planeta, o nitrogênio representa um fator limitante para as plantas, que necessitam dele em grandes quantidades e não são capazes de

fixá-lo diretamente do ar atmosférico (Siqueira e Franco, 1988; Siqueira, 1993; Hungria et al., 1994; Hungria et al., 1997).

A FBN, principal via de incorporação do nitrogênio à biosfera (Hungria et al., 2001), ocorre com a associação de bactérias do gênero *Rhizobium* com plantas da família *Fabaceae* (leguminosas) (Mercante et al, 2002; Moreira E Siqueira, 2006). Para que ocorra esse processo, é necessário que ocorra um reconhecimento entre planta e hospedeiro, ou seja, há uma troca de sinais moleculares que ativam genes dos dois parceiros e liberam substâncias com propriedades quimiotáticas pelas raízes hospedeiras, aproximando e estimulando a multiplicação dessas bactérias na rizosfera. Com isso, induzem à transcrição dos genes dessas bactérias essenciais à nodulação, nod, nol e noe (Hungria et al., 1997). Após isso, ocorre a formação de estruturas hipertróficas nas raízes, denominadas nódulos (Moreira e Siqueira, 2006).

O nitrogênio atmosférico também pode ser incorporado, além da FBN, ao solo e aos sistemas vivos por meio da fixação química, por processo natural (eletroquímico) ou industrial (fertilizantes nitrogenados). O íon amónio, sendo um cátion, permanece no solo em forma trocável, adsorvido pelas cargas negativas do solo. Já o nitrato, por ter carga negativa, é repelido pela superfície das partículas do solo, permanecendo na solução e sendo, assim, muito móvel no solo e suscetível à lixiviação (Raij, 1991).

2.4. Fatores que afetam a fixação biológica de nitrogênio

Na maioria dos sistemas e biomas, existem espécies de leguminosas fixadoras com potencial de FBN suficiente para atender a sua demanda de N para altas produções, desde que existam populações de rizóbios compatíveis e sejam eliminados os fatores limitantes à nodulação e à simbiose (Sampaio, 1996).

Com o estudo de isolados de bactérias fixadoras de N2 e o avanço nas técnicas de biologia molecular, em um curto período de tempo, foi constatado que as bactérias que nodulavam o feijoeiro apresentavam, claramente, características fisiológicas e genéticas distintas (Hungria et al., 1997).

Estirpes da espécie *Rizobium* são capazes de nodular o feijoeiro e diversas outras leguminosas demonstram boa adaptação a solos ácidos e tolerância a temperaturas elevadas, apresentando maior estabilidade nas suas características

culturais e na capacidade de nodulação, após prolongados períodos de estocagem. (Straloitto et al., 2002).

Segundo Mercante e Franco (2000), a associação simbiótica entre estirpes de rizóbio e espécies de leguminosas, como o feijoeiro, resulta de um processo complexo, que envolve a expressão de genes simbióticos de ambos os parceiros, para então formar estruturas altamente especializadas, os nódulos radiculares. Nos estádios iniciais de deformação dos nódulos radiculares, a espécie hospedeira libera sinais na sua rizosfera, como compostos fenólicos (exsudatos), e outras substâncias liberadas pelas sementes e/ou raízes das plantas, que são percebidos pela bactéria, desencadeando a expressão coordenada de uma série de genes da nodulação (Martinez et al., 1990; Mercante et al., 2002). No interior dos nódulos, localiza-se o sítio de atividade da nitrogenase, que utiliza os produtos da fotossíntese da planta hospedeira como fonte de energia. Sua coloração interna rósea indica que o processo de fixação biológica está ocorrendo plenamente, devendo-se tal coloração à presença de leghemoglobina, responsável pelo transporte do oxigênio necessário para a atividade respiratória do rizóbio (Straliotto et al., 2002).

Existem diversos fatores bióticos e abióticos que podem limitar a simbiose entre estirpes de rizóbio e o feijoeiro. Entre os fatores bióticos, estão inclusos: o tipo de inóculo e a via de inoculação (Brockwell et al., 1988), a seleção decultivares apropriados que influencia decisivamente sobre as entradas de nitrogênio nos sistemas agrícolas (Wani et al., 1995), o controle de patógenos e enfermidades que afetam o vigor da planta e o seu potencial de crescimento (Johntone e Barbetti, 1987), competitividade, sobrevivência saprofítica, presença de antagonistas, entre outros (Singh et al., 1995).

O solo com temperatura elevada tem, frequentemente, representado 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 e Vargas, 2000). Desta forma, os solos tropicais atingem temperaturas médias superiores a 40 °C nas camadas mais superficiais, podendo chegar a 60 °C (Dennet, 1984). Considera-se que, para o feijoeiro nodular, os limites de tolerância térmica se situam entre 28 °C e 33 °C (Hungria e Franco, 1993). Quando se tem uma maior população nativa de rizóbio no solo, mais difícil é a introdução com sucesso da estirpe inoculante (Melo, 2009). Em condições de clima tropical, os principais fatores

abióticos que afetam a FBN são: acidez do solo, toxidez de alumínio, salinidade e baixa fertilidade do solo, disponibilidade de N mineral, deficiência de nutrientes, altas temperaturas no solo, luminosidade e baixa precipitação pluviométrica (Hungria e Vargas, 2000), presença de metais pesados (Moreira e Siqueira, 2006), tipo de solo, textura e composição (Benizri et al., 2001).

As estirpes de rizóbios, para poder expressar sua capacidade de fixação denitrogênio nas plantas, dependem tanto de fatores intrínsecos do processo desimbiose bactéria-leguminosa quanto de fatores ambientais que afetam a sobrevivência da planta e da bactéria. Entre os fatores mais relevantes, destacam-se a efetividade e a competitividade das estirpes presentes no inoculo ou no solo, a riqueza do inóculo em número de células, as técnicas de inoculação e os fatores ambientais (Vargas e Hungria, 1997; Straliotto e Rumjanek, 1999).

2.5. Estrutura genética do rizóbio

As estirpes de *Rhizobium*, normalmente, apresentam de um a seis plasmídeos, que podem representar até 25% do genoma total da bactéria (Brom et al., 2002).

O genoma dos rizóbios apresenta um cromossomo e pode conter um número variável de plasmídeos (Young et al., 2006; Rogeli et al., 2011; Wielbo, 2012), entre 1 a 10 (Gonzáles et al., 2010). Os genes responsáveis pela nodulação (nod) e fixação simbiótica de nitrogênio (nif e fix) estão localizados dentro do plasmídio simbiótico, denominado pSym (Velázquez et al., 2005; González et al., 2006; Schmeisser et al., 2009; López-Guerrero et al., 2012). Várias técnicas, como mutagênese, mapeamento de deleções, vetores de clonagem entre outras, têm auxiliado na identificação e caracterização de genes associados à FBN. Os genes nod, nol, noe, gln, fix, fdx,res, vnf, anf e nif são alguns genes encontrados em fixadores de nitrogênio (Sur et al., 2010).

Em bactérias, o operon DNA ribossomal é composto por três genes conservados funcional e evolutivamente: o gene da subunidade menor (rrs) 16SrRNA, seguido por um espaço; o gene da subunidade maior 23S rRNA, com um segundo espaço; e o gene 5S rRNA. Esses segmentos entre os genes são as regiões espaçadoras (Espaço Intergênico Transcrito - ITS), onde podem estar presentes também os genes tRNAs. Algumas regiões dentro desses espaços são

mais variáveis do que os próprios genes 16S ou 23S rRNA, por estar, provavelmente, sob menor pressão de seleção do que os genes ribossomais (Young et al., 2004).

A taxonomia e a diversidade genética dos rizóbios têm sido favorecidas pela análise da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a qual permite a amplificação de seqüências definidas da molécula do DNA, possibilitando o seqüenciamento e a comparação das seqüências de nucleotídeos do DNA de regiões dos genes. Essas regiões exibem variabilidade suficiente para detectar, de maneira precisa, as diferenças entre gêneros e espécies, como, por exemplo, a região dos genes ribossomais (16S e 23S rRNA), e do espaço intergênico (16S-23S rRNA) (Laguerre et al., 1996; Chueire et al., 2003; Grange e Hungria, 2004; Young et al., 2004).

2.6. Estirpes de Rhizobium

Inicialmente, a simbiose com o feijão comum era considerada bastante restrita, sendo relatado que ocorreria apenas com um grupo de bactérias classificadas, em 1932, como *Rhizobium phaseoli* (Fred et al., 1932) e reclassificadas como *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* em 1984 (Jordan, 1984). Contudo, o avanço nas metodologias de biologia molecular e a coleta de rizóbios em vários locais do mundo indicaram que essa leguminosa pode ser bastante promíscua em suas associações simbióticas (Hungria et al., 2003; Raposeiras et al., 2006; Chagas et al., 2010), resultando na descrição de quatro novas espécies: *R. tropici* (Martínez-Romero et al., 1991), *R. etli* bv. *phaseoli* (Segovia et al., 1993), *R. gallicum* (bv. *gallicum* e bv. *phaseoli*), *R. giardinii* (bv. *giardinii*e bv. *phaseoli*) (Amarger et al., 1997) e *R. leucaenae* (Ribeiro et al., 2011).

As plantas da família *Leguminoseae*, composta por aproximadamente 750 gêneros destes 250 cultiváveis (Freire, 1992) possuem uma interação simbiôntica com bactérias da ordem *Rhizobiales*, que se caracterizam pela formação de estruturas hipertróficas, nas raízes e, excepcionalmente, no caule, denominadas nódulos. A capacidade de fixação biológica de nitrogênio destes microrganismos ocorre devido ao complexo enzimático nitrogenase, que converte o N2 em amônia e assim disponibiliza nitrogênio para as plantas (Moreira e Siqueira, 2006). Estes microrganismos são bactérias gram negativas, aeróbicas, não esporulantes, pertencentes ao filo alpha-Proteobacteria, genericamente identificados como rizóbio

(Zakhia e Laujudie, 2001). A classificação destes 25 microrganismos, nos últimos vinte anos, esteve em constante alteração, sendo descobertos novos gêneros, alterando a taxonomia (Wang et al., 2006).

No estudo taxonômico inicial de rizóbio, todas as bactérias formadoras de nódulos em leguminosas eram classificadas no gênero Rhizobium (Frank, 1889 Wang et al., 2006), apresentando seis espécies: R. leguminosarum, R.meliloti, R. trifolii, R. phaseoli, R. lupinie R. japonicum. Nesta classificação, o círculo de hospedeiros era o fator mais importante na definição destas espécies, embora tenham sido descritas também características morfológicas e fisiológicas (Fred et al., 1932). Com o prosseguimento das pesquisas, o uso da especificidade do hospedeiro como principal critério de classificação de rizóbio foi abandonado por apresentar um grande número de exceções dentro destes grupos (Wilson, 1944). Em seu trabalho, Jordan (1982) modificou a taxonomia de rizóbio, dividindo-os em dois gêneros: Bradyrhizobium e Rhizobium. O primeiro gênero correspondia às cepas de crescimento lento, de reação básica em meio de cultura LMA (Levedura Manitol Ágar) (Vincent, 1970), com diâmetro menor ou igual a 1 mm e crescimento em 5 a 7 dias, designando somente uma espécie, Bradyrhizobium japonicum, que incluiu também a espécie R. lupini por apresentar características semelhantes. No gênero Rhizobium, alocaram-se três espécies: R. leguminosarum, R. meliloti e R. loti. Na primeira espécie, foram considerados três biovares: R. leguminosarum bv. viciae, bv. trifolli e bv. phaseoli. Os três biovares constituíram o mesmo grupo na taxonomia numérica e na hibridização DNA-DNA, mas corresponderam a diferentes grupos de nodulação cruzada (Wang et al., 2006). Em estudos posteriores, outro grupo de bactérias de crescimento rápido foi coletado em solos da China e identificado, tanto a partir do solo como de nódulos de soja. Suas características fisiológicas e bioquímicas indicavam uma posição taxonômica intermediária entre Rhizobium e Bradyrhizobium (Keyser et al., 1982, Xu e Ge, 1984). Desta maneira, a proposta foi a criação de uma nova espécie, Rhizobium fredii, baseada principalmente em experimentos de hibridização de DNA (Scholla e Elkan, 1984).

A eficiência da FBN deve-se, em grande parte, ao microssimbionte. Durante muito tempo, em nosso país, o inoculante brasileiro utilizado para a cultura do feijão comum foi obtido a partir de bactérias nodulíferas de leguminosa (BNL) das espécies *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* e *Rhizobium etli*. Algumas destas bactérias eram provenientes do exterior e foram avaliadas por instituições brasileiras de

pesquisa (Straliotto, 2009). Atualmente, sabe-se que as estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e *R. etli* estão sujeitas a elevado grau de instabilidade genética (GOMES et al., 2012), podendo perder sua eficiência simbiótica com certa facilidade.

Em Lavras, Ferreira et al. (2009) avaliaram as estirpes BR 322 (SEMIA 4077) (*R. tropici*), UFLA 02-100 (*R. etli*), UFLA 02-86(*R. etli* bv. *mimosae*), UFLA 02-127 (*R. leguminosarum* bv. *phaseoli*) e UFLA 02-68 (*R. etli bv. Mimosae*), inoculadas em sementes da cultivar Talismã, em condições de campo, verificando que a estirpe UFLA 02-68 superou as demais, inclusive a SEMIA 4077, e promoveu rendimento de grãos semelhante ao da testemunha com 80 kg ha⁻¹ de N.

2.7. Cultivares X doses de nitrogênio x estirpes

Na literatura, alguns autores mostram que diferentes genótipos, de ciclo mais longo e com crescimento indeterminado, possuem uma melhor fixação de N, quando suas sementes são inoculadas e as condições ambientais são favoráveis a nodulação (Duque et al., 1985).

Araújo, Munhoz e Hungria (1996) concluíram em um estudo com sete cultivares que existe diferença de resposta à inoculação com diferentes estirpes de *Rhizobium*. Lemos et al. (2003) constataram diferenças significativas na produtividade do feijoeiro quando utilizaram a inoculação com estirpes.

Alguns autores (Lemos et al., 2003; Romanini Junior et al., 2007) mostram que existe uma alta possibilidade na troca de adubação nitrogenada pela FBN. O N aplicado ao solo, seja ele em baixa ou alta quantidade, interferem tanto negativamente quanto positivamente nos nódulos, afetando, então, a FBN (Rosolem, 1987).

Uma alta quantidade de N no solo afeta, em princípio, o número e a massa de nódulos, mas alguns autores, como Ruschel e Saito (1977), afirmam que não inibem o desenvolvimento do nódulo e a FBN, mas, segundo Andrade et al. (1998); Ferreira, Andrade e Araújo, 2004; Cassini e Franco (2006), aplicações elevadas de N, principalmente na semeadura, afetam negativamente a nodulação e a FBN. Arf et al. (1991) avaliaram doses e épocas de aplicação de N em relação à testemunha e chegaram à conclusão de que o número de vagens por planta, de sementes por

vagem, de sementes por planta e a produtividade não apresentaram efeitos significativos.

Moraes et al. (2010), que estudaram dez linhagens de feijoeiro consideradas tolerantes ao déficit hídrico e sete estirpes isoladas dos solos de municípios do estado do Espírito Santo, chegaram à conclusão de que, quando as estirpes de alta eficiência simbiótica são inoculadas, é possível substituir a adubação nitrogenada por cobertura, sem riscos para a produtividade.

Valadão et al. (2009) e Silva et al. (2009) concluíram que a adubação nitrogenada afetou de forma negativa o crescimento dos nódulos, embora o rendimento de grãos que se teve pela inoculação de sementes ter sido compatível com o resultante da adubação com N, enquanto Arf et al. (1991), em um estudo com diferentes doses e aplicações de N, com ou sem inoculação de sementes com *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, verificaram efeito da inoculação sobre o rendimento do feijoeiro e sobre a qualidade de sementes. Romanini Júnior et al. (2007) afirmaram, após estudo de dois anos, que a inoculação com estirpes de *Rhizobium* proporcionou um rendimento de 17% maior que as sementes não inoculadas.

A inoculação na cultura do feijão com *Rhizobium ssp.* vem crescendo em meio aos produtores, uma vez que resultados experimentais evidenciam que o potencial de fixação de N do feijoeiro em campo pode chegar até 110 kg há⁻¹ por cultivo. A maioria das cultivares utilizadas no Brasil apresenta boa nodulação e ciclo de 80 a 90 dias e a fixação de N pode ficar em torno de 30 kg há⁻¹ por cultivo, tendo em vista os padrões médios brasileiros de adubação para cultura do feijão (Santos, 2009).

Pelegrin et al. (2009), avaliando a resposta da cultura do feijão, a adubação nitrogenada e a inoculação com rizóbio, constataram que, a adubação com 20 kg há¹ de N, acrescida de inoculante com a estirpe de *R. tropici* (CIAT 899), possibilitou a obtenção de produtividade de grãos e acréscimo equivalente à aplicação de até 160 kg ha-1 de N, sendo superior ao tratamento com a adubação de 20 kg há⁻¹ de N, sem o uso do inoculante, evidenciando a sua importância para obtenção de maior rentabilidade na cultura do feijão.

Em alguns trabalhos, como os de Siqueira e Franco (1988), Bassan et al. (2001), Binotti (2009) e Kaneko et al. (2010), não foi verificado incrementos significativos de produtividade de feijão com a inoculação de estirpes de *Rhizobium*. Contudo, resultados intermediários foram obtidos por Döbereiner e Duque (1980),

avaliando a produtividade do feijoeiro em experimento com FBN, com resultados de até 1.600 kg ha -1 na ausência de adubação nitrogenada. Já Dowling e Broughton (1986) relataram que, para obtenção de altas produtividades de feijão, é necessária a aplicação de fertilizantes nitrogenados, uma vez que os rizóbios nativos apresentam, em geral, baixa eficiência simbiótica. No entanto, a prática de inoculação do feijoeiro necessita de informações mais precisas sobre o assunto para que a mesma possa ser difundida e utilizada rotineiramente (Ferreira et al., 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e preparo da área

A parte de campo da pesquisa foi desenvolvida na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM), no período de outubro de 2014 a dezembro de 2014, em solo classificado como Latossolo Vermelho, textura argila e arenosa (total de área: 46%, silte: 8% e argila: 46%), conforme análise granulométrica de solo realizado pelo Laboratório Rural de Maringá/PR. A FEI está localizada em Iguatemi, distrito de Maringá – PR, com coordenadas geográficas 23º 25' Sul, 51º 57' Oeste e altitude de 550 metros. As demais atividades foram realizadas no Laboratório de Solos - Departamento de Agronomia da UEM e no Núcleo de Pesquisa em Agricultura - Nupagri/UEM.

Os dados climáticos de temperatura, precipitação pluvial e umidade relativa do ar, registrados durante o período de outubro a dezembro/2014, encontram-se na Figura 1.

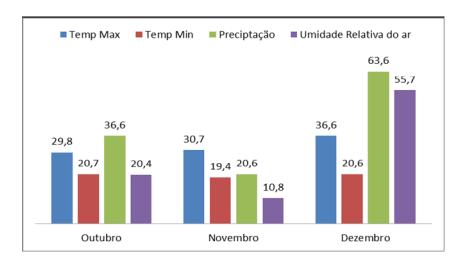


Figura 1 - Temperaturas máxima e mínima (°C), precipitação pluvial (mm) e umidade relativa do ar (%) ocorridas durante o período de condução do experimento (outubro a dezembro de 2011).

Fonte: Estação Meteorológica do Laboratório de Análises de Sementes - FEI/UEM.

A calagem não foi realizada e a adubação fosfatada e potássica foram calculadas em função do resultado da análise química do solo (Quadro 1), utilizando-se 77 kg de P_2O_5 ha⁻¹ e 90 kg de K_2O ha⁻¹, tendo como fonte o

Superfosfato Simples e o Cloreto de Potássio, ambos aplicados por ocasião da semeadura. A adubação nitrogenada foi realizada de acordo com os tratamentos.

Quadro 1 - Análise química de amostras de material de solo. na profundidade de 0 a 20 cm

	рН	рН		P H ⁺	+Al ³	Al ³⁺	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	SB	CTC	V (%)
Local	(H ₂ O)	(CaC	l ₂) (mg	•			(CI	mol _c dm	า ⁻³)			
FEI	5,8	5,1	4,4	3,06	0,0	0,3	3,4	44 1,2	27 .	5,07	8,13	62,35

Fonte: Laboratório Rural de Maringá – PR.

As cultivares de feijão carioca utilizadas foram: IPR Tangará, IPR Campos Gerais e IPR Andorinhae IPR 139 (Quadro 2). Essas cultivares são recomendadas para o cultivo no estado do Paraná e as sementes foram fornecidas pelo Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR).

Quadro 2 – Algumas características das cultivares IPR Tangará, IPR Campos Gerais, IPR Andorinha e IPR 139, utilizadas no trabalho

	CULTIVARES						
CARACTERISTICAS	IPR TANGARÁ	IPRCAMPOS GERAIS	IPR ANDORINHA	IPR 139			
Porte	Ereto	Ereto	Semi-Ereto	Ereto			
Hábito de crescimento	Indeterminado – tipo <u>∥</u>	Indeterminado – tipo	Indeterminado – tipo <u>∥</u>	Indeterminado – tipo <u>I</u>			
Ciclo médio	87 dias	88 dias	75 dias	89 dias			
Massa de 100 grãos	29 g	22,7 g	23g	25,3g			

Fonte: Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR).

3.2. Ensaio experimental

O delineamento utilizado foi parcelas sub subdivididas em esquema fatorial 4 X 4 X 3 (Cultivar X Dose X Estirpe), com quatro repetições. O primeiro fator (cultivarparcela) foi constituído por 4 cultivares (IPR Tangará, IPR Campos Gerais, IPR Andorinha e IPR 139). O segundo fator (dose N-subparcela) foi composto por quatro doses de N: 0, 20, 60 e 80 kg ha⁻¹ divididas na semeadura e na cobertura, efetuada no início do estádio fenológico V4 e caracterizado pela presença da terceira folha

trifoliolada completamente aberta em 50% das plantas (Fernández et al., 1985). A fonte de N empregada foi a uréia. O terceiro fator constituiu na inoculação com as estirpes (subsubparcela): UFLA 02-127 de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, CIAT 899 e sem inoculação. Os inoculantes foram produzidos pelo Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras/MG (UFLA) e aplicados nas sementes via veículo turfoso com concentração mínima de rizóbio na ordem de 109 células g-1 de inoculante. A inoculação foi realizada na proporção de 500g deste inoculante para cada 50 kg de sementes (Moreira e Siqueira, 2006) umedecidas em água potável, utilizando como ingrediente adesivo o açúcar, na concentração de 10% para 1 L de água. A testemunha sem nitrogênio e sem inoculante também foi umedecida nesta solução. A inoculação foi feita no momento da semeadura e as sementes não receberam nenhum produto químico.

Cada subparcela se constituiu de seis linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas entre si de 0,45 metros. Foram semeadas doze sementes m.l ⁻¹ de sulco. As linhas 1 e 6 foram consideradas bordaduras; as linhas 2 e 3 foram utilizadas para a coleta das amostras no período de florescimento, enquanto as linhas 4 e 5 foram empregadas na colheita, excluindo 0,5 m de suas extremidades para calcular o rendimento médio dos grãos e, ainda, na coleta de 10 plantas para avaliação dos componentes primários do rendimento de grãos.

3.3. Tratos culturais

O manejo das plantas daninhas foi realizado em pré-plantio com 2,4 L ha⁻¹ de Trifluralina[®] (trifluralin) (Fernandes et al., 2011). Na aplicação em pós emergência, foram utilizados os herbicidas Basagran 600[®] (bentazon), na dose de 1,5L ha⁻¹, e o Fusilade 250 EW[®] (fluazifop-p-butyl), na dose de 1,0 L ha⁻¹, para o controle de dicotiledôneas e gramíneas respectivamente (Machado et al., 2006). Para combater a ocorrência de *Diabrotica speciosa* (vaquinha) realizou-se apenas uma aplicação do inseticida EngeoTM Pleno[®] (tiametoxam + lambda-cialotrina) (Carvalho et al., 2014) na dose de 0,12 L ha⁻¹. Como não houve incidência de doenças, não foi efetuada nenhuma aplicação de fungicida. Também não se realizou o tratamento químico de sementes.

3.4. Características avaliadas

Por ocasião da plena floração - estádio R6 (Fernández et al., 1985), foram coletadas amostras, ao acaso, de raízes e da parte aérea de 10 plantas (linhas 2 e 3) em cada sub subparcela, para contagem do número de nódulos (NN) e determinação da massa seca de nódulos (MSN) e da parte aérea (MSPA). A massa seca foi determinada após secagem do material em estufa com circulação de ar à temperatura de 65°C, até peso constante. Posteriormente, realizou-se a análise laboratorial do teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA) pelo método semimicrokjedhal, de acordo com Sarruge e Haag (1979). Avaliou-se, também, o nitrogênio acumulado na parte aérea (ANPA), multiplicando a massa seca pelo teor de nitrogênio e dividindo por 100 (Fonseca et al., 2013).

Na colheita - estádio R9 (Fernández et al. 1985), foi determinado o rendimento de grãos (kg ha⁻¹) e seus componentes primários: número de vagens por planta (NVG), número de grãos por vagem (NGV) e massa média de 100 grãos (M100). Os componentes primários do rendimento foram obtidos de uma amostra de 10 plantas ao acaso, enquanto o rendimento de grãos foi calculado a partir da massa de grãos produzidos na área útil da parcela (linhas 4 e 5), incluindo a citada amostra de 10 plantas (Fonseca et al., 2013). Também foi avaliado o teor e o acúmulo de N no grão.

3.5. Análise estatística

Inicialmente, os testes de Levene (Levene, 1960), modificado por Lilliefors (1967), foram aplicados para examinar, respectivamente, as condições de homogeneidade de variâncias e normalidade dos erros.

Uma vez atendida às pressuposições básicas, foi realizada a análise de variância preliminar, prosseguindo-se com o desdobramento das interações significativas. Posteriormente, foi realizada a comparação das médias, pelo teste t, para cultivares e estirpes e a análise de regressão para doses, ambos em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software de análise estatística Sisvar 4.6 (Ferreira, 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características avaliadas no período do florescimento

As características avaliadas no período do florescimento consistiram em: número de nódulos e massa seca de nódulos que são indicadores usuais de nodulação, além da massa seca da parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e acúmulo de nitrogênio na parte aérea, caracteres discutidos a seguir.

Quadro 3 - Resumo da análise de variância para nove características na cultura do feijão: número de nódulos (NN); Massa Seca dos Nódulos (MSN); Massa Seca da Parte Aérea (MSA); Teor de Nitrogênio na Parte Aérea (TNPA); Acúmulo de Nitrogênio na Parte Aérea (ANPA); em um experimento realizado em Maringá – PR, 2014

Quadrados médios ⁽¹⁾							
Fontes de variação	G.L	NN	MSN	MSA	TNPA	ANPA	
Blocos	3	672,116319 ^{ns}	0,004231 ^{ns}	0,819474 ^{ns}	0,019048 ^{ns}	1378 ^{ns}	
Cultivar (C)	3	155090,932*	0,272059*	50,279595*	0,323230*	59747*	
Erro (a)	9	292,68113*	0,004231*	0,898697*	0,042848*	2001*	
Dose (D)	3	23382,4774*	0,0044364*	29,727476*	2,229384*	10171*	
CxD	9	57032,782*	0,0044364*	7,599136*	1,315549*	22305*	
Erro (b)	36	252,09085*	0,002026*	0,587607*	0,33477*	995,8*	
Estirpe (E)	2	14668,2343*	0,031213*	21,987525*	2,278567*	62941*	
CxE	6	24364,5815*	0,031213*	7,788590*	0,642599*	23018*	
DxE	6	7858,85243*	0,023812*	5,611912*	0,446932*	9548*	
$C \times D \times E$	18	14251,6996*	0,023812*	5,014588*	0,317443*	9975*	
Erro (c)	96	750,28125*	0,00556*	0,481067*	0,031682*	913,3*	
Total	191	-	-	-	-	-	
CV 1 (%)		13,93	172,80	9,54	6,65	14,34	
CV 2 (%)		12,93	119,57	7,71	5,87	10,11	
CV 3 (%)		22,30	14,31	6,98	5,71	9,69	
Média geral		122,8	0,03764	9,93953	3,11531	312,03	

CV = Coeficiente de variação. (1)*: efeito significativo a 5% pelo teste F; ns: efeito não significativo a 5% pelo teste F.

4.1.1. Número de nódulos

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica número de nódulos nas cultivares avaliadas, mostrou que existem diferenças entre os fatores em questão. Alguns autores, como Valadão et al. (2009), também observaram interações entre adubação nitrogenada e a inoculação de sementes para essa característica.

Nas Figuras 2, 3 e 4, temos a cultivar IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4). E1 são as estirpes sem inoculação, E2, respectivamente, em função das doses de N, inoculadas com UFLA 02-100, e 3, inoculadas com a estirpe CIAT 899 (SEMIA 4077). Na figura 1, as plantas que não foram inoculadas e receberam doses crescentes de N mineral obtiveram decréscimo no número de nódulos na cultivar IPR Andorinha, as demais cultivares, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa. Pelegrin et al. (2009) e Silva et al. (2009) também relataram a diminuição da nodulação conforme o aumento da dose de N aplicada. Do mesmo modo, Ferreira et al. (2009), em experimento conduzido em condições de campo em Perdões – MG, observaram efeito inibitório sobre a nodulação com a aplicação de 80 kg de N ha⁻¹.

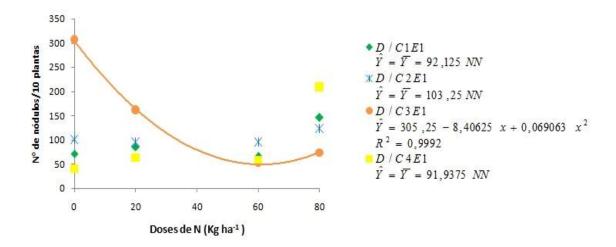


Figura 2 – Gráfico de regressão linear da relação entre o número de nódulos –NN (10 plantas) e as doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

Nas Figuras 3 e 4, onde todas as cultivares foram inoculadas com as estirpes UFLA 02-127 e CIAT 899, respectivamente, destacam-se as cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais que, com a adição de 40 kg/ha de nitrogênio, tiveram um decréscimo no número de nódulos e, com a adição de 60 kg/ha de nitrogênio, o número de nódulos começaram a aumentar. A estirpe CIAT 899 foi a que teve um maior aumento, na dose de 80 kg/ha de nitrogênio.

Em solos do Cerrado, Peres et al. (1994) verificaram diferenças significativas na nodulação de feijoeiros em três ensaios, quando foi utilizada a inoculação com estirpes comerciais de rizóbios, para a cultivar Carioca, sendo observados incrementos no número de nódulos. Os mesmos autores verificaram também que houve diminuição da nodulação com a aplicação de N mineral. Em outro estudo, realizado em Mato Grosso do Sul, Mercante et al. (2006) observaram que, em plantas inoculadas com estirpes de rizóbios (CIAT 899 e PRF 81), houve aumento do número de nódulos, quando comparadas com as plantas noduladas com rizóbios nativos para todas as cultivares avaliadas.

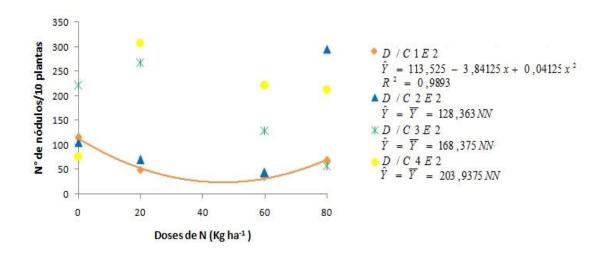


Figura 3 – Gráfico de regressão linear da relação entre o número de nódulos –NN (10 plantas) e as doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Neste trabalho, pôde-se observar que a maior produção de nódulos na cultivar IPR 139 foi obtida com a inoculação da estirpe UFLA 02-127, sendo esta

cultivar que apresentou o maior número de nódulos com a aplicação de N mineral. Nas cultivares IPR Campos Gerais, IPR Andorinha e IPR Tangará, a estirpe CIAT 899 apresentou os melhores resultados. De acordo com Cardoso et al. (2009), a seleção de estirpes de rizóbio por programas e experimentos, com o objetivo de avaliar a eficiência agronômica de estirpes, inoculantes e tecnologias, baseia-se na avaliação de diversos parâmetros relacionados à simbiose, dos quais a nodulação das raízes representa um componente importante.

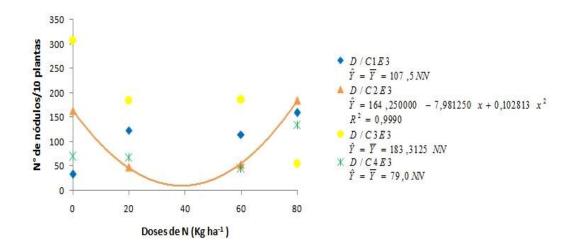


Figura 4 – Gráfico de regressão linear da relação entre o número de nódulos –NN (10 plantas) e as doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Verificou-se que, mesmo quando não receberam inoculação, as cultivares de feijão comum também desenvolveram nódulos. Pelegrin et al. (2009) observaram que a nodulação nas plantas de feijão que não receberam inoculante foi similar à dos que receberam, evidenciando uma população nativa de rizóbios no solo. Outros autores, como Hungria, Campos e Mendes (2003), não observaram diferenças significativas no número de nódulos de feijoeiros inoculados com rizóbios e que receberam aplicação de N mineral (30 kg/há na semeadura + 30 kg/há em cobertura), quando comparado com a nodulação proporcionada pela população nativa do solo. Nos tratamentos não inoculados, o que recebeu adubação nitrogenada apresentou menor número de nódulos, exceto na cultivar IPR Tangará, o que confirma o efeito negativo da adubação nitrogenada na nodulação. Estes

resultados concordam com os obtidos por Mendonça et al. (1998) e Mendes et al. (1998), os quais observaram diminuição da nodulação em presença de adubação nitrogenada. Vargas et al. (1991) verificaram, independentemente da inoculação com *Rhizobium*, que todas as plantas de feijoeiro apresentaram nodulação, indicando a presença de estirpes nativas na área. Os resultados estão abaixo, no Quadro 4.

Quadro 4 – Valores médios de número de nódulos – NN (10 plantas) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
(kg há ⁻¹)				
-		Sem inoculação		
0,0	8,94 b	6,52 c	8,80 b	7,62 c
20	11,76 a	10,44 a	8,01 b	7,45 c
60	11,67 a	10,65 a	8,30 b	8,07 b
80	13,10 a	10,10 a	11,40 a	9,10 b
		UFLA 02 - 127		_
0,0	9,95 b	6,65 c	13,10 a	8,37 b
20	9,95 b	9,92 b	8,67 b	9,94 b
60	9,57 b	8,94 b	10,65 a	10,08 ab
80	13,18 a	9,95 b	9,35 b	8,67 b
		CIAT 899		
0,0	9,57 b	7,67 c	11,55 a	8,37 b
20	12,81 a	10,26 a	11,37 a	10,41 a
60	11,46 a	10,65 a	10,42 a	9,92 b
80	11,55 a	9,57 b	12,81 a	11,16 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Apesar disso, alguns trabalhos com a utilização de inoculantes (Tsai, 1993; Araújo e Carvalho, 2006; Brito et al., 2011) recomendam a aplicação de pequenas quantidades de N, chamadas de "doses de arranque", na forma de adubação na época da semeadura. No entanto, estas doses devem ser baixas o suficiente para não prejudicar a nodulação e, consequentemente, a eficiência da FBN, uma vez que

o N, quando disponível no solo em quantidade igual ou superior à exigida pelo feijão comum, prejudica o estabelecimento da simbiose (Hungria et al., 1997; Araújo et al., 2007).

Quanto ao efeito da inoculação com as estirpes de *Rhizobium* em cada dose de nitrogênio, na ausência de nitrogênio (dose 0,0), verificou-se que a estirpe UFLA 02-127 (*R. leguminosarum* bv. *Phaseoli*) apresentou maior número de nódulos nas cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais. Nas cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará foi a CIAT 899 (*R. tropici*) que se destacou pela maior produção de nódulos.

Com a aplicação de 20 kg e 60Kg de N ha⁻¹, a inoculação com a estirpe UFLA 02-127, nas cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais, e CIAT 899, nas cultivares Andorinha e IPR Tangará, refletiram na maior produção da característica estudada. Nos tratamentos com 80 kg de N ha⁻¹, a inoculação das sementes de IPR 139 e IPR Andorinha com a estirpe UFLA 02-127 resultou na melhor média do número de nódulos. No entanto, para as cultivares IPR Campos Gerais e IPR Tangará, foi a estirpe CIAT 899 (SEMIA 4077 (*R. tropici*) recomendada para a cultura do feijão comum que se sobressaiu. A partir dos resultados obtidos nos trabalhos realizados por Soares et al. (2006), Souza et al. (2011) e Valadão et al. (2009), ficou evidente que o N disponibilizado na adubação, em quantidades que variaram de 60 a 350 kg ha⁻¹, reduziu o estabelecimento dos microssimbiontes e, por conseguinte, o número de nódulos.

4.1.2. Massa seca de nódulos

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica número de nódulos nas cultivares avaliadas, mostrou que existem diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 5, 6 e 7 ilustram a relação da produção de matéria seca de nódulos com as doses de N empregadas nesse trabalho, sendo possível observar que, conforme aumentou-se as doses de N mineral, os valores da massa seca de nódulos reduziram significativamente, assim como observado anteriormente para a característica número de nódulos, exceto para as cultivares IPR Andorinha (Figura

4) que apresentou um aumento de 80 Kg/há⁻¹ de N, e para a cultivar IPR Campos (Figura 6), que teve um aumento da MSN na dose 60 Kg/há⁻¹. Soares et al. (2006), Pelegrin et al. (2009), Valadão et al. (2009), Silva et al.(2009) e Souza et al. (2011) verificaram que o N fornecido via adubação, em doses que variam de 60 a 350 kg ha⁻¹, reduziram o estabelecimento das bactérias simbiontes e, consequentemente, o número e a massa seca de nódulos. Este fato também foi observado por Pelegrin et al. (2009), ao avaliarem a resposta do *Phaseolus vulgaris* à inoculação com rizóbio e parcelamento de fertilizante nitrogenado.

Sabe-se que o nitrogênio é um nutriente cuja presença ou ausência afeta a simbiose de várias formas (Pereira, 1982). Em excesso, o N mineral pode causar diminuição da eficiência simbiótica, porém, quando em pequenas quantidades aplicadas na cultura do feijão, permite aumento no crescimento dos nódulos e maior fixação de nitrogênio, sendo que teores muito baixos de nitrato no solo podem ser limitantes à atividade simbiótica (Ruschel e Saito, 1977).

Silva et al. (2009), ao avaliarem a inoculação do *Phaseolus vulgaris* com *Rhizobium tropici* associada a diferentes doses de N, verificaram que a adubação nitrogenada reduziu a massa seca de nódulos à medida que houve aumento nas doses (0, 40, 80 e 120 kg há⁻¹ de N).

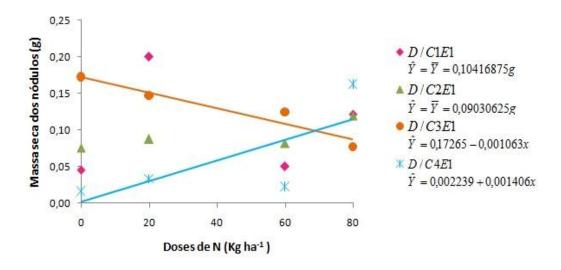


Figura 5 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSN (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

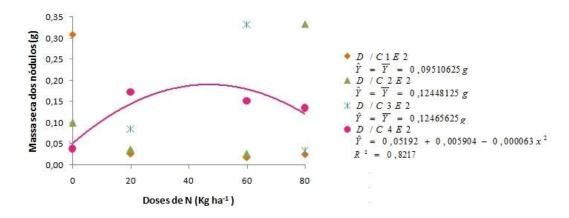


Figura 6 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSN (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹), nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

O efeito da adubação nitrogenada aplicada nas cultivares inoculadas, evidencia a diminuição da massa seca de nódulos à medida que se aumenta a dose de N, diminuindo com 80kg de N por ha. Alguns autores chegaram a essas conclusões, como Cassini e Franco (2006), Moreira e Siqueira (2006) e Souza et al. (2011), uma vez que, aplicações de doses mais elevadas de N refletem em ação negativa sobre a nodulação, como é o caso de número e massa seca de nódulos, além da fixação de nitrogênio.

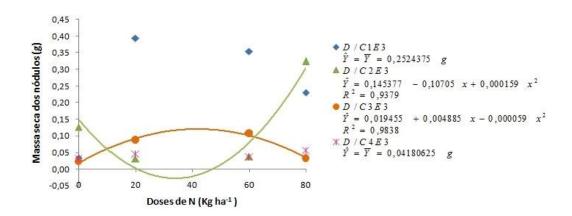


Figura 7 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSN (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹), nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Os valores médios da massa seca de nódulos em função da inoculação com estirpes de *Rhizobium* em cada dose de N constam no Quadro 2, permitindo analisar que na ausência de N, a maior média de massa seca de nódulos foi obtida utilizando-se a estirpe CIAT 899 nas cultivares IPR 139, IPR Andorinha e Tangará, enquanto na cultivar IPR Campos Gerais foi sem estirpe.

Com a aplicação da dose de 20 kg de N ha⁻¹, a estirpe UFLA 02/127 apresentou melhor valor para a cultivar IPR Campos Gerais. Para as demais cultivares, a CIAT 899 foi a que melhor se destacou. Com 60 kg de N ha⁻¹, a melhor estirpe foi a CIAT 899 para as cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará, enquanto, para IPR 139 e IPR Campos Gerais, os melhores resultados foram com as sementes sem inoculação.

Ao adicionar 80 kg de N ha⁻¹, observou-se que a cultivar IPR Tangará demonstrou um aumento significativo com a estirpe CIAT 899, comparando com os demais tratamentos nessa mesma dose. As cultivares IPR 139 e IPR Andorinha, ambas com 0,12g, apresentaram melhor desempenho com as estirpes CIAT 899 e UFLA 02-127, respectivamente, como pode ser observado abaixo, no Quadro 5.

Quadro 5 – Valores médios de massa seca de nódulos – MSN (g) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará		
		Sem inocu	ulação			
0,0	3,11 a	2,72 b	2,71 b	2,70 b		
20	3,10 a	2,50 b	3,04 a	2,81 b		
60	2,97 b	2,95 b	2,65 b	2,76 b		
80	3,10 a	3,12 a	3,07 ab	3,10 a		
UFLA 02 - 127						
0,0	3,64 a	3,24 a	2,72 b	2,98 b		
20	2,77 b	3,17 a	3,27 a	2,99 b		
60	2,67 b	3,44 a	3,18 a	3,40 a		
80	2,68 b	3,54 a	3,85 a	3,65 a		
CIAT 899						
0,0	3,39 a	2,61 b	2,47 b	3,32 b		
20	3,22 a	3,10 a	3,02 ab	2,96 a		
60	3,22 a	3,20 a	3,59 a	3,63 a		
80	3,96 a	3,94 a	3,08 a	2,64 b		

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

A avaliação do número e massa seca de nódulos são alguns dos critérios utilizados pela Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação, padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE) para a avaliação da eficiência simbiótica entre rizóbios e leguminosas (Xavier et al., 2006; Souza et al., 2008).

Hungria, Campo e Mendes (2003) observaram a aplicação de 15 kg há⁻¹ de N no plantio do feijão em campo, relatando que, com uma dose de 30 kg há⁻¹ de N no plantio, houve redução na nodulação e na produtividade.

Oliveira, Araújo e Dutra (1996) afirmam que, mesmo aplicando 100 kg de N há⁻¹ durante o ciclo, ainda haverá uma contribuição da FBN para a nutrição do feijão.

4.1.3. Massa seca da parte aérea

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica massa seca da parte aérea nas cultivares avaliadas, mostrou que existem diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 8, 9 e 10 ilustram a relação da massa seca da parte aérea com as doses de N empregadas nesse trabalho, sendo possível observar que, conforme se aumentou as doses de N mineral, os valores da massa seca da parte aérea, aumentaram, quando utilizado 20 kg de N por ha, mas foram reduzindo quando aumentadas as doses, exceto na cultivar IPR Tangará, inoculada com a estirpe UFLA 02-127, que, com a aplicação de 60 Kg/há-1 de N, ocorreu o aumento da MSPA. Nas demais cultivares e tratamentos, a maior produção de matéria seca da parte aérea foi registrada com a utilização de quantidades variando entre 20 e 60 kg de N ha-1. A adição de 80 kg de N ha-1 resultou na diminuição da massa seca da parte aérea. Para Binotti et al. (2007), a aplicação de N na semeadura proporcionou incrementos significativos em todos os três anos de cultivo, demonstrando, também, que o sistema de manejo do solo não influenciou na matéria seca do feijoeiro.

A adição de 20 kg de N ha⁻¹ refletiu em incremento na produção de matéria seca da parte aérea. Com isso, podemos observar que o uso de nitrogênio no solo é facilmente absorvido pelo sistema radicular do feijão comum, otimizando seu crescimento e acúmulo de massa seca (Valadão et al., 2009).

Os resultados obtidos neste trabalho diferem dos dados obtidos por Silva et al. (2002) que, ao aplicarem doses crescentes de N em cobertura no feijão, obtiveram os maiores valores de matéria seca com a aplicação de 100 kg há⁻¹ desse nutriente.

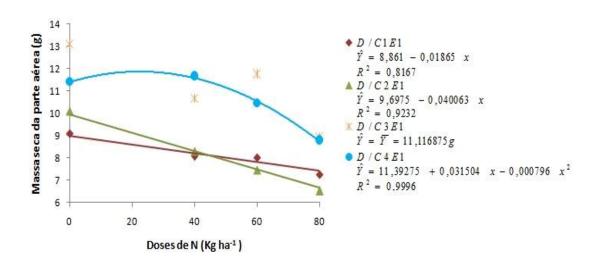


Figura 8 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSPA (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹), nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

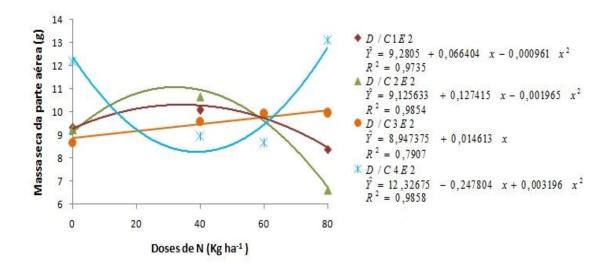


Figura 9 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSPA (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹), nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

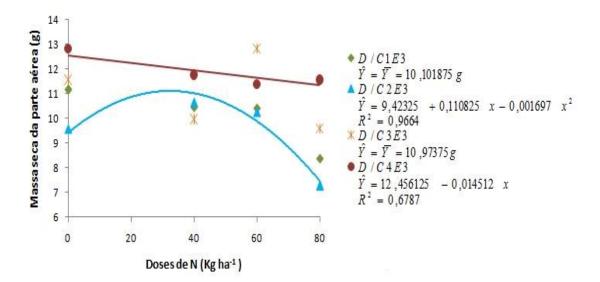


Figura 10 - Gráfico de regressão linear da relação entre massa seca de nódulos - MSPA (g) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹), nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Pôde-se observar, no Quadro 4, que, na ausência da adubação nitrogenada, a melhor média para essa característica foi obtida com a estirpe UFLA 02-127 na cultivar IPR Andorinha. Verificou-se ainda que, sem a adição de N na cultivar IPR Campos Gerais, o menor valor de matéria seca da parte aérea resultou das sementes que não receberam as estirpes, ou seja, aquelas que não foram inoculadas.

No quadro 6, verifica-se que o maior teor de nitrogênio na parte aérea sem a dose de nitrogênio foi na cultivar IPR 139, com a estirpe UFLA 02-127. Ferreira et al. (2009), apesar de não terem verificado diferença significativa (P>0,05) entre as estirpes, observaram que o teor de nitrogênio foi maior no tratamento inoculado com a estirpe UFLA 02-127.

A estirpe que apresentou melhores resultados em relação à MSPA foi a CIAT 899.

A MSPA é considerada um bom indicativo do estado nutricional das plantas, pois possibilita à cultura grande potencial de produção (Xavier et al., 2006; Souza et al., 2008; Antunes et al., 2011). Essa característica vem sendo empregada na seleção de estirpes para posterior composição de inoculantes (Zilli et al., 2006;

Souza et al., 2008). Por isso, os resultados obtidos para a MSPA indicam que as estirpes testadas proporcionaram crescimento adequado da cultura.

Quadro 6 – Valores médios de massa seca da parte aérea – MSPA (g) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
(kg ha-1)			Andonnia	
		Sem inoculação		
0,0	8,94 b	6,52 c	8,80 b	7,62 c
20	11,76 a	10,44 a	8,01 b	7,45 c
60	11,67 a	10,65 a	8,30 b	8,07 b
80	13,10 a	10,10 a	11,40 a	9,10 b
		UFLA 02-127		
0,0	9,95 b	6,65 c	13,10 a	8,37 b
20	9,95 b	9,92 b	8,67 b	9,94 b
60	9,57 b	8,94 b	10,65 a	10,08 ab
80	13,18 a	9,95 b	9,35 b	8,67 b
		CIAT 899		
0,0	9,57 b	7,67 c	11,55 a	8,37 b
20	12,81 a	10,26 a	11,37 a	10,41 a
60	11,46 a	10,65 a	10,42 a	9,92 b
80	11,55 a	9,57 b	12,81 a	11,16 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Ao utilizar a dose de 20 kg de N ha⁻¹, a cultivar IPR Tangará, inoculada com a estirpe CIAT 899, obteve a melhor média em relação à inoculação com a UFLA 02-127, produzindo 10,41 g. As cultivares IPR Campos Gerais e IPR Andorinha, inoculadas com UFLA 02-127 e CIAT 899, respectivamente, produziram maior MSPA do que as sementes sem inoculação.

Com 60 e 80 kg de N ha⁻¹ nota-se que para, as cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerias, com a estirpe CIAT 899, as médias foram parecidas àquelas sem inoculação. Com a adição de 80 kg de N ha⁻¹, verificou-se que a estirpe UFLA 02-127 teve maior produção de matéria seca da parte aérea do que na cultivar IPR 139. Para as cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará, a estirpe CIAT 899 obteve os maiores valores. O mesmo não ocorreu com a cultivar IPR Campos, em que a

estirpe SEMIA CIAT 899 obteve uma melhor média em relação a estirpe UFLA 02-127.

Soratto et al. (2005), Farinelli et al. (2006) e Pelegrin et al. (2009) não verificaram diferenças para essa característica em relação à adubação nitrogenada.

4.1.4. Teor de nitrogênio na parte aérea

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica teor de nitrogênio na parte aérea nas cultivares avaliadas, mostrou que existem diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 11, 12 e 13 ilustram a relação do teor de N na parte aérea com as doses de N empregadas nesse trabalho, sendo possível observar que, conforme houve aumento das doses de N mineral, os valores do teor de N na parte aérea diminuíram.

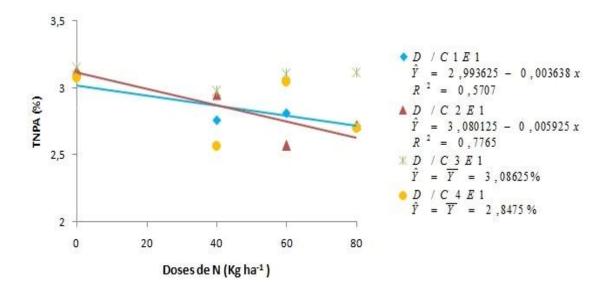


Figura 11 - Gráfico de regressão linear da relação entre teor de N na parte aérea - TNPA (%) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

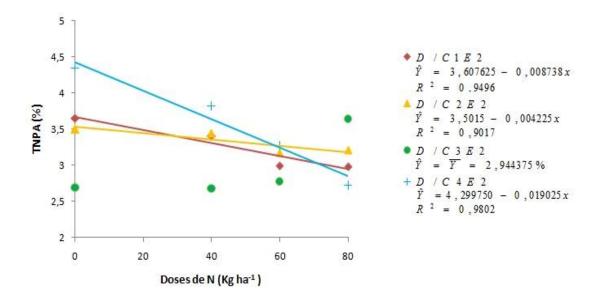


Figura 12 - Gráfico de regressão linear da relação entre teor de N na parte aérea - TNPA (%) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

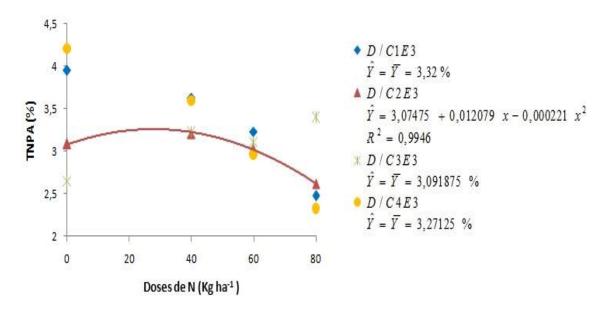


Figura 13 - Gráfico de regressão linear da relação entre teor de N na parte aérea - TNPA (%) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

A maioria dos tratamentos que recebeu a aplicação de 20, 60 e 80 kg de N ha⁻¹ apresentou teores de nitrogênio na faixa considerada adequada para o feijão comum no período do florescimento, que segundo Malavolta et al. (1997) é de 3 a 5%. Pode-se notar que as estirpes não diferenciaram muito quanto ao TNPA, e houve um aumento no teor de nitrogênio na parte aérea com as sementes que foram inoculadas com as estirpes, em relação àquelas sem inoculação, o que pode ser observado abaixo, no Quadro 7.

Quadro 7 – Valores médios de teor de nitrogênio da parte aérea – TNPA (%) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
		Sem inoculação		
0,0	3,11 a	2,72 b	2,71 b	2,70 b
20	3,10 a	2,50 b	3,04 a	2,81 b
60	2,97 b	2,95 b	2,65 b	2,76 b
80	3,10 a	3,12 a	3,07 ab	3,10 a
		UFLA 02-127		
0,0	3,64 a	3,24 a	2,72 b	2,98 b
20	2,77 b	3,17 a	3,27 a	2,99 b
60	2,67 b	3,44 a	3,18 a	3,40 a
80	2,68 b	3,54 a	3,85 a	3,65 a
		CIAT 899		
0,0	3,39 a	2,61 b	2,47 b	3,32 b
20	3,22 a	3,10 a	3,02 ab	2,96 a
60	3,22 a	3,20 a	3,59 a	3,63 a
80	3,96 a	3,94 a	3,08 a	2,64 b

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Araújo et al. (2007) verificaram acréscimo significativo na concentração de N na parte aérea do feijão comum no tratamento que recebeu inoculante, em relação à testemunha sem inoculação e adubação mineral e ao tratamento com aplicação de 45 kg ha -1 de N mineral. Contudo, em vários trabalhos de pesquisa, não foi detectada influência da inoculação das sementes de feijão comum com rizóbios no teor de N do feijoeiro (Ferreira et al., 2000; Bassan et al., 2001; Lemos et al., 2003; Romanini Júnior et al., 2007; Ferreira et al., 2009; Pelegrin et al., 2009). Soratto et al. (2002), ao avaliar o efeito de diferentes doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura no feijão, verificaram que doses de N aplicadas em

cobertura não proporcionaram acréscimos nos teores de N na parte aérea das plantas.

Segundo Fonseca et al. (2013), o teor de N na parte aérea é um dos indicativos de quão eficiente foi a absorção e assimilação do N, inclusive via fixação biológica – FBN.

4.1.5. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica acúmulo de nitrogênio na parte aérea nas cultivares avaliadas, mostrou que existem diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 14, 15 e 16 ilustram a relação do acúmulo de nitrogênio da parte aérea com as doses de N empregadas nesse trabalho, sendo possível observar que, conforme houve aumenta das doses de N mineral, os valores do acúmulo de N na parte aérea diminuíram.

Figura 14 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

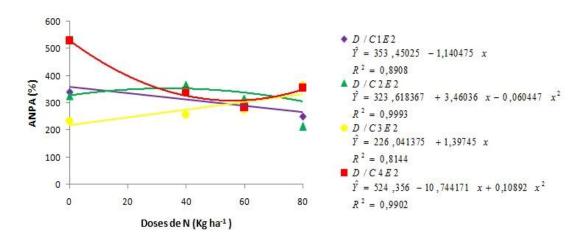


Figura 15 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1),IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Com a interação vista no Quadro 8, pode-se constatar que a aplicação de nitrogênio mineral proporcionou acréscimo no acúmulo de nitrogênio na parte aérea, exceto na cultivar IPR 139, inoculada com a estirpe UFLA 02-127, que teve um maior ANPA sem adubação nitrogenada, assim como mostrado quanto ao teor nitrogênio da parte aérea.

Quadro 8 – Valores médios de acumulo de nitrogênio da parte aérea – ANPA (g) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
		Sem inoculação		
0,0	278,14 b	177,72 b	237,82 b	197,23 b
20	364,99 a	191,71 b	318,29 a	225,46 b
60	317,03 a	300,10 a	244,78 b	222,95 b
80	314,96 a	315,83 a	350,74 a	282,23 a
		UFLA 02 – 127		
0,0	398,38 a	212,84 b	356,14 a	249,48 b
20	315,49 a	297,85 a	283,34 a	276,31 b
60	256,39 b	366,78 a	343,06 a	341,51 a
80	232,63 b	340,92 a	395,11 a	352,33 a
		CIAT 899		
0,0	325,71 a	190,82 c	268,39 b	206,49 b
20	315,49 a	310,25 a	335,66 a	336,12 a
60	320,69 a	342,94 a	342,70 a	379,60 a
80	389,51 a	340,48 a	285,34 b	304,81 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Quando não houve a aplicação de N na cultivar IPR Tangará, a estirpe UFLA 02-127 promoveu um ANPA de 249,48 g. Esse mesmo inoculante foi o melhor para as demais cultivares sem adubação nitrogenada, com 398,38 g para a cultivar IPR 139; 212,84 g para IPR Campos Gerais; e 356,14 para IPR Andorinha.

Com a utilização de 20 e 60 kg de N ha⁻¹, a melhor estirpe para ANPA foi a CIAT 899 para todas as cultivares.

Com a dose de 80 kg de N ha⁻¹, a cultivar IPR 139, inoculada com a estirpe CIAT 899, obteve maior ANPA que as sementes inoculadas com a estirpe UFLA 02-127, sendo 389,51 g com CIAT 899 e 232,63 com UFLA 02-127. Nas demais cultivares, a inoculação da estirpe UFLA 02-127 proporcionou as melhores médias de ANPA.

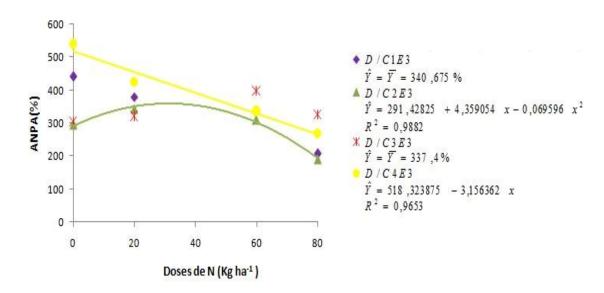


Figura 16 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Ferreira et al. (2009) observaram uma variação de valores de acúmulo de nitrogênio na parte aérea de 277,33 mg planta⁻¹ com a estirpe UFLA 02-68 a 309 mg planta⁻¹ com a inoculação das estirpe UFLA 02-100 e UFLA 02-127. No entanto, na testemunha não inoculada, mas adubada com 80 kg de N ha⁻¹, o valor do ANPA foi de 357 mg planta⁻¹.

4.2. Características avaliadas no período da colheita

A associação dos componentes primários do rendimento resulta na característica de maior importância econômica do feijão comum, a produtividade de grãos (PROD). A seguir serão discutidos os componentes: número de vagens por

planta (NV), número de grãos por vagem (NGV) e massa de 100 grãos (M100). Os resultados podem ser observados abaixo, no Quadro 9.

Quadro 9 - Resumo da análise de variância para nove características: número de vagens por planta (NV), número de grãos por vagem (NGV), massa de 100 grãos (PCS), teor de N no grão (TNG) e acúmulo de N no grão (ANG)2014

Quadrados Médios (1)							
Fontes de	G.L	NV	NGV	PCS	PROD	TNG	ANG
variação							
Blocos	3	0,1601 ^{ns}	0,16435 ^{ns}	8,8342 ^{ns}	10169 ^{ns}	0,012150 ^{ns}	1798 ^{ns}
Cultivar (C)	3	6,1284*	5,64671*	296,46*	176075*	0,232347*	24745*
Erro (a)	9	0,2859*	0,12838*	3,2167*	21155*	0,011759*	1002*
Dose (D)	3	45,270*	1,12102*	7,1136 ^{ns}	600423*	3,248293*	09971*
CxD	9	9,6322*	0,32208 ^{ns}	8,5937 ^{ns}	354096*	2,425945*	11413*
Erro (b)	36	0,3412*	0,15173*	6,4823*	26603*	0,037527*	889,9*
Estirpe (E)	2	11,104*	0,24380 ^{ns}	15,181 ^{ns}	816682*	2,128537*	53281*
CxE	6	6,9750*	0,19671*	15,518*	235314*	0,586785*	13028*
DxE	6	6,2609*	0,55623*	5,9882 ^{ns}	266519*	0,345862*	8254*
$C \times D \times E$	18	6,9024*	0,45757*	9,0699 ^{ns}	36795*	0,235833*	8254*
Erro (C)	96	0,3740*	0,08470*	5,7626*	23713 ^{ns}	0,031252*	852,3*
Total	191	-	-	-	-	-	-
CV 1 (%)		14,34	7,32	10,80	7,20	5,89	13,58
CV 2 (%)		10,11	8,00	11,74	10,22	6,54	11,73
CV 3 (%)		9,69	8,38	8,77	9,63	5,96	10,47
Média geral		312,0352	7,3020	3,3182	24,9224	3,5721	296,142

CV = Coeficiente de variação; (1)*: efeito significativo a 5% pelo teste F; ns: efeito não significativo a 5% pelo teste F.

4.2.1. Número de vagens por planta

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica número de vagens por planta nas cultivares avaliadas, evidenciou que há diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 17, 18 e 19 ilustram a relação do número de vagens por planta com as doses de N empregadas nesse trabalho.

Com a análise da regressão entre o número de vagens por planta e as doses de nitrogênio observados para cada cultivar e inoculação, observa-se, com que o aumento das doses de N para IPR Andorinha sem inoculação, IPR Campos Gerais inoculada com a estirpe UFLA 02-127 e CIAT 899, nas doses 60 e 80 kg de N ha⁻¹, o número de vagens diminuiu, exceto na cultivar IPR Tangará inoculada com CIAT 899, que diminuiu com a aplicação de 40 Kg/há⁻¹ de N. As demais cultivares para os demais tratamentos, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa.

Os resultados desse trabalho para NV são o oposto dos resultados encontrados por Carvalho et al. (2000), que verificaram efeito linear crescente no número de vagens por planta até a dose de 140 kg há⁻¹, resultado semelhante apenas aos observados na cultivar IPR Andorinha inoculada com a estirpe CIAT 899.

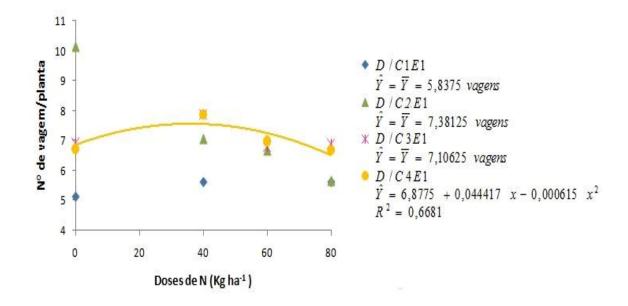


Figura 17 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de vagens por planta (NV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

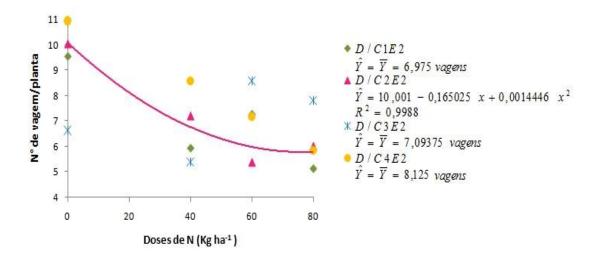


Figura 18 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de vagens por planta (NV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Feito o desdobramento da interação tripla, como mostra o Quadro 9, vê-se que, na ausência da adubação nitrogenada, a estirpe UFLA 02-127, inoculada na cultivar IPR 139, obteve a maior produção de vagens, mas foi a cultivar que obteve a menor média para a dose 80 kg de N ha⁻¹ inoculada com a mesma estirpe.

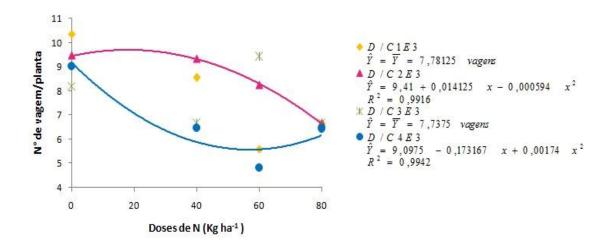


Figura 19 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de vagens por planta (NV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Quadro 9 – Valores médios de número de vagens por planta – NV em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará				
Sem inoculação								
0,0	6,87 b	5,65 c	6,67 b	5,62 c				
20	6,77 b	5,37 c	6,97 b	6,97 b				
60	7,87 ab	7,20 ab	7,05 ab	5,62 c				
80	6,90 b	10,15 a	6,70 b	5,12 c				
UFLA 02 – 127	7							
0,0	7,80 ab	6,62 b	5,82 c	5,12 c				
20	8,57 a	5,37 c	7,17 ab	7,27 ab				
60	5,37 c	7,20 ab	8,57 a	5,95 c				
80	6,62 b	10,82 a	10,92 a	10,82 a				
CIAT 899								
0,0	6,67 b	6,67 b	6,45 b	6,62 b				
20	9,42 a	8,25 a	4,82 c	5,60 c				
60	6,67 b	9,32 a	6,47 b	8,55 a				
80	9,55 a	8,17 a	9,47 a	9,02 a				

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Com 60 kg de N ha⁻¹, para a cultivar IPR 139, a melhor média foi apresentada com as sementes que não tiveram inoculação. Para a cultivar IPR Andorinha, a melhor estirpe foi a UFLA 02-127 e, para as cultivares IPR Campos Gerais e IPR Tangará, as melhores médias foram Aquelas inoculadas com a estirpe CIAT 899. Ao aplicar 80 kg de N ha⁻¹, verificou-se que as cultivares IPR Campos Gerais, IPR Andorinha e IPR Tangará, inoculadas com a estirpe UFLA 02-127, refletiram na maior produção de NV, no entanto, na cultivar IPR 139, apenas a CIAT 899 se destacou. Os dados obtidos nesse trabalho diferem de Ferreira et al. (2000), que não detectaram efeitos significativos da inoculação em NV e os maiores valores foram em tratamento não inoculado e adubado com N.

Dentre os componentes primários do rendimento, o NV é o componente de produção que mais influencia a produtividade (Souza et al., 2008a).

4.2.2 Número de grãos por vagem

Para o componente de produção número de grãos por vagem foi observada significância (P≤0,05) no efeito dos fatores cultivar, dose, estirpe e na interação tripla entre cultivar x dose x estirpe.

As Figuras 20, 21 e 22 ilustram a relação do número de grãos por vagem com as doses de N empregadas nesse trabalho.

Podemos ver a relação entre o número de grãos por vagem e as doses de N nas figuras e pode-se observar que apenas a cultivar IPR Andorinha, sem inoculação, teve um aumento no número de grãos por vagem quando se aplicou 60Kg/há⁻¹de N. A cultivar IPR 139, no mesmo tratamento, teve um decréscimo de NGV na mesma dose. A cultivar IPR Andorinha, inoculada com a estirpe UFLA 02-127, teve um maior NGV com a aplicação de 40Kg/há⁻¹. Com a inoculação da estirpe CIAT 899 nas cultivares, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa. Binotti (2009) não verificou diferenças significativas para a o número de grãos por vagem, utilizando o *R. tropici* na inoculação das sementes de feijão, enquanto Silva (2002) e Soratto et al. (2004) não obtiveram efeitos significativos no número de grãos por vagem com a utilização de diferentes níveis de N em cobertura.

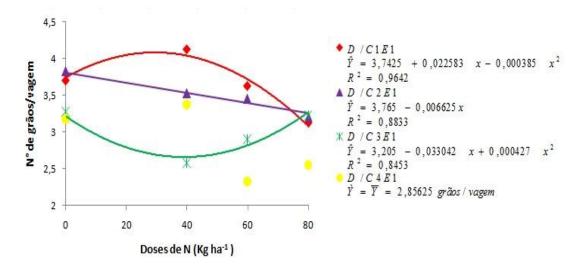


Figura 20 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de grãos por vagem (NGV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

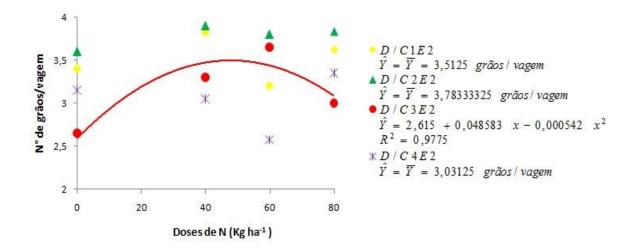


Figura 21 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de grãos por vagem (NGV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Por meio da análise do desdobramento das doses de N em cada estirpe e cultivar para o número de vagens por planta (Quadro 10), pode-se observar que com a inoculação das estirpes UFLA 02-127 e CIAT 899, as doses de N apresentaram resultados semelhantes nas cultivares.

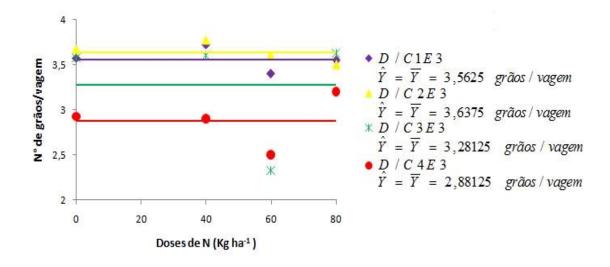


Figura 22 - Gráfico de regressão linear da relação entre número de grãos por vagem (NGV) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha (C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Quadro 10 – Valores médios de número grãos por vagens- NGV em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
		Sem inocu	ılação	
0,0	3,22 a	3,20 a	2,55 b	3,12 a
20	2,90 b	3,45 a	2,32 b	3,62 a
60	2,57 b	3,52 a	3,38 a	3,96 a
80	3,70 a	2,65 b	3,62 a	3,15 a
		UFLA 02	– 127	_
0,0	3,00 a	3,75 a	3,35 a	3,62 a
20	3,65 a	3,80 a	2,57 b	3,20 a
60	3,90 a	3,82 a	3,30 a	3,05 a
80	3,40 a	3,57 a	3,67 a	2,92 b
		CIAT 8	99	
0,0	3,62 a	3,50 a	3,20 a	3,55 a
20	2,32 b	2,50 b	3,60 a	3,40 a
60	2,90 b	3,28 a	3,82 a	3,17 a
80	3,57 a	3,62 a	3,50 a	3,20 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Com base nos resultados apresentados no quadro acima, conclui-se que, na cultivar IPR Tangará não inoculada, a dose de 60 kg de N ha⁻¹ propiciou a maior produção do número de grãos por vagem e, ainda, a mesma dose também foi a melhor na cultivar IPR 139 quando inoculada com a estirpe UFLA 02-127.

As cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais, inoculadas com UFLA 02-127, apresentaram maior número de grãos por vagem quando houve o acréscimo de N mineral, na dose de 60 kg de N ha⁻¹.

Embora o número de grãos por vagem seja considerado características de herdabilidade genética, pesquisas indicam que uma melhor nutrição em N pode aumentar o número de óvulos fertilizados por vagem, com os dados se ajustando a equações lineares crescentes (Santos et al., 2003; Arf et al., 2004; Soratto et al., 2006).

4.2.3. Massa de 100 grãos

Como se pode observar no Quadro 11, na análise de variância, verificou-se diferença significativa somente nos fatores cultivar e interação entre cultivar x estirpe.

Quadro 11 – Valores médios de massa de 100 grãos – PCS em função da interação cultivar x estirpe (Maringá/PR)

IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
	Se	em inoculação	
23,67 b	21,90 b	23,85 b	28,12 a
	U	FLA 02 - 127	
24,02 b	22,45 b	27,45 a	27,35 a
		CIAT 899	
23,93 b	21,85 b	26,34 b	27,95 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Com esses resultados, podemos observar que para as cultivares IPR 139, IPR Campos Gerais e IPR Andorinha, as melhores médias foram com as sementes inoculadas com a estirpe UFLA 02-127. Para a cultivar IPR Tangará, a melhor média foi com a estirpe CIAT 899.

Os resultados do trabalho para peso de 100 grãos diferem dos resultados obtidos por Bassan et al. (2001), que verificaram que tratamentos inoculados com a estirpe CIAT 899 apresentaram menos peso de 100 grãos em relação aos sem inoculação, embora isso não afetasse a produtividade dos grãos.

Arf et al. (2008) registram que a massa dos grãos está mais relacionada aos caracteres genéticos da cultivar utilizada.

Soratto et al. (2004) concluíram que a aplicação de N não causa grande variação no número de grãos por vagem e na massa de 100 grãos.

Pelegrin et al. (2009) não identificaram diferença significativa entre os tratamentos com adubação e inoculação da cultivar IPR Pérola para a massa de 100 grãos.

4.2.4. Produtividade de grãos

O resultado da análise de variância para a produtividade de grãos nos mostra que só não houve efeito significativo na interação tripla.

As Figuras 23 e 24 representam a interação entre dose x cultivar e dose x estirpe, respectivamente.

Podemos ver que apenas a cultivar IPR 139 e IPR Andorinha apresentaram uma regressão linear quadrática, respectivamente. As demais, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa.

Na Figura 23, está representada a relação entre produtividade e doses de N, sendo que o aumento das doses de N aplicadas refletiu no menor rendimento dos grãos. Silva et al. (2009) concluíram que a adubação nitrogenada não contribuiu para o incremento do rendimento de grãos, independentemente da dose utilizada. Arf et al. (2004) e Silva et al. (2006), em plantio direto e convencional, observaram que o rendimento de grãos do feijoeiro não foi influenciado pelas doses de 0, 30, 60 e 120 kg ha-1 de N aplicadas em cobertura.

Na Figura 24, vê-se que as sementes inoculadas com a estirpe CIAT 899, em doses elevadas de N, apresentaram decréscimo na produtividade.

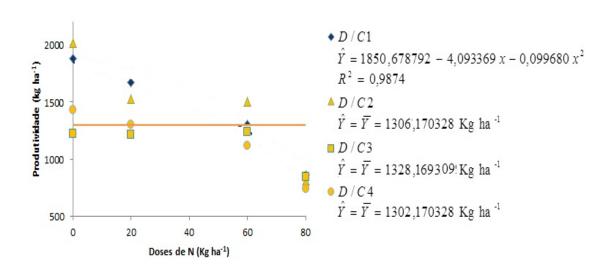


Figura 23 - Gráfico de regressão linear da relação de produtividade e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

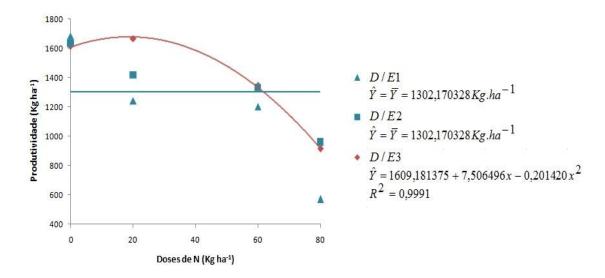


Figura 24 - Gráfico de regressão linear da relação de produtividade em estirpes e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹).

Ao analisar as cultivares que não receberam adubação nitrogenada no Quadro 11, constatou-se que a inoculação com a estirpe UFLA 02-127 teve uma maior produtividade nas cultivares IPR 139, IPR Campos Gerais e IPR Tangará. Para a cultivar Andorinha, a melhor estirpe foi a CIAT 899.

Com a aplicação de 20 e 60 kg de N ha⁻¹, houve um aumento significativo na produtividade com as sementes inoculadas em relação àquelas que não receberam inoculação.

Com a dose de 80 kg de N, podemos ver uma queda na produtividade para as cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará, inoculadas com UFLA 02-127 e CIAT 899. As cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais apresentaram um aumento na produtividade.

Em trabalho realizado por Pelegrin et al. (2009), os autores verificaram que a adubação com 20 kg de N ha⁻¹, acrescida de inoculante com a estirpe CIAT 899, possibilitou a obtenção de produtividade de grãos na cultura do feijão comum de 3.339 kg ha⁻¹, o equivalente à aplicação de até 160 kg de N ha⁻¹.

Em um estudo realizado em Minas Gerais, Nogueira (2005) testou as estirpes CIAT 899, UFLA 02-100, UFLA 02-86 e UFLA 02-127, com mais duas testemunhas que eram sem N e sem inoculação e a outra com aplicação de 80 kg

de N há-1, na cultivar Pérola. Em seus resultados, foi possível observar que as estirpes UFLA 02-100 e UFLA 02-127 contribuíram significativamente para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro, promovendo, assim, uma economia do fertilizante nitrogenado. Portanto, a fixação biológica de nitrogênio pode ser uma alternativa viável para a substituição total ou parcial de adubos nitrogenados na cultura do feijoeiro.

Quadro 11 – Valores médios de produtividade de grãos – PROD (kg ha⁻¹) em função da interação dose x estirpe nas cultivares IPR 139, IPR Campos Gerais, IPR Andorinha e IPR Tangará (Maringá/PR)

Dose de N	IPR 139	IPR Campos	IPR Andorinha	IPR Tangará
(kg ha ⁻¹)		Gerais		
		Sem inoculaç	ção	
0,0	533,72 b	946,87 b	975,51 b	1523,58 a
20	965,24 b	1028,35 ab	1012,58 ab	1143,58 ab
60	1233,25 a	1204,25 b	1081,72 ab	1827,22 a
80	1531,25 a	1928,12 a	1449,42 a	2286,34 a
		UFLA 02 – 1	27	
0,0	988,75 a	1003,12 ab	771,94 b	1576,50 b
20	1069,38 ab	1478,93 a	1629,54 b	1623,42 b
60	1286,87 a	1710,11 a	2205,80 a	2585,46 a
80	1249,37 a	2040,00 a	2043,90 a	2233,02 a
		CIAT 899		
0,0	918,12 b	916,67 b	1535,00 b	1504,10 b
20	1166,25 ab	1641,65 a	2485,93 a	240,10 a
60	1440,62 a	1823,72 a	2246,23 a	1823,45 b
80	1587,50 a	1965,62 a	2131,92 b	1562,58 b

4.2.5. Teor de nitrogênio nos grãos

Para o componente de teor de nitrogênio nos grãos, foi observada significância (P≤0,05) no efeito dos fatores cultivar, dose, estirpe e na interação tripla entre cultivar x dose x estirpe.

As Figuras 25, 26 e 27 ilustram a relação do número de grãos por vagem com as doses de N empregadas nesse trabalho.

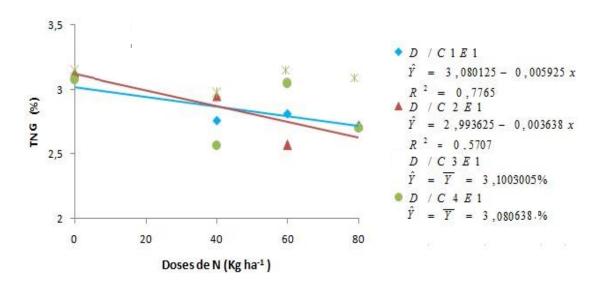


Figura 25 - Gráfico de regressão linear da relação do teor de N nos grãos (TNG %) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

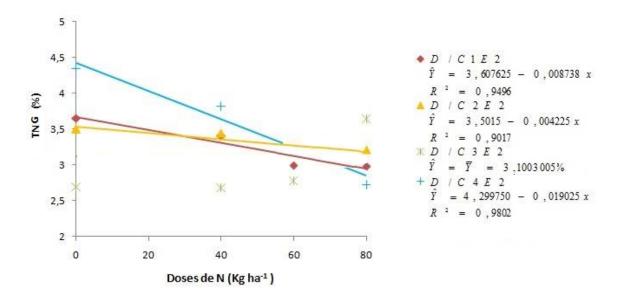


Figura 26 - Gráfico de regressão linear da relação do teor de N nos grãos (TNG %) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Os teores de nitrogênio no grão foram similares aos teores de N na parte aérea, visto que os teores foram diminuindo com a aplicação de 20 kg de N ha-1 nas cultivares. A relação entre o TNG e as doses de N nas cultivares IPR 139 sem inoculante, IPR 139, IPR Campos Gerais e IPR Tangará inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 foi linear, sendo que, à medida que aumentou a adubação nitrogenada, o acúmulo de nitrogênio caiu; a cultivar IPR Campos Gerais com o inoculante CIAT 899 foi quadrática e nas outras cultivares nos demais tratamentos, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa. O teor de N nos grãos é umas das principais características do feijoeiro, pois é através dela que encontraremos a condição nutricional que a planta obteve nos estádios de maturação, tendo em vista que, no período da floração e enchimento dos grãos, existe uma intensa translocação de N das folhas para as partes reprodutivas. É através do TNG que podemos verificar a baixa ou alta eficiência da FBN.

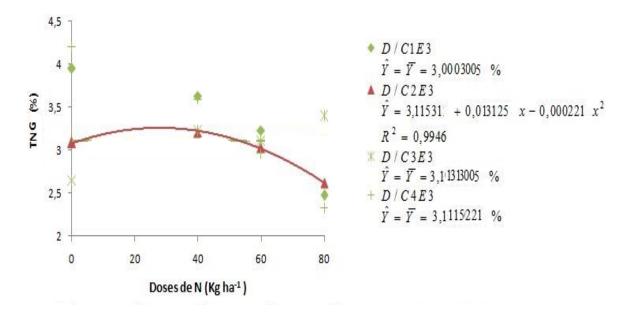


Figura 27 - Gráfico de regressão linear da relação do teor de N nos grãos (TNG %) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Os dados do Quadro 12 mostram que o maior teor de nitrogênio no grão sem a dose de nitrogênio foi na cultivar IPR Campos Gerais, com a estirpe UFLA 02-127.

A maioria dos tratamentos que recebeu a aplicação de 20, 60 e 80 kg de N ha⁻¹ apresentou teores de nitrogênio entre 2 a 4%, que foi bem parecido com os teores de nitrogênio da parte aérea. Pode-se notar que as estirpes não diferenciaram muito quanto ao TNG e houve um aumento no teor de nitrogênio com as sementes que foram inoculadas com as estirpes, em relação àquelas sem inoculação. Alguns autores confirmam que doses de até 120 kg de N há-1 aplicados em cobertura, aumenta o TNG (Silva; Lemos; Tavares, 2006; Soratto et al., 2005), não concordando com os resultados encontrados por outros autores, que afirmam que, mesmo utilizando doses maiores de N, não foi verificada no TNG até a dose de 160 kg de N há-1 (Pelegrin et al., 2009).

Quadro 12 - Valores médios de teor de nitrogênio do grão – TNG (%) em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N	IPR 139	IPR Campos	IPR Andorinha	IPR Tangará
(kg ha ⁻¹)		Gerais		
		Sem inocula	ıção	
0,0	3,17 a	2,69 b	2,57 b	2,36 b
20	2,90 b	2,45 b	3,32 a	2,62 b
60	2,57 b	2,52 b	2,58 b	2,96 b
80	3,70 a	3,65 a	3,62 a	3,15 a
		UFLA 02 –	127	
0,0	3,02 a	3,45 a	2,45 b	2,35 b
20	2,65 b	3,80 a	3,57 a	3,20 a
60	2,50 b	3,82 a	3,58 a	3,05 a
80	2,44 b	3,57 a	3,25 a	3,92 a
		CIAT 899	9	
0,0	3,93 a	2,85 b	2,64 b	3,95 a
20	2,32 b	2,14 b	3,60 a	2,40 b
60	2,90 b	3,28 a	3,82 a	3,17 a
80	3,57 a	3,62 a	3,50 a	3,20 a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

4.2.6. Acúmulo de nitrogênio nos grãos

A significância verificada no quadrado médio para as fontes de variação cultivar, dose, interação entre cultivar e dose, estirpe, interação entre cultivar e estirpe, dose e estirpe e a interação tripla cultivar x dose x estirpe, para a característica acúmulo de nitrogênio nos grãos nas cultivares avaliadas, evidenciou que existem diferenças entre os fatores em questão.

As Figuras 28, 29 e 30 ilustram a relação do acúmulo de nitrogênio nos grãos com as doses de N empregadas nesse trabalho, sendo possível observar que, conforme aumentou as doses de N mineral, os valores da massa seca da parte aérea diminuíram.

Assim como o teor de nitrogênio, o ANG se manteve semelhante ao ANPA, sugerindo que a relação entre o ANG e as doses de N nas cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais, sem inoculante; IPR 139 e IPR Andorinha, inoculadas com a estirpe UFLA 02-127; e IPR Tangará, inoculada com a estirpe CIAT 899, foi linear e, à medida que houve aumento da adubação nitrogenada, o acúmulo de nitrogênio grão diminuiu e as cultivares IPR Campos Gerais e IPR Tangará, inoculadas com a estirpe UFLA 02-127, e a cultivar IPR Campos Gerais, inoculada com CIAT 899, foi quadrática. Nas demais cultivares nos demais tratamentos, para os modelos testados, não foi possível estabelecer uma relação funcional significativa.

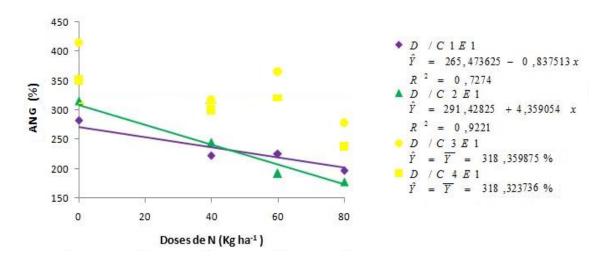


Figura 28 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), sem inoculação (Maringá/PR).

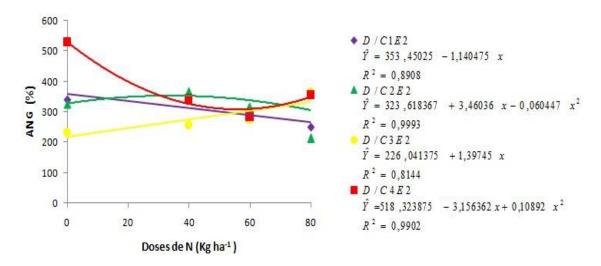


Figura 29 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas cultivares IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe UFLA 02-127 (Maringá/PR).

Com a interação mostrada no quadro 13, pode-se ver que a aplicação de nitrogênio mineral proporcionou acréscimo no acúmulo de nitrogênio no grão, exceto na cultivar IPR 139, inoculada com a estirpe UFLA 02-127, e na cultivar IPR Campos Gerais, inoculada com a estirpe CIAT 899, cujo acúmulo caiu nas doses 60 e 80 kg de N ha⁻¹.

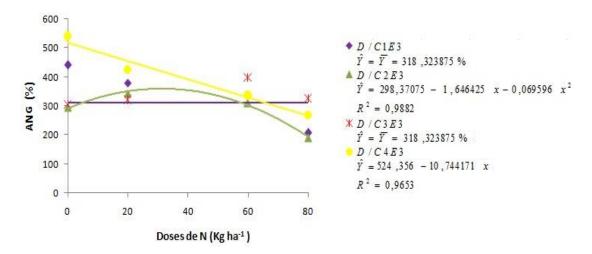


Figura 30 - Gráfico de regressão linear da relação entre acumulo de nitrogênio da parte aérea - ANPA (mg) e doses de nitrogênio (kg ha⁻¹) nas IPR 139 (C1), IPR Campos Gerais (C2), IPR Andorinha(C3) e IPR Tangará (C4), inoculadas com a estirpe CIAT 899 (Maringá/PR).

Quadro 13 – Valores médios de acúmulo de nitrogênio do grão – ANG (g), em função da interação cultivar x dose x estirpe (Maringá/PR)

Dose de N (kg ha ⁻¹)	IPR 139	IPR Campos Gerais	IPR Andorinha	IPR Tangará
		Sem inocula	ıção	
0,0	259,23 b	123,25 b	229,85 b	128,23 b
20	362,90 a	122,45 b	323,32 a	222,62 b
60	342,57 a	302,52 a	202,58 b	292,96 b
80	323,70 a	303,65 a	319,62 a	243,15 a
		UFLA 02 –	127	
0,0	393,02 a	233,45 b	382,45 a	272,35 b
20	302,65 a	263,80 a	213,57 b	253,20 b
60	272,50 b	343,82 a	363,58 a	313,05 a
80	282,44 b	373,57 a	343,25 a	363,92 a
		CIAT 899)	
0,0	343,93 a	202,85 b	232,34 b	183,95 b
20	302,32 a	322,14 b	323,60 a	342,40 a
60	332,90 a	303,28 a	323,82 a	363,17 a
80	393,57 a	313,62 a	304,50 b	

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, para cada estirpe, não diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Quando não houve a aplicação de N na cultivar IPR Tangará, a estirpe UFLA 02-127 promoveu um ANG de 272,45 g. Esse mesmo inoculante foi o melhor para as demais cultivares sem adubação nitrogenada, com 393,02 g para a cultivar IPR 139, 233,45 g para IPR Campos Gerais e 382,45 para IPR Andorinha. Assim como em ANPA, essa foi a melhor estirpe para o mesmo tratamento.

Com a utilização de 20 kg de N ha⁻¹, a melhor estirpe para ANG foi a CIAT 899 para todas as cultivares e, com 60 kg de N há-1, a melhor estirpe foi a UFLA 02-127, exceto para a cultivar IPR 139.

Com a dose de 80 kg de N ha⁻¹, a cultivar IPR 139, inoculada com a estirpe CIAT 899, evidenciou maior ANPA que as sementes inoculadas com a estirpe UFLA 02-127, sendo 393,57, g com CIAT 899, e 282,44, com UFLA 02-127. Nas demais cultivares, a inoculação a estirpe UFLA 02-127 proporcionou as melhores médias de ANG.

5. CONCLUSÕES

Os genótipos de feijão comum submetidos à inoculação com estirpes de *Rhizobium* sp. e adubação nitrogenada apresentaram respostas distintas, evidenciando que as cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais apresentam maior potencial à nodulação, quando comparadas às cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará.

A inoculação com a estirpe UFLA 02-127 nas cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais proporcionou as maiores médias de número e massa seca de nódulos.

Com a adubação nitrogenada, o aumento das doses de N, até o 60kg/há⁻¹ influenciou de forma crescente a produtividade de grãos nas cultivares inoculadas com a estirpe CIAT 899. A estirpe UFLA 02-127, inoculada nas cultivares IPR 139 e IPR Campos Gerais, quando na ausência de N mineral, resultou nas maiores médias de rendimento de grãos obtidas pelas cultivares, enquanto nas cultivares IPR Andorinha e IPR Tangará, a melhor estirpe foi CIAT 899 para o rendimento de grãos.

A aplicação de nitrogênio mineral proporcionou acréscimo no acúmulo de nitrogênio no grão, exceto na cultivar IPR 139, inoculada com a estirpe UFLA 02-127, e na cultivar IPR Campos Gerais, inoculada com a estirpe CIAT 899, cujo acúmulo de nitrogênio caiu nas doses 60 e 80 kg de N ha⁻¹

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, H.C.; PEGORARO, R.F.; VIEIRA, N.M.B.; AMORIM, I.J.F.; KONDO, M.K. Capacidade nodulatória e características agronômicas de feijoeiros comum submetidos à adubação molíbdica parcelada e nitrogenada. **Revista Ciência Agronômica**, 43:214-221, 2012.

ALI., S.F.; LAL, G.; AISWATH, O.P.; CHAHAR, O.P.; CHOUDHARY, S.; MATHEWS, C.; ANWER, M.M. Possibilities and potential of Rhizobial inoculants in organic production of fenugreek in arid and semiarid regions of Rajasthan. **International Journal of Seed Spices**, 2:39-45, 2012.

ALMEIDA, C.; CARVALHO, M.A.C.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. Uréia em cobertura e via foliar em feijoeiro. **Scientia Agricola**, 57:293-298, 2000.

AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology,** 47:996-1006, 1997.

AMBROSANO, E.J.; TANAKA, R.T.; MASCARENHAS, H.A.A.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo.** Campinas: Instituto Agronômico/Fundação ABC, 1997. p. 187-199.

ANDRADE, M.J.B. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenada e molíbdica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência e Agrotecnologia**, 25:934-940, 2001.

ANDREWS, M.; LEA, P.J. Our nitrogen "footprint": the need for increased crop nitrogen use efficiency. **Annals of Applied Biology**, 163:165-169, 2013.

ANGELINI, J.; IBÁÑEZ, F.; TAURIAN, T.; TONELLI, M.L.; VALETTI, L.; FABRA, A. A study on the prevalence of bacteria that occupy nodules within single peanut plants. **Current Microbiology**, 62:1752-1759, 2011.

ANTUNES, J.E.L.; GOMES, R.L.F.; LOPES, A.C.A.; ARAÚJO, A.S.F.; LYRA, M.C.C.P.; FIGUEIREDO, M.V.B. Eficiência simbiótica de isolados de rizóbio noduladores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 35:751-757, 2011.

ARAÚJO, F.F.; CARMONA, F.G.; TIRITAN, C.S.; CRESTE, J.E. Fixação biológica de N_2 no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, 29:535-540, 2007.

ARAÚJO, F.F.; MUNHOZ, R.E.V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 31:435-443, 1996.

ARAUJO, R.S. Fixação biológica do nitrogênio em feijão. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (eds.) Microrganismos de importância agrícola. Brasília: Embrapa/CNPAF, 2008. p. 91-120.

ARF, M.V.; BUZETTI, S.; ARF, O.; KAPPES, C.; FERREIRA, J.P.; GITTI, D.C.; YAMAMOTTO, C.J.T. Fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em fejoeiro de inversno sob sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 41:430-438, 2011.

ARF, O.; RODRIGUES, R.A.F.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; NASCIMENTO, V. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39:131-138, 2004.

BAIS, A.P.; WEIR, T.L.; PERRY, L.G.; GILROY, S.; VIVANCO, J.M. The Role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, 57:233-266, 2006.

BALDONI, A.B.; TEIXEIRA, F.F.; SANTOS, J.B. Controle genético de alguns caracteres relacionados à cor da semente de feijão no cruzamento Rosinha X Esal 693. **Acta Scientiarum**, 24:1427-1431, 2002.

BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247p.

BARBOSA, G.F.; ARF, O.; NASCIMENTO, M.S.; BUZETTI, S.; FREDDI, O.S. Nitrogênio em cobertura e molibdênio foliar no feijoeiro de inverno. **Acta Scientiarum Agronomy**, 32:117-123, 2010.

BASSAN, D.A.Z.; ARF, O.; BUZETTI, S.; CARVALHO, M.A.C.; SANTOS, N.C.B.; SÁ, M.E. Inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio e molibdênio na cultura do feijão de inverno: produção e qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, 23:76-83, 2001.

BERNHARD, A. The nitrogen cycle: processes, players, and human impact. **Nature Education Knowledge**, 2:11-12, 2010.

BERRADA, H.; NOUIOU, I.; IRAQUI HOUSSAINI, M.; GHACHTOULI, N.E.L; GTARI, M.; FIKRI BENBRAHIM, K. Phenotypic and genotypic characterizations of rhizobia isolated from root nodules of multiple legume species native of Fez, Morocco. **African Journal of Microbiology Research**, 6:5314-5324, 2012.

BERRY, J.O.; ATHERLY, A.G. Induced plasmid-genome rearrangements in *Rhizobium japonicum*. **Journal of Bacteriology**, 157:218-224, 1984.

BISCARO, G.A.; FREITAS JUNIOR, N.A.; SORATTO, R.P.; KIKUTI, H.; GOULART JUNIOR, S.A.R.; AGUIERRE, W.N. Nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar no feijoeiro irrigado cultivado em solo de cerrado. **Acta Scientiarum Agronomy**, 33:665-670, 2011.

BITOCCHI, E.; ELISA BELLUCCI, E.; GIARDINI, A.; RAU, D.; RODRIGUEZ, M.; BIAGETTI, E.; RODOLFO SANTILOCCHI, R.; SPAGNOLETTI ZEULI, P.; GIOIA, T.; GIUSEPPINA LOGOZZO, G.; ATTENE, G.; NANNI, L.; PAPA, R. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. **New Phytologist**, 197:300–313, 2013.

BLISS, F.A. Breeding common bean for improvement of biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, 152:71-79, 1993.

BRENCIC, A.; WINANS, S.C. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 69:155-194, 2005.

BRITO, M.M.P.; MURAOKA, T.; SILVA, E.C. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, 70:206-215, 2011.

BROM, S.; GIRARD L.; GARCÍA-DE LOS SANTOS, A.; SANJUÁN-PINILLA, J.M.; OLIVARES, J.; SANJUÁN, J. Conservation of plasmid-encoded traits among bean-nodulating Rhizobium species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 68:2555-2561, 2002.

BROUGHTON, W.J.; HERNA'NDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDER-LEYDEN, J. BEAN (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. **Plant Soil**, 252:55–128, 2003.

BURLE, M.L.; FONSECA, J.R.; KAMI, J.A.; GEPTS, P. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, 121:801-813, 2010.

CABALLERO, S.V.; LIBARDI, P.L.; REICHARDT, K.; MATSUI, E.; VICTORIA, R.L. Utilização de fertilizante nitrogenado aplicado a uma cultura de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 20: 1031-1040, 1985.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; BARROS, N.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (eds.) **Fertilidade do solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

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

CARLSSON, G.; HUSS-DANELL K. Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. **Plant and Soil**, 253:353-372, 2003.

CARVALHO, J.J.; SAAD, J.C.C.; CUNHA, F.N.; SILVA, N.F.; TEIXEIRA, M.B. Manejo de irrigação no feijoeiro, cultivado em semeadura direta e convencional, Revista **Brasileira de Agricultura Irrigada**, 8:52-63, 2014.

CARVALHO, M.A.C.; FURLANI JUNIOR, E.; ARF, O.; SÁ, M.E.; PAULINO, H.B.; BUZETTI, S. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio e de teores foliares deste nutriente e de clorofila em feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27:445-450, 2003.

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

CEPEF – Comissão Estadual de Pesquisa de Feijão. Feijão: recomendações técnicas para cultivo de feijão no Rio Grande do Sul. Erechim: São Cristóvão, 2001. 112p.

CHACÓN, S.M.I.; PICKERSGILL, B.; DEBOUCK, D.G. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. **Theoretical and Applied Genetics**, 110:432-444, 2005.

CHAGAS, E.; ARAÚJO, A.P.; ALVES, B.J.R.; TEIXEIRA, M.G.T. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by ¹⁵N isotope dilution. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 34:1093-1101, 2010.

CHAGAS, J.M.; BRAGA, J.M.; VIEIRA, C.; SALGADO, L.T.; JUNQUEIRA NETO, A.; ARAÚJO, G.A.A.; ANDRADE, M.J.B.; LANA, R.M.Q.; RIBEIRO, A.C. Feijão. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.V.H. (ed.). Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação. Viçosa: CFSEMG, 1999. p. 306-307.

CHUBATSU, L.S.; MONTEIRO, R.A.; SOUZA, E.M.; OLIVEIRA, M.A.S.; YATES, M.G.; WASSEM, R.; BONATTO, A.C.; HUERGO, L.F.; STEFFENS, M.B.R.; RIGO, L.U.; PEDROSA, F.O. Nitrogen fixation control in *Herbaspirillum seropedica*. **Plant Soil**, 356:197-207, 2012.

CHUEIRE, L.M.O.; BANGEL, E.V.; MOSTASSO, F.L.; CAMPO, R.J.; PEDROSA, F.O.; HUNGRIA, M. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 27:833-840, 2003.

COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO. Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira. Florianópolis: Epagri, 2012. 157p.

CONAB. Campanhia Nacional de Abastecimento. **1º Levantamento grãos safra 2014/2015b- out/2014**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_11_08_12_38_56_boletim_portugues_outubro_2013.pdf >. Acesso em: 30, dezembro, 2014.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores da agropecuária**. Brasília: Conab, 2014. 17p.

COOPER, J.E. Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. **Journal of Applied Microbiology**, 103:1355-1365, 2007.

CRAWFORD, N.M.; GLASS, A.D.M. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. **Trends Plant Science**, 3:389-395, 1998.

CREWS, T.A. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 102:279-297, 2004.

D'HAEZE, W.; HOLSTERS, M. Surface polysaccharides enable bacteria to evade plant immunity. **Trends Microbiol**ogy, 12:555–561, 2004.

DANIEL, M.; PIERRE, F.; RUBEN, L.; ANA, Z.; ALAIN, P.; CESAR, A.L.; ESTHER, M.G. Nitrogen Fixation Control under Drought Stress: Localized or Systemic? **Plant Physiology**, 143:1968-1974, 2007.

DEKA, A.K.; AZAD, P.; PATRA, S.C. Survival of *Rhizobium* in soil at different pH, temperature and moisture levels. **Ecology, Environment and Conservation Paper**, 12:751-754, 2006.

DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C. Potencial de rendimento da cultura de feijoeiro comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 131p.

DELGADO-SALINAS, A.; BIBLER, R.; LAVIN, M. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. **Systematic Botany**, 31:779-791, 2006.

DENISON, R.F.; HARTER, B.L. Nitrate effects on nodule oxygen permeability and leghemoglobin (nodule oximetry and computer modeling). **Plant Physiology**, 107:1355-1364, 1995.

DIAS, P.C.; PEREIRA, M.S.F.; KASUYA, M.C.M.; PAIVA, H.N.; OLIVEIRA, L.S.; XAVIER, A. Micorriza arbuscular e rizóbios no enraizamento e nutrição de mudas de angico-vermelho. **Revista Árvore**, 36:1027-1037, 2012.

DÍAZ, L.M.; BLAIR, M.W. Race structure within the Mesoamerican gene pool of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as determined by microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 114:143-154, 2006.

DIDONET, A.D. Ecofisiologia e rendimento potencial do feijoeiro. In: DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C. (ed.). **Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 9-37.

DJORDJEVIC, M.A.; ZURKOWSKI, W.; SHINE, J.; ROLFE, B.G. Sym plasmid transfer to various symbiotic mutants of *Rhizobium trifolii*, *R. leguminosarum*, and *R. meliloti*. **Journal of Bacteriology**, 156:1035-1045, 1983.

DOWNIE, J.A. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots. **FEMS Microbiology Reviews**, 34:150-170, 2009.

DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.; BODDEY, R.M. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of the N₂ fixation using ¹⁵N. **Plant and Soil**, 88:333-43, 1985.

DZIEWIT, L.; CEGIELSKI, A.; ROMANIUK, K.; UHRYNOWSKI, W.; SZYCH, A.; NIESIOBEDZKI,P.; BARANOWSKA, M.J.Z.; ZDANOWSKI, M.K.; BARTOSIK, D.

Plasmid diversity in arctic strains of *Psychrobacter* spp. **Extremophiles**, 17:433–444, 2013.

EARDLY, B.D.; WANG, F.S.; WHITTAM, T.S.; SELANDER, R.K. Species limits in *Rhizobium* populations that nodulate the common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Applied and Environmental Microbiology**, 61:507-512, 1995.

EINSLE, O.; TEZCAN, F.A.; ANDRADE, S.L.; SCHMIDT, B.; YOSHIDA, M.; HOWARD, J.B.; REES, D.C. Nitrogenase MoFe-protein at 1.16 a resolution: a central ligand in the FeMo-cofactor. **Science**, 297:1696-1700, 2002.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação dos solos.** Rio de Janeiro: Embrapa-CNPSo, 1999. 28p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária e Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia, 2003. 20p.

FARINELLI, R.F.; LEMOS, L.B.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão em função de sistemas de manejo de solo e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Sementes**, 28:102-109, 2006.

FERGUSON, B.J.; INDRASUMUNAR, A.; HAYASHI, S.; LIN, M.H.; LIN, Y.H.; REID, D.E.; GRESSHOFF, P.M. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, 52:61–76, 2010.

FERNANDES, C.P.C.; BRAZ, A.J.B.P.; PROCÓPIO, S.O.; DAN, H.A.; BRAZ, G.B.P.; BARROSO, A.L.L.; MENEZES, C.C.E.; SIMON, G.A.; BRAZ, L.B.P. Seletividade de herbicidas registrados para uso em pré e pós-emergência na cultura da cana-deaçúcar ao feijoeiro. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, 6:8-21, 2012.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. Etapas de desarollo em la planta de frijol. In: LÓPEZ, M.; FERNANDEZ, F.; SCHOOWHOVEN, A. **Frijol, investigación y producción**. Colômbia: CIAT, 1985. p. 61-80.

FERREIRA, A.C.B.; ANDRADE, M.J.B.; ARAÚJO, G.A.A. Nutrição e adubação do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, 25:61-72, 2004.

FERREIRA, A.N.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C. Rhizobium tropici strains for inoculation of the common bean. **Scientia Agricola**, 57:507-512.

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

FERREIRA, P.A.A.; SILVA, M.A.P.; CASSETARI, A.; RUFINI, M.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, 39:2210-2212, 2009.

FIGUEIREDO, M.A. Inoculação com *Rhizobium spp.* e adubações nitrogenada e molíbdica no feijoeiro-comum. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2012. 99p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia).

FIGUEIREDO, M.V.B.; EGÍDIO, B.N.; BURITY, H.A. Water stress response on the enzymatic activity in cowpea nodules. **Brazilian Journal of Microbiology**, 32:195-200, 2001.

FINLEY, J.W.; BURRELL, J.; REEVES, P.G.; Pinto bean consumption changes SCFA profiles in fecal fermentations, bacterial populations of the lower bowel and lipid profiles in blood of human. **Journal of Nutrition**, 137:2391-2398, 2007.

FONSECA, G.G.; OLIVEIRA, D.P.; SOARES, B.L.; FERREIRA, P.A.A.; TEIXEIRA, C.M.; MARTINS, F.A.D.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B. Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. **Bioscience Journal**, 29:1778-1787, 2013.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant Soil**, 321:35-59, 2009.

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

FULLIN, E.A.; ZANGRANDE, M.B.; LANI, J.A.; MENDONÇA, L.F.; DESSAUNE FILHO, N. Nitrogênio e molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 34:1145-1149, 1999.

GAGE, D. J.Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 68:280-300, 2004.

GALLOWAY, J.N.; COWLING, E.B. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. **Ambio**, 31:64-67, 2009.

GALLOWAY, J.N.; DENTENER, F.J.; CAPONE, D.G.; BOYER, E.W.; HOWARTH, R.W.; SEITZINGER, S.P.; ASNER, G.P.; CLEVELAND, C.C.; GREEN, P.A.; HOLLAND, E.A.; KARL, D.M.; MICHAEL, A.F.; PORTER, J.H.; TOWNSEND, A.R.; VÖRÖSMARTY, C.J. Nitrogen Cycles: Past, Present, and Future. **Biogeochemistry**, 70:153-226, 2004.

GARCIA-FRAILE, P.; MULAS-GARCIA, D.; PEIX, A.; RIVAS, R.; GONZALEZ-ANDRES, F.; VELAZQUEZ, E. *Phaseolus vulgaris* is nodulated in northern Spain by *Rhizobium leguminosarum* strains harboring two *nodC* alleles present in American *Rhizobium etli* strains: biogeographical and evolutionary implications. **Canadian Journal of Microbiology**, 56:657–666, 2010.

GEETHA, S.J.; JOSHI, S.J. Engineering Rhizobial Bioinoculants: A Strategy to Improve Iron Nutrition. **The Scientific World Journal**, 213:1-15, 2013.

GEORGIADIS, M.M.; KOMIYA, H.; CHAKRABARTI, P.; WOO, D.; KORNUC, J.J.; REES, D.C. Crystallographic structure of the nitrogenase iron protein from *Azotobacter vinelandii*. **Science**, 257:1653-1659, 1992.

GEPTS, P. Origin and evolution of common bean: Past events and recent trends. **HortScience**, 33:1124-1130, 1998.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: SCHOONHOVEN, A.; VOYSEST, O. **Common beans:** research for crop improvement. Cali: CIAT, 1991. p. 7-53.

GIRARD, M.L.; FLORES, M.; BROM, S.; ROMERO, D.; PALACIOS R.; DÁVILA, G. Structural complexity of the symbiotic plasmid of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli.* **Journal Bacteriology**, 173:2411–2419, 1991.

GLIESSMAN, S.R. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: UFRGS, 653p.

GOMES, D.F.; BATISTA, J.S.S.; SCHIAVON, A.L. ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Proteomic profiling of *Rhizobium tropici* PRF 81: identification of conserved and specific responses to heat stress. **BMC Microbiology**, 12:1-12, 2012.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; BONETT, L.P.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A. AND RIBEIRO, A.S. Genetic control on the performance of common bean differential cultivars to *Colletotrichum lindemuthianum* races. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50:579-586, 2007.

GONZÁLEZ, T.O.; CAMPANHARO, J.C.; LEMOS, E.G.M. Genetic characterization and nitrogen fixation capacity of *Rhizobium* strains on common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43:1177-1184, 2008.

GONZÁLEZ, V.; ACOSTA, J.L.; SANTAMARÍA, R.I.; BUSTOS, P.; FERNÁNDEZ, JL.; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, I.L.; DÍAZ, R.; FLORES, M.; PALACIOS, R.; MORA, J.; DÁVILA, G. Conserved symbiotic plasmid DNA sequences in the multireplicon pangenomic structure of *Rhizobium etli*. **Applied Environmental Microbiology**, 76:1604–1614, 2010.

GONZÁLEZ, V.; SANTAMARÍA, R.I.; BUSTOS, P.; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, I.; MEDRANO-SOTO, A.; MORENO-HAGELSIEB, G.; JANGA, S.C.; RAMÍREZ, M.A.; JIMÉNEZ-JACINTO, V.; COLLADO-VIDES, J.; DÁVILA, G. The partitioned *Rhizobium etli* genome: genetic and metabolic redundancy in seven interacting replicons. **Proceedings of the National Academy Sciences of the Unitet States of America**, 103:3834–3839, 2006.

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

GRANGE, L.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris*) rhizobia in two Brazilian ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, 36:1389-1398, 2004.

GTARI, M.; GHODHBANE-GTARI, F.; NOUIOUI, I.; BEAUCHEMIN, N.; TISA, L.S. Phylogenetic perspectives of nitrogen-fixing actinobacteria. **Archives of Microbiology**, 194:3-11, 2012.

HALBLEIB, C.M.; LUDDEN, P.W. Regulation of biological nitrogen fixation. **The Journal of Nutrition**, 130:1081-1084.

HANNAH, M.A.; IQBAL, M.J.; SANDERS, F.E. The DL genes system in common bean: a possible mechanism for control of root-shoot partitioning. **New Phytologyst**, 147:487-496, 2000.

HARLAN, J.R. Geographic patters of variation in some cultivated plants. **Journal of Heredity**, 66:184-191, 1975.

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

HATICE, O.; ÖMER, F.; ERDAL, E.; FAIK, K. The determination of symbiotic effectiveness of *Rhizobium* strains isolated from wild chickpeas collected from high altitudes in Erzurum. **Turkish Journal of Agriculture and Forest**, 32:241-248, 2008.

HERNÁNDEZ-SALMERÓN, J.E.; SANTOYO, G. Phylogenetic analysis reveals gene conversions in multigene families of rhizobia. **Genetics Molecular Research**, 10:1383-1392, 2011.

HERNÁNDEZ-SALMERÓN, J.E.; VALENCIA-CANTERO, E.; SANTOYO, G. Genome-wide analysis of long, exact DNA repeats in rhizobia. **Genes and Genomics**, 35:441-449, 2013.

HU, Y.; FAY, A.W.; LEE, C.C.; RIBBE, M.W. P-cluster maturation on nitrogenase MoFe protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 104:10424-10429, 2007.

HUERGO, L.F.; PEDROSA, F.O.; MULLER-SANTOS, M.; CHUBATSU, L.S.; MONTEIRO, R.A.; MERRICK, M.; SOUZA, E.M. PII signal transduction proteins: pivotal players in post-translational control of nitrogenase activity. **Microbiology**, 158:176-190, 2012.

HUGHES, D. Evaluating genome dynamics: the constraints on rearrangements within bacterial genomes. **Genome Biology**, 6:1-8, 2000.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.M.O.; PROBANZA, A.; GUTIERREZ-MANERO, F.J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, 32:1515-1528, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of common bean (*Phaseolus. vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, 39:88–93, 2003.

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

HUNGRIA, M.; RANCO, A.A.; SPRENT, J.I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Soil**, 149:103-109, 1993.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, 19:819-830, 1997.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; ARAÚJO, R.S. Fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos Cerrados.** Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. p. 187-258.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J.; CHUEIRE, L.M.O.; ANDRADE, D.D.S.: The Brazilian experience with the soybean (*Glycine max*) and common bean

(*Phaseolus vulgaris*) symbioses. Nitrogen Fixation: **From Molecules to Crop Productivity**, 38:515-518, 2000.

IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná. **Principais características das cultivares de feijão com sementes disponíveis no mercado.** Disponível em: http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>. Acesso em: 22, janeiro, 2015.

JANCZAREK, M. Environmental Signals and regulatory pathways that influence exopolysaccharide production in rhizobia. **International Journal of Molecular Sciences**, 12:7898-7933, 2011.

JENSEN, E.S.; PEOPLES, M.B.; BODDEY, R.M.; GRESSHOFF, P.M.; HAUGGAARD-NIELSEN, H.; ALVES, B.J.R.; MORRISON, M.J. Legumes for mitigation of climate change and feedstock in a bio-based economy – A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 32:329-364, 2012.

JONES, K.M.; KOBAYASHI, H.; DAVIES, B.W.; TAGA, M.E.; WALKER, G.C. How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. **Nature Reviews Microbiology**, 5:619-633, 2007.

JORDAN, D.C. Family III rhizobiaceae. Conn. 1938. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. (eds.). **Bergey's manual of systematic bacteriology.** Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. p. 235-244.

JORGE, J.A. Solo: manejo e adubação. São Paulo. Nobel, 1988. 123p.

KANEKO, F.H.; ARF, O.; GITTI, D.C.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; BUZETTI, S. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, 69:125-133, 2010.

KIM, Y.S.; KWON, S.J.; KANG, S.W. Malonyl-CoA synthetase from *Rhizobium trifolii*. **Biochemical Journal**, 26:176–183, 1993.

KING, C.A.; PURCELL. Inhibition of N_2 fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiology**,137:1389-1396, 2005.

KRÓL, J.E.; MAZUR, A.; MARCZAK, M.; SKORUPSKA, A. Syntenic arrangements of the surface polysaccharide biosynthesis genes in *Rhizobium leguminosarum*. **Genomics**, 89:237-247, 2007.

KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, 118:979-992, 2009.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OLKIN, I. (ed.). **Contributions to probability and statistics**. Palo Alto: Stanford University Press, 1960. p. 278-292.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. (eds.). Legumes of the World. Kew: Royal Botanic Gardens, 2005. 577p.

LILLIEFORS, H.W. On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. **Journal of the American Statistical Association**, 62:399-402, 1967.

LINDBLAD, L.; GUERREIRO, M.G. Nitrogen fixation and nitrate reduction. In: HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P. **Photosynthesis and production in a changing environment:** a field and laboratory manual. London: UNEP, 1993. 477p.

LOPES, A.S.; OLIVEIRA, G.Q.; SOUTO FILHO, S.N.; GOES, R.J.; CAMACHO, M.A. Manejo de irrigação e nitrogênio no feijoeiro comum cultivado em sistema plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, 42:51-56, 2011.

LÓPEZ-GUERRERO, M.G.; ERNESTO ORMEÑO-ORRILLO, E.; ACOSTA, J.L.; MENDOZA-VARGAS, A.; ROGEL, M.A.; RAMÍREZ, M.A.; ROSENBLUETH, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, J.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Rhizobial extrachromosomal replicon variability, stability and expression in natural niches. **Plasmid**, 68:149–158, 2012.

MACHADO, A.F.L.; CAMARGO, A.P.M.; FERREIRA, L.R.; SEDIYAMA, T.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G. Misturas de herbicidas no manejo de plantas daninhas na cultura do feijão. **Planta Daninha**, 24:107-114, 2006.

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

MAMIDI, S.; ROSSI, M.; ANNAM, D.; MOGHADDAM, S.; LEE, R.; PAPA, R.; MCCLEAN, P. Investigation of the domestication of common bean (*Phaseolus vulgaris*) using multilocus sequence data. **Functional Plant Biology**, 38:953–967, 2011.

MAPOPE, N.; DAKORA, F.D. Role of Flavonoid and Isoflavonoid Molecules in Symbiotic Functioning and Host-Plant Defence in the Leguminosae. In: GURIB-FAKIM, A.; ELOFF, J.N. (eds.). **Chemistry for sustainable development in Africa**, 2013. p. 33-48.

MARSALLA, J.; KIM, B.; HALDEN, R.U. Analysis of crop rotations in the U.S. breadbasket using legumes and alternative to industrially-produced fertilizer. **Journal of Agricultural Science and Applications**, 2:169-174, 2013.

MARTINEZ, E.; PRADO, M.; PALÁCIOS, R.; CEVAKKOS, M.A. Reiteration of nitrogen fixation gene sequences and specificity of *Rhizobium* in nodulation and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of General Microbiology**, 139:1779-1786, 1985.

MARTINEZ-ROMERO, E. Recent developments in *Rhizobium* taxonomy. **Plant Soil** 161:11-20, 1994.

MARTINEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium–Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, 252:11-23, 2003.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; ROSENBLUETH, M. Increased bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodulation competitiveness of genetically modified *Rhizobium* strains. **Applied** and **Environmental Microbiology**, 56:2384-2388, 1990.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, E.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P.H.; PARDO, M.A. Rhizobium tropici, a novel species nodulating Phaseolus vulgaris L. beans and Leucaena sp. trees. International Journal of Systematic Bacteriology, Washington, 41:417-426, 1991.

MATHESIUS, U. Conservation and divergence of signalling pathways between roots and soil microbes – the *Rhizobium*-legume symbiosis compared to the development of lateral roots, mycorrhizal interactions and nematode-induced galls. **Plant and Soil**, 255:105-119, 2003.

MATOSO, S.C.; KUSDRA, J.F. Nodulação e crescimento do feijoeiro em resposta à aplicação de molibdênio e inoculante rizobiano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 18:567–573, 2014.

MAZUR, A.; STASIAK, G.; WIELBO, J.; KOPER, P.; KUBIK-KOMAR, A.; SKORUPSKA, A. Phenotype profiling of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* clover nodule isolates reveal their both versatile and specialized metabolic capabilities. **Archives of Microbiology**, 195:255–267, 2013.

MAZUR, A.; STASIAK, G.; WIELBO, J.; KUBIK-KOMAR, A.; MAREK-KOZACZUK, M.; SKORUPSKA, A. Intragenomic diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* clover nodule isolates. **BMC Microbiology**, 11:123-132, 2011.

MEGAERT, P.; UCHIUMI, T.; ALUNNI, B.; EVANNO, G.; CHERON, A.; CATRICE, O.; MAUSSET, A.E.; BARLOY-HUBLER, F.; GALIBERT, F.; KONDOROSI, A.; KONDOROSI, E. Eukaryotic control a bacterial cell cycle and differentiation in the *Rhizobium*-legume symbiosis. **Plant Biology**, 103:5230-5235, 2006.

MEIRA, F.A.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; ARF, O. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40:383-388, 2005.

MELLO, F.A.F.; BRASIL SOBRINHO, M.O.C.; ARZOLLA, S.; SILVEIRA, R.I.; COBRA NETTO, A.; KIEHL, J.C. **Fertilidade do solo**. Nobel: São Paulo, 1989. 400p.

MELLONI, R.; MOREIRA, F.M.S.; NÓBREGA, R.S.A.; SIQUEIRA, J.O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:235-246, 2006.

MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.; VARGAS, M.A.T. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 18:421-5, 1995.

MENNA, P.; HUNGRIA, M. Phylogeny of nodulation and nitrogen-fixation genes in *Bradyrhizobium*: supporting evidence for the theory of monophyletic origin, and spread and maintenance by both horizontal and vertical transfer. **Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 61:3052-3067, 2011.

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

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABBOUD, A.C.S.; FRANCO, A.A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. **Revista** da **Universidade Rural – Série Ciências da Vida,** 21:127-146, 1999.

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABBOUD, A.C.S.; FRANCO, A.A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. **Revista** da **Universidade Rural – Série Ciências da Vida,** 21:127-146, 2002.

MIKLAS, P.N.; KELLY, J.D.; BEEBE, S.E.; BLAIR, M.W. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. **Euphytica**,147:105-131, 2006.

MIRANSARI, M.; RIAHI, H.; EFTEKHAR, F.; MINAIE, A.; SMITH, D.L. Improving soybean (*Glycine max* L.) N_2 fixation under stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, 32:909-921, 2013.

MODA-CIRINO, V.; GERAGE, A.C.; RIEDE, C.R.; SERA,G.H.; TAKAHASHI,M.; ABBUD, N.S.; NAZARENO, N.R.X.; P.M.; AULER, P.M.; YAMAOKA, R.S.; SERA,T.; ALMEIDA, W.P. Plant breeding at Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 52:25-30, 2012.

MORAES, W.B.; MARTINS FILHO, S.; GARCIA, G.O.; CAETANO, S.P.; MORAES, W.B.; COSMI, F.C. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **Idesia**, 28:61-68, 2010.

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

MOREIRA, G.B.L.; PEGORARO, R.F.; VIEIRA, N.M.B.; BORGES, I.; KONDO, M.K. Desempenho agronômico do feijoeiro com doses de nitrogênio em semeadura e cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17:818-823, 2013.

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

MUNDSTOCK, C.M.; THOMAS, A.L. **Soja:** fatores que afetam o crescimento e o rendimento dos grãos. Porto Alegre: Universidade do Rio Grande do Sul - Departamento de plantas de Lavoura, 2005. 31p.

NANNI, L.; BITOCHI, E.; BELLUCCI, E.; ROSSI, M.; RAU, D.; ATTENE, G.; GEPTS, P.; PAPA, R. Nucleotide diversity of a genomic sequence similar to SHATTERPROOF (PvSHP1) in domesticated and wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, 123:1341-1357, 2011.

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

NOTI, J.D.; DUDAS, B.; SZALAY, A.A. Isolation and characterization of nodulation genes from *Bradyrhizobium* sp. (*Vigna*) strain IRc78. **Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.**, 82:7379-7383, 1985.

OKAZAKI, S.; NUKUI, N.; SUGAWARA, M.; MINAMISAWA, K. Rhizobial strategies to enhance symbiotic interactions: rhizobitoxine and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. **Microbes and Environments**, 19:99-111, 2004.

OLDROYD, G.E.; DOWNIE, J.A. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. **Annual Review Plant Biology**, 59:519-546, 2008.

OLDROYD, G.E.; MURRAY, J.D.; POOLE, P.S.; DOWNIE, JA. The rule of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. **Annual Review Genetics**, 45:119-144, 2011.

OLIVARES, J.; BEDMAR, E.J.; SANJUÁN, J. Biological nitrogen fixation in the context of global change. **Molecular Plant Microbe Interactions**, 26:486-494, 2013.

OLIVEIRA, R.L.; MUNIZ, J.A.; ANDRADE, M.J.B.; REIS, R.L. Precisão experimental em ensaios com a cultura do feijão. **Ciência e Agrotecnologia**, 33:113-119, 2009.

ORMEÑO-ORRILLO, E.; MENNA, P.; ALMEIDA, L.G.P.A.; OLLERO, F.J.; NICOLÁS, M.F.; RODRIGUES, E.P.; NAKATANI, A.S.; BATISTA, J.S.S.; CHUEIRE, L.M.O.; SOUZA, R.C.; VASCONCELOS, A.T.R.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Genomic basis of broad host range and environmental adaptability of *Rhizobium tropici* CIAT 899 and *Rhizobium* sp. PRF 81 which are used in inoculants for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Genomics**, 13:735-761, 2012.

OROZCO-MOSQUEDA, M.C.; ALTAMIRANO-HERNÁNDEZ, J.; FARIAS-RODRÍGUEZ, R.; VALENCIA-CANTERO, E.; SANTOYO, G. Homologus recombination and dynamics of rhizobial genomes. **Research in Microbiology**, 160:733-741, 2009.

PALACIOS, R.; CASTILLO, M.; FLORES, M.; HERNÁNDEZ, G.; MAVINGUI, P.;ROMERO, D. Dynamics of the *Rhizobium* genome. In: TIKHONOVICH, I.A.; ROMANOV, V.J.; PROVOROV, N.A.; NEWTON, W.E. (eds.) **Nitrogen fixation:** fundamentals and applications. Dodrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 353-357.

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

PEREIRA, P.A.A. Fixação biológica de nitrogênio do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, 8:41-46, 1982.

PETTERS, J.W.; SZILAGYI, R.K. Exploring new frontiers of nitrogenase structure and mechanism. **Current Opinion in Chemical Biology**, 10:101-108, 2006.

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

RADEMAKER, J.L.W.; LOUWS, F.J.; BRUIJN, F.J. Characterization of the diversity of ecologically important microbes by rep-PCR genomic fingerprinting. In: AKKERMANS, A.D.L; VAN ELSAS, J.D.; DE BRUIJN, F.J. (eds.). **Molecular microbial ecology manual**. Dordrecht: Kluwer, 1998. p.1-26.

RAIJ, B. VAN. Nitrogênio. In: **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Ceres, 1991. 343p.

RAMOS, D.P.; SOUSA, S.A.; OLIVEIRA, T.C.; GONÇALVES, G.M.O.; PASSOS, N.G.; FIDELIS, R.R. Adubação nitrogenada no feijoeiro comum irrigado em diferentes épocas, com e sem parcelamento das doses. **Biotemas**, 27:9-21, 2014.

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

REED, S.C.; CLEVELAND, C.C.; TOWNSEND, A.R. Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, 42:489-512, 2011.

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

RIBEIRO, R.A.; ROGEL, M.A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; BARCELLOS, F.G.; MARTÍNEZ, J.; THOMPSON, F.L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Reclassification or *Rhizobium tropici* type A strains as *Rhizobium leucaenae* sp. Nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 62:1179-1184, 2011.

ROBERTSON, G.; VITOUSEK, P.M. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. **Annual Review of Environment and Resources**, 34:97-125, 2009.

ROGEL, M.A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; MARTÍNEZ ROMERO, E. Symbiovars in rhizobia reflect bacterial adaptation to legumes. **Systematic Applied Microbiology**, 34:96–104, 2011.

ROMANINI JUNIOR, A.; ARF, O.; BINOTTI, F.F.S.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; FERNANDES, F.A. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, 23:74-82, 2007.

ROSADO, A.S.; DUARTE, G.F.; SELDIN, L.; VAN ELSAS, J.D. Genetic diversity of *nif*H gene sequences in *Paenibacillus azotofixans* strains and soil samples analysed bydenaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments. **Applied and Environmental Microbiology**, 64:2770-2779, 1998.

ROSE, C.M.; VENKATESHWARAN, M.; VOLKENING, J.D.; GRIMSRUD, P.A.; MAEDA, J.; BAILEY, D.J.; PARK, K.; HOWES-PODOLL, M.; DEN OS, D.; YEUN, L.H.; WESTPHALL, M.S.; SUSSMAN, M.R.; ANÉ, J.M.; COON, J.J. Rapid phosphoproteomic and transcriptomic changes in the rhizobia-legume symbiosis. **Mollecular and Cellular Proteomics**, 11:724-744, 2012.

RUBIO, L.M.; LUDDEN, P.W. Maturation of nitrogenase: a Biochemical puzzle. **Journal of Bacteriology**, 187:405-414, 2005.

RUBIO, L.M.; LUDDEN, P.W. Biosyntesis of the iron molybdenum cofator of nitrogenase. **Annual Review of Microbiology**, 62:93-111, 2008.

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

SAAD, M.M.; CRÈVECOEUR, M.; MASSON-BOIVIN, C.; PERRET, X. The type 3 protein secretion system of cupriavidus taiwanensis strain LMG19424 compromises

symbiosis with *Leucaena leucocephala*. **Applied Environmental Microbiology**, 78:7476-7479, 2012.

SAMPAIO, E.V.S.B. Fitossociologia. In: SAMPAIO, E.V.S.B.; MAYO, S.J.; BARBOSA, M.R.V. () **Pesquisa botânica nordestina: progresso e perspectivas.** Recife: Sociedade Botânica do Brasil, 1996. p. 203-224.

SÁNCHES, E.; SOTO, J.M.; NÚÑEZ, A.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Biosynthesis of non-structural carbohydrates and their distribution in greenbean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike): deficiency vs toxicity of nitrogen. **Revista Fitotecnia Mexicana**, 28:55-61, 2005.

SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany**, 111:743-767, 2013.

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

SANTOS, J.B.; GAVILANES, M.L. Botânica. In: VIEIRA, E.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. (eds.). **Feijão.** Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 41-65.

SANTOS, M.A.; GERALDI, I.O.; GARCIA, A.A.F.; BORTOLATTO, N.; ALINE SCHIAVON, A.; HUNGRIA, M. Mapping of QTLs associated with biological nitrogen fixation traits in soybean. **Hereditas**, 150:17-25, 2013.

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

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P.. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 55p.

SCHEIBLE, WOLF-RÜDIGER, MORCUENDE, R.; CZECHOWSKI, T.; FRITZ, C.; OSUNA, D.; PALACIOS-ROJAS, N.; SCHINDELASCH, D.; THIMM, O.; UDVARDI, M.K.; STITT, M. Genome-wide reprogramming of primary and secondary

metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. **Plant Physiology**, 136:2483-2499, 2004.

SCHMEISSER, C.; LIESEGANG, H.; KRYSCIAK, D.; BAKKOU, N.; LE QUERE, A.; WOLLHERR, A.; HEINEMEYER, I.; MORGENSTERN, B.; POMMERENING-RÖSER, A.; FLORES, M.; PALACIOS, R.; BRENNER, S.; GOTTSCHALK, G.; SCHMITZ, R.A.; BROUGHTON, W.J.; PERRET, X.; STRITTMATTER, A.W.; STREIT, W.R. *Rhizobium* sp. strain NGR234 possesses a remarkable number of secretion systems. **Applied Environmental Microbiology**, 75:4035–4045, 2009.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, 30:507-512, 1974.

SEEFELDT, L.C.; HOFFMAN, B.M.; DEAN, D.R. Mechanism of Mo-dependent nitrogenase. **Annual Review of Biochemistry**, 78:701-722, 2009.

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

SHRIDHAR, B.S. Review: Nitrogen fixing microorganisms. International **Journal of Microbiological Research**, 3:46-52, 2012.

SILVA, A.F.; CARVALHO, M.A.C.; SCHONINGER, E.L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; SANTOS, P.A. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, 27:404-412, 2011.

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

SILVA, L.M.; LEMOS, L.B.; CRUSCIOL, C.A.C.; FELTRAN, J.C. Sistema radicular de cultivares de feijão em resposta à calagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39:701-707, 2004.

SILVA, T.R.B.; SORATTO, R.P.; ARF, O.; TAVARES, C.A. Adubação nitrogenada e resíduos vegetais no N total e proteína bruta nas sementes de feijoeiro em sistema de plantio direto. **Revista de Agricultura**, 79:62-69, 2004.

SILVA, V.N.; SILVA, L.E.S.F.; FIGUEIREDO, M.V.B.; CARVALHO, F.G.; SILVA, M.L.R.B.; SILVA, A.J.N. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semi-árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 37:16-21, 2007.

SKORUPSKA, A.; JANCZAREK, M.; MARCZAK, M.; MAZUR, A.; KRÓL, J. Rhizobial exopolysaccharides: genetic control and symbiotic functions. **Microbial Cell Factories**, 5:1-19, 2006.

SLATTERY, J.F.; PEARCE, D.J.; SLATTERY, W.J. Effects of resident rhizobial communities and soil type on the effective nodulation of pulse legumes. **Soil Biology Biochemistry**, 36:1339-1346, 2004.

SOARES, A.L.L.; PEREIRA, J.P.A.R.; FERREIRA, P.A.A.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, MG – Il-Feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, 30:803-811, 2006.

SORATTO, R.P.; CARVALHO, M.A.C.; ARF, O. Nitrogênio em cobertura no feijoeiro cultivado em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:259-265, 2006.

SORATTO, R.P.; CRUSCIOL, C.A.C.; SILVA, L.M.; LEMOS, L.B. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto. **Bragantia**, 64:211-218, 2005.

SORROCHE, F.G.; RINAUDI, L.V.; ZORREGUIETA, A.; GIORDANO, W. EPS II-dependent autoaggregation of *Sinorhizobium meliloti* planktonic cells. **Current Microbiology**, 61:465–470, 2010.

SOUZA, A.B.; ANDRADE, M.J.B.; VIEIRA, N.M.B.; ALBUQUERQUE, A. Densidades de semeadura e níveis de NPK e calagem na produção do feijoeiro sob plantio convencional, em Ponta Grossa, Paraná. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 38:39-43, 2008.

SOUZA, E.F.C.; SORATTO, R.P.; PAGANI, F.A.; Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46:370-377, 2011.

SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; MACIEL, C.D.; CAMPO, R.J.; ZAIA, D.A.M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43:83-91, 2008.

SPATARO, G.; TIRANTI, B.; ARCALENI, P.; BELLUCCI, E.; ATTENE, G.; PAPA, R.; SPAGNOLETTI ZEULI, P.; NEGRI, V. Genetic diversity and structure of a worlwide collection of *Phaseolus coccineus* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 122:1281-1291, 2011.

STEPHENS, B.D.; NEYRA, C.A. Nitrate e nitrite reduction in relation to nitrogenase activity in soybean nodules and *Rhizobium japonicum* bacteroids. **Plant Physiology**, 71:731-735, 1983.

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

STRALIOTTO, R.; CUNHA, C.O.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; RUMJANEK, N.G. Diversity of rhizobia nodulating common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) isolated from Brazilian tropical soils. **Academia Brasileira de Ciências**, 71:531-543, 1999.

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

SUR, S.; BOTHRA, A.K.; SEN, A. Symbiotic Nitrogen Fixation - A Bioinformatics Perspective. **Biotechnology**, 9:257-273, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2013. 820p.

TEIXEIRA, P.F.; WANG, H.; NORDLUND, S. Nitrogenase Switch-Off and Regulation of Ammonium Assimilation in Response to Light Deprivation in *Rhodospirillum*

rubrum Are Influenced by the Nitrogen Source Used during Growth. **Journal of Bacterriology**, 192:1463-1466, 2010.

TSAI, S.M. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, 152:31-38, 1993.

VALADÃO JUNIOR, D.D. Inoculação das sementes e adubação nitrogenada e molíbdica do feijoeiro-comum, em Rolim de Moura, RO. **Acta Amazônica**, 39:741-748, 2009.

VALENCIA, R.A.; GÓMEZ, L.Y. Caracterización molecular de las cepas de *Bradyrhizobium japonicum* J-01, J-96 y J-98, mediante protocolos rep-PCR. **Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, 13:196-200, 2012.

VAN BERKUM, P.; BEYENE, D.; BAO, G.; CAMPBELL, T.A.; EARDLY, B.D. *Rhizobium mongolense* sp. nov. is one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen-fixing symbioses with *Medicago ruthenica*. **International Journal Systematic Bacteriology**, 48:13-22, 1998.

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: **Biologia dos solos dos Cerrados.** VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Planaltina: EMBRAPA – CPAC, 1997. 524p.

VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.R. Resposta do feijoeiro à inoculação com *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, em condições de cerrado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4, Londrina, 1993. **Resumos**... Londrina: IAPAR, 1993. p. 126.

VELÁZQUEZ, E.; PEIX, A.; ZURDO-PIÑEIRO, J.L.; PALOMO, J.L.; MATEOS, P.F.; RIVAS, R.; MUÑOZ-ADELANTADO, E.; TORO, N.; GARCÍA-BENAVIDES, P.; MARTÍNEZ-MOLINA, E. The coexistence of symbiosis and pathogenicity-determining genes in *Rhizobium* rhizogenes strains enables them to induce nodules and tumors or hairy roots in plants. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 18:1325–1332, 2005.

VENCES-GUZMÁN, M.A.; GUAN, Z.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; GONZÁLEZ-SILVA, N.; LÓPEZ-LARAI, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; GEIGER, O.; SOHLENKAMP, C.

Hydroxylated ornithine lipids increase stress tolerance in *Rhizobium tropici* CIAT899. **Molecular Microbiolog**y, 79:1496-1514, 2011.

VIDOR, C.; KOLLING, J.; FREIRE, J.; SCHOLLES, D.; BROSE. E.; PEDROSO, M.H.T. Fixação biológica do nitrogênio pela simbiose entre *Rhizobium* e leguminosas. Porto Alegre. IPAGRO, 1983. 207p.

VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T.J.; BORÉM, A. (eds.) **Feijão.** Viçosa: UFV, 2006. p. 115-142.

VIEIRA, R.F.; TSAI, S.M.; TEIXEIRA, M.A. Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em feijoeiro com estirpes nativas de rizóbio, em solo tratado com iodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40:1047-1050, 2005.

WANDER, A.E. Produção e consume de feijão no Brasil, 1975-2005. **Informações Econômicas**, 37:7-21, 2007.

WIELBO, J. Rhizobial communities in symbiosis with legumes: genetic diversity, competition and interactions with host plants. **Central European Journal of Biology**, 7:363-372, 2012.

WIELBO, J.; MAREK-KOZACZUK, M.; KUBIK-KOMAR, A.; SKORUPSKA, A. Increased metabolic potential of *Rhizobium* spp. is associated with bacterial competitiveness. **Canadian Journal of Microbiology**, 53:957-967, 2007.

WIELBO, J.; MAREK-KOZACZUK, M.; MAZUR, A.; KUBIK-KOMAR, A.; SKORUPSKA, A. Genetic and metabolic divergence within a Rhizobium leguminosarum bv. trifolii population recovered from clover nodules. **Applied Environmental Microbiology**, 76:4593-4600, 2010.

WINHAM, D.M.; HUTCHINS, A.M.; JOHNSTON, C.S. Pinto bean consumption reduces biomarkers for heart disease risk. **Journal of American College of Nutrition**, 26:243-249, 2007.

XAVIER, G.R.; MARTINS, L.M.V.; RIBEIRO, J.R.A.; RUMJANEK, N.G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Caatinga**, 19:25-33, 2006.

YADEGARI, M. Inoculation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting Rhizobacteria. **Advances in Environmental Biology**, 8: 419-424, 2014.

YOUNG, J.P.; CROSSMAN, L.C.; JOHNSTON, A.W.; THOMSON, N.R.; GHAZOUI, M.; CURSON, A.R.; TODD, Z.F.; HULL, K.H.; WEXLER, J.D.; POOLE, P.S.; MAUCHLINE, T.H.; EAST. A.K.; QUAIL, M.A.; CHURCHER, C.; CHEREVACH, C.; ARROWSMITH, I.; CHILLINGWORTH, T.; CLARKE, K.; CRONIN, A.; DAVIS, P.; FRASER, A.; HANCE, Z.; HAUSER, H.; JAGELS, K.; MOULE, S.; MUNGALL, K.; NORBERTCZAK, H.: RABBINOWITSCH, E.; SANDERS, M.; SIMMONDS, M.; WHITEHEAD, S.; PARKHILL, J. The genome of Rhizobium leguminosarum has recognizable core and accessory components, **Genome Biology**, 7:R34, 2006.

ZÉLICOURT, A.; DIET, A.; MARION, J.; LAFFONT, C.; ARIEL, F.; MOISON, M.; ZAHAF, O.; CRESPI, M.; GRUBER, V.; FRUGIER, F. Dual involvement of a *Medicago truncatula* NAC transcription factor in root abiotic stress response and symbiotic nodule senescence. **The Plant Journal**, 70:220–230, 2012.

ZILLI, J.E.; 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**, 41:811-818, 2006.