

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

DISSERTAÇÃO

**Efeito da Inoculação com Diferentes Estirpes de
Rizóbio na Nodulação, Fixação Biológica de
Nitrogênio e na Produtividade em Feijão-Caupi**

Régia Maria Reis Gualter

2010



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

**EFEITO DA INOCULAÇÃO COM DIFERENTES ESTIRPES DE
RIZÓBIO NA NODULAÇÃO, FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO E NA PRODUTIVIDADE EM FEIJÃO-CAUPI**

RÉGIA MARIA REIS GUALTER

Sob a Orientação do Pesquisador
Robert Michael Boddey

e Co-orientação do Pesquisador
Gustavo Ribeiro Xavier

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2010

631.84
G912u
T

Gualter, Régia Maria Reis, 1985-.
Efeito inoculação com diferentes
estirpes de rizóbio na nodulação,
fixação biológica de nitrogênio e na
produtividade em Feijão-Caupi/Régia
Maria Reis Gualter - 2010.
72 f.: il.

Orientador: Robert Michael
Boddey.

Dissertação (Mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Agronomia.
Bibliografia: f. 59-70.

1. Feijão-de-corda - Inoculação
- Teses. 2. Nitrogênio - Fixação -
Teses. 3. Rizóbio - Teses. I.
Boddey, Robert Michael, 1948-. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Agronomia. III. Título.

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

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

RÉGIA MARIA REIS GUALTER

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/02/2010

Robert Michael Boddey. Ph.D. Embrapa Agrobiologia
(Orientador)

Eduardo Lima. D.Sc. UFRRJ

Francisco Rodrigues Freire Filho. D.Sc. Embrapa Meio Norte

DEDICATÓRIA

A meus pais Dalva Reis Gualter de Oliveira e Francisco José Gualter de Oliveira, pela dedicação, amor, ensinamentos e confiança em mim depositados.

Ao meu amado Khalil pelo amor, carinho, paciência e perseverança nas minhas crenças.

Aos meus irmãos Francisco Thiago Reis Gualter, Tainah de Jesus Reis Gualter e Marcellino Yves Reis Gualter, pelo afeto, união e apoio em todos os momentos.

*“Tua caminhada ainda não terminou...
A realidade te acolhe
dizendo que pela frente
o horizonte da vida necessita
de tuas palavras
e do teu silêncio.
É certo que irás encontrar situações
tempestuosas novamente,
mas haverá de ver sempre
o lado bom da chuva que cai
e não a faceta do raio que destrói.
Não faças do amanhã
o sinônimo de nunca,
nem o ontem te seja o mesmo
que nunca mais.
Teus passos ficaram.
Olhes para trás...
mas vá em frente
pois há muitos que precisam
que chegues para poderem seguir-te.”*

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Nesse momento mais que especial, um sonho idealizado, que agora é real e concreto gostaria de externar a minha gratidão...

A Deus, por sua proteção e generosidade em todas as etapas dessa jornada, que me guiou a este lugar, permitindo realizar este curso, consolou-me nas horas difíceis, principalmente pelas dores de saudade dos entes queridos que deixei na minha “terra natal” e pela fé que me fez superar o medo e as aflições de não conseguir chegar ao final.

A todos da minha família, fonte de inspiração para busca dos meus ideais, em especial a minha mãe, que não mediu esforços para que eu obtivesse esta conquista.

Aos meus avós, Maria Francisca Silva e Ângelo Rabelo dos Reis; Maria Idelzuite de Jesus (*in memoriam*) e Expedito Gualter de Oliveira, pelo carinho e apoio.

As minhas madrinhas Daise Reis da Silva e Marly Reis de Freitas pelas palavras de conforto e amor.

Aos meus tios e tias que estiveram ao meu lado, obrigada pelo apoio efetivo.

Aos meus primos e primas, por me tratarem sempre com respeito, incentivo e confiança.

À UFRRJ e ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, obrigada pela oportunidade de realizar este curso, em especial aos professores Lúcia Helena Cunha dos Anjos e Marcos Gervasio, obrigada pelos valiosos ensinamentos ministrados em suas aulas e aos funcionários Isabel, Marcos, Luciene e Roberto pelo carinho e atenção.

A CAPES pela concessão da bolsa.

À Embrapa Agrobiologia pelo apoio e infra-estrutura recebidos para realização desse trabalho.

Aos meus orientadores Drs. Robert Boddey e Gustavo Ribeiro Xavier, pela paciência, incentivo, críticas, sugestões e dedicação. Muito Obrigada.

Ao Dr. Bruno José Rodrigues Alves pelas orientações e palavras de apoio.

Ao Dr. Antônio Carlos Reis de Freitas e à Dra. Carolina Etienne de Rosália Silva e Santos por todo apoio logístico, compromisso, atenção e cuidado nos experimentos em Santa Luzia do Paruá-MA e Paudalho-PE, respectivamente, pessoas fundamentais na realização e viabilidade deste trabalho.

A Dra. Lindete Míria Vieira Martins por toda atenção, amizade e carinho que teve comigo durante todo o período do curso.

Às minhas amigas de Teresina-PI, Aliane, Adriana, Camilla, Dany, Larissa, Marilusa e Nikelly pelo companheirismo, amizade, carinho, afeto e acima de tudo pela fé nas minhas convicções.

À Rosa Mota (Rosinha), “minha mãe querida”, amiga e colega de curso que sempre tem um tempinho para mim, ajudando-me sempre que necessário; essa vitória também é sua e ao Clineu pela amizade, grande torcida nas conquistas do mestrado e ajuda na contagem de nódulos no experimento em casa-de-vegetação.

Aos amigos e amigas que conheci nesse lugar em especial à Raone Miranda (Sorriso), Janiffé Perez (Jany), Jaqueline Fernandes (Jaque) e Natália Zatorre, obrigada pela lealdade, respeito, carinho e por fazerem parte da minha vida.

Ao Geraldo Baêta, Rosângela Riga, Ana Clara Riga, Carolina Riga e Gabriela Riga, obrigada pela amizade, carinho e por proporcionarem sempre excelentes momentos.

À Regina e Daniele (Dani), amigas de todas as horas, obrigada pelo carinho e atenção.

Aos bolsistas do Laboratório de Ciclagem de Nutrientes: Anatolli, Ana Carolina, Ana Paula, Caroline, Débora, Elisamara, Eric, Fernanda, Fernando, Gabriela, Jerusa, Jeferson, Juliano, Karolinna, Luis Cláudio, Natália, Nivaldo, Rafael Fiusa, Rafael Butke, Ricardo, Sandra, Selenobaldo e Talita, em especial a Fernanda por ser sempre tão atenciosa, a Caroline Farias e Ricardo pela grandiosa ajuda no processamento do material amostrado, durante os experimentos de campo.

Aos bolsistas do Laboratório de Ecologia Microbiana (LEMI): Andréa, Anelise, Beatriz, Carolina, Carlos, Cláudia, Débora, Elson, Fernanda, Jackson, Paulo Ivan, Samuel, Silvana, Sumaya, em especial à Andréa, Beatriz, Cláudia, Fernanda, Silvana e Sumaya pela ajuda na contagem dos nódulos em Seropédica-RJ.

Ao João Luiz pelo enorme auxílio no experimento em casa-de-vegetação e à Rosana (Rose) pela atenção e carinho.

Aos funcionários do laboratório de Química Agrícola: Altiberto, Ednelson, Gisele, Monalisa e Roberto Andrade, muitíssimo obrigada por serem tão solícitos nas análises de nitrogênio.

Aos colegas do curso, obrigada pelos momentos de descontração e convivência harmoniosa.

Ao Alojamento da Embrapa Agrobiologia pela moradia e convívio no primeiro ano do curso.

Aos senhores Juarez Canuto Vieira e José Elias Sobrinho (Zé de Fátima) e suas famílias, muito obrigada pelo cuidado e colaboração nas coletas de campo em Santa Luzia do Paruá, MA.

A Francisco Macedo, o “Pia” (Técnico Agrícola do INCRA), e Eronilson (“Lourinho”), pela enorme ajuda na instalação, tratos culturais e coletas dos experimentos em Santa Luzia do Paruá, MA.

Aos funcionários Claudinho, Rosinaldo (Naldo), Aurélio e Serginho, obrigada por serem tão solícitos nos trabalhos experimentais; e também pelos cafés sempre muito agradáveis.

Ao meu companheiro e infinito amor Khalil, pelo auxílio nas análises estatísticas, apoio, carinho e cumplicidade em todos os momentos, obrigada por fazer parte da concretização deste sonho.

A todos aqueles que direta e indiretamente, contribuíram para a execução do presente trabalho sem cujas colaborações o objetivo não teria sido alcançado.

Meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Régia Maria Reis Gualter, filha de Francisco José Gualter de Oliveira e Dalva Reis Gualter de Oliveira, nasceu em 21 de dezembro de 1985, na cidade de Teresina, estado do Piauí. Em 2000 concluiu o ensino fundamental no Instituto Educacional São José e o ensino médio concluiu no Sistema Anglo de Ensino em 2003. Em 2008 graduou-se em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí. Durante sua graduação sempre esteve envolvida com estágios e projetos de pesquisa, sendo bolsista de Iniciação Tecnológica e Industrial na Embrapa Meio-Norte de 2005 a 2007. Ingressou no curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo da UFRRJ em março de 2008, como bolsista da CAPES, desenvolvendo sua dissertação “Efeito da inoculação com diferentes estirpes de rizóbio na nodulação, fixação biológica de nitrogênio e na produtividade em feijão-caupi”, junto aos laboratórios de Ciclagem de Nutrientes e Ecologia Microbiana da Embrapa Agrobiologia, concluindo-a na presente data.

RESUMO

GUALTER, Régia Maria Reis. **Efeito da inoculação com diferentes estirpes de rizóbio na nodulação, fixação biológica de nitrogênio e na produtividade em feijão-caupi**. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2010.

O feijão-caupi é uma espécie rústica, bem adaptada a diferentes condições ambientais e possui capacidade de se associar a bactérias fixadoras de N₂ atmosférico, os rizóbios. Os objetivos desse trabalho foram selecionar estirpes de rizóbios e verificar a eficiência agrônômica dessas estirpes para inoculação em feijão-caupi. Este estudo foi realizado em casa de vegetação e em campo, na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica-RJ e em duas áreas agrícolas, em Santa Luzia do Paruá-MA, na região de Pré-Amazônia e em uma propriedade particular em Paudalho-PE, localizado na Zona da Mata, respectivamente. O delineamento experimental utilizado, em todos os experimentos, foi o de blocos ao acaso com seis repetições. Os tratamentos utilizados no experimento em casa de vegetação foram: BR 3262, BR 3267, INPA 03-11B, UFLA 03-84 (recomendadas à cultura), a estirpe BR 3299, um controle isento de inoculante e adubação com N e uma testemunha nitrogenada sem inoculação (100 mg N/vaso), em interação com as cultivares de feijão-caupi, IPA 206, BRS Guariba e BRS Marataoã. Nos experimentos em campo foi utilizada a cultivar BRS Guariba e os tratamentos foram: BR 3299, BR 3262, INPA 03-11B, um controle isento de inoculante e adubação com N (S/I) e um tratamento nitrogenado (80 kg de N/ha) sem inoculação. Em casa de vegetação, aos 55 dias após o plantio (DAP) foram avaliados número e massa seca de nódulos e massa da parte aérea seca das plantas de feijão-caupi. Aos 30 e 50 dias após a emergência (DAE) das plantas as variáveis avaliadas em campo foram: nodulação, massa seca da parte aérea, eficiência relativa e acúmulo de N na parte aérea, e produção e componentes produtivos de feijão-caupi aos 65 DAE. No experimento em casa de vegetação a estirpe INPA 03-11B promoveu maior número de nódulos na cultivar BRS Marataoã em relação às demais cultivares. Quanto à massa seca dos nódulos foi observado valor inferior da estirpe INPA 03-11B na cultivar BRS Guariba. Com relação à massa seca da parte aérea, as cultivares BRS Marataoã e IPA 206 apresentaram valores superiores a cultivar BRS Guariba. Em campo, quanto ao número e massa seca de nódulos, as estirpes BR 3299 e BR 3262 foram superiores aos demais tratamentos nos 30 e 50 DAE, nas áreas dos agricultores, em região de Pré-Amazônia e na propriedade particular em Zona da Mata. Para a massa seca da parte aérea, eficiência relativa e acúmulo de N na parte aérea, a BR 3299 foi superior aos demais tratamentos aos 30 DAE nos três experimentos. Para a produtividade de grãos todas as estirpes responderam de maneira positiva à inoculação, com destaque para a BR 3299, onde foi verificada aumentos de 500, 1087 e 236 % em relação ao controle (S/I) e de 1, 17 e 17 % em comparação ao tratamento nitrogenado (80 kg de N). Dessa forma, a inoculação das estirpes resultou em incrementos favoráveis à produção do feijão-caupi, sendo que a estirpe BR 3299, mostrou-se excelente para ser recomendado para a cultura.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Inoculante. Massa seca.

ABSTRACT

GUALTER, Régia Maria Reis. **Effect of the inoculation with different strains of rhizobium on the nodulation, biological nitrogen fixation and productivity in cowpea.** 2010. 72p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2010.

Cowpea is rustic specie, well adapted to different environmental conditions and it is able to associate (nodulate) with nitrogen fixing bacteria of the rhizobium group. The objectives of this study were to select strains of rhizobia and to verify their agronomic efficiency for inoculation on cowpea. The study was conducted in greenhouse and field conditions, at Embrapa Agrobiologia, in Seropédica municipality, Rio de Janeiro State, Brazil. Also, in two farm fields in Santa Luzia do Paruá, Maranhão State, in the pre-Amazon region, and a rural property in Paudalha, Pernambuco State, in the Zona da Mata, respectively. The experimental design in all experiments was completely randomized blocks with six replicates. The treatments in the greenhouse experiment were rhizobium strains: BR 3262, BR 3267; INPA 03-11B, UFLA 03-84 (recommended strains), and the strain BR 3299, plus two controls without inoculation, one with N fertilizer and one without, in interaction with three cultivars of cowpea: IPA 206, BRS Guariba, and BRS Marataoã. In the field experiments the cultivar BRS Guariba was utilized and inoculated with the strains BR 3299, BR 3262, INPA 03-11B, a control without inoculation and fertilizer and another with N fertilizer (80 kg N/ha). In the greenhouse experiment, the nodules number and dry weight, and the dry mass of aerial parts were evaluated 55 days after planting (DAP). Plants in the field experiments were sampled 30 and 50 days after emergence (DAE) for nodule number and mass, shoot dry matter, relative efficiency and accumulation of N in shoot tissue. At 65 DAE the cowpea yield components were evaluated. In the greenhouse experiment, the strain INPA 03-11B promoted the formation of the greatest number of nodules on cultivar BRS Marataoã, compared to the other cultivars. With respect to nodule dry weight the cultivars BRS Marataoã and IPA 206 showed higher values than cultivar BRS Guariba. On the farm field experiments, for both regions, pre-Amazon (Maranhão) and Zona da Mata (Pernambuco), the strains BR 3299 and BR 3262 showed higher nodule number and mass than the other strains at 30 and 50 DAE. With respect to the total dry matter and N accumulation, and the relative efficiency, the strain BR 3299 was superior to all inoculated strains at 30 DAE. All strains promoted increases in grain yield, especially strain BR 3299, where yield was increased by 500, 1087 and 236 % in comparison with the non-inoculated control not fertilized with N, and 1, 17 and 17% compared to the control with N fertilizer (80 kg N/ha). In conclusion, all the trials showed that the inoculation of tested rhizobium strains promoted increases in production of cowpea, and BR 3299 was shown to be an excellent strain to be recommended for the crop.

Key words: *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Inoculant. Dry matter.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** – Distribuição percentual da produção de grãos de feijão-caupi no mundo. Retirado de FAO (2010), modificado de DAMASCENO-SILVA et al. (2009). 21
- Figura 2** – Feijão-caupi aos 55 DAP, Seropédica-RJ, 2008. 28
- Figura 3** – Área de capoeira antes da instalação do experimento. Agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009. 30
- Figura 4** – Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009. Fonte: INMET, Zé Doca-MA. 31
- Figura 5** – Município de Santa Luzia do Paruá, MA. Retirado de www.IBGE.gov. Acesso em jun. 2009. 32
- Figura 6** – Máquina utilizada para corte e trituração da biomassa vegetal (fresador florestal modelo AHWI-600). Fonte: FREITAS, A.C.R. Evaluating Agricultural Systems Based on Mulch Technology: A Case Study. International Research on Food Security, Natural Resource Management and Rural Development, 2005. 33
- Figura 7** – Feijão-caupi: a) aos 30 DAE; b) aos 50 DAE. Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.. 34
- Figura 8** – Área de capoeira antes da instalação do experimento. Agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia-MA, 2009. 35
- Figura 9** - Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009. Fonte: INMET, Zé Doca-MA. 36
- Figura 10** – Área do experimento: a) antes da instalação; b) Feijão-caupi com 15 dias após o plantio. Paudalho-PE, 2009. 37
- Figura 11** – Município de Paudalho, PE. Retirado de www.IBGE.gov. Acesso em ago. 2009. 38
- Figura 12** - Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Paudalho-PE, 2009. Fonte: LAMEPE/ITEP. 38
- Figura 13** – Feijão-caupi: a) aos 30 DAE; b) aos 50 DAE. Paudalho-PE, 2009. 39

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação e características das estirpes de rizóbio.....	27
Tabela 2 – Características da cultivar de feijão-caupi IPA-206 (IPA, 1990; MAPA).....	27
Tabela 3 – Características da cultivar de feijão-caupi BRS Guariba (FREIRE FILHO et al., 2007).	27
Tabela 4 – Características da cultivar de feijão-caupi BRS Marataoã (FREIRE FILHO et al., 2005).	28
Tabela 5 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Área agricultor Juarez, Santa Luzia-MA, 2009.	31
Tabela 6 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia-MA, 2009.....	36
Tabela 7 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Paudalho-PE, 2009.	37
Tabela 8 - Número de nódulos aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008.	40
Tabela 9 - Massa seca dos nódulos aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão caupi. Seropédica-RJ, 2008.	40
Tabela 10 - Massa seca da parte aérea aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008.	41
Tabela 11 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 5 estirpes aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008 ⁽¹⁾	42
Tabela 12 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.	43
Tabela 13 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.	44
Tabela 14 – Acúmulo de N na parte área de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.....	45
Tabela 15 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009 ⁽¹⁾	45

Tabela 16 – Produtividade de grãos de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.	46
Tabela 17 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.....	47
Tabela 18 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.....	48
Tabela 19 – Acúmulo de N na parte área de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE. Área agricultor José Elias, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.	49
Tabela 20 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009 ⁽¹⁾	50
Tabela 21 - Produtividade de grãos, comprimento de vagens (COMPV), peso de vagens por planta (PVP), peso de 100 grãos (PCG), número de vagens por planta (NVP) e número de grãos por vagem (NGV) de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.....	51
Tabela 22 - Coeficientes de correlação linear entre os caracteres agrônômicos de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009 ⁽¹⁾	52
Tabela 23 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009.	53
Tabela 24 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009.	54
Tabela 25 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009 ⁽¹⁾	54
Tabela 26 - Produtividade de grãos, comprimento de vagens (COMPV), peso de vagens por planta (PVP), peso de 100 grãos (PCG), número de vagens por planta (NVP) e número de grãos por vagem (NGV) de feijão-caupi aos 65 DAE em Paudalho-PE, 2009.....	56
Tabela 27 - Coeficientes de correlação linear entre os caracteres agrônômicos de feijão-caupi aos 65 DAE. Paudalho-PE, 2009 ⁽¹⁾	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	A Cultura do Feijão-Caupi.....	17
2.2	Fixação Biológica de Nitrogênio, Inoculação e Recomendação de Estirpes em Feijão-Caupi	19
2.3	Principais Técnicas em Estudos de Fixação Biológica de Nitrogênio	22
2.3.1	Diferença de N total na avaliação da FBN.....	23
2.3.2	Técnicas isotópicas: uso da abundância natural do $\delta^{15}\text{N}$ para quantificação da FBN.....	23
2.4	Grupo Rizóbio	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Avaliação de Estirpes de Rizóbio Inoculadas em Feijão-Caupi em Casa de Vegetação	26
3.1.1	Condução do experimento.....	26
3.1.2	Avaliação do crescimento de estirpes, preparo dos inóculos e inoculação das plantas.....	26
3.1.3	Irrigação e nutrição das plantas	26
3.1.4	Colheita do experimento e variáveis analisadas	26
3.1.5	Análise estatística	28
3.2	Eficiência de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi Cultivado em Roça Triturada na Pré-Amazônia Maranhense.....	29
3.2.1	Organismos e preparo dos inoculantes	29
3.2.2	Controle de qualidade de inoculante: diluição seriada e contagem pelo método da gota (<i>drop plate</i>)	29
3.2.3	Estimativa do número de rizóbios no solo através do método do NMPP (número mais provável em plantas)	29
3.2.4	Histórico da área.....	29
3.2.5	Localização e descrição da área.....	30
3.2.6	Procedimento experimental e tratamentos	32
3.2.7	Amostragem e análises do material vegetal	33
3.2.8	Análise estatística	34
3.3	Avaliação Simbiótica de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi sob Capoeira Triturada na Pré-Amazônia Maranhense.....	34
3.3.1	Organismos e preparo dos inoculantes	34
3.3.2	Controle de qualidade de inoculante rizobiano: diluição seriada e contagem pelo método da gota (<i>drop plate</i>)	34
3.3.3	Estimativa do número de rizóbios no solo através do método do NMPP (número mais provável em plantas)	34
3.3.4	Histórico da área.....	34
3.3.5	Localização e descrição da área.....	35
3.3.6	Procedimento experimental e tratamentos	36
3.3.7	Amostragem e análises do material vegetal	36
3.3.8	Análise estatística	36
3.4	Inoculação de Estirpes de Rizóbio e Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijão-Caupi Cultivado em Latossolo Amarelo na Zona da Mata Pernambucana.....	36
3.4.1	Organismos e preparo dos inoculantes	36

3.4.2	Controle de qualidade de inoculante rizobiano: diluição seriada e contagem pelo método da gota (drop plate)	37
3.4.3	Histórico da área.....	37
3.4.4	Localização e descrição da área.....	37
3.4.5	Procedimento experimental e tratamentos	38
3.4.6	Amostragem e análises do material vegetal	39
3.4.7	Análise estatística	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1	Avaliação de Estirpes de Rizóbio Inoculadas em Feijão-Caupi	40
4.1.1	Nodulação.....	40
4.1.2	Biomassa seca.....	41
4.2	Eficiência de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi Cultivado em Roça Triturada na Pré-Amazônia Maranhense.....	42
4.2.1	Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE	42
4.2.2	Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE.	44
4.2.3	Produtividade de grãos de feijão-caupi.....	46
4.3	Avaliação Simbiótica de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi sob Capoeira Triturada na Pré-Amazônia Maranhense.....	47
4.3.1	Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE	47
4.3.2	Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE.	48
4.3.3	Produção e caracteres agronômicos de feijão-caupi	50
4.4	Inoculação de Estirpes de Rizóbio e Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijão-Caupi Cultivado em Latossolo Amarelo na Zona da Mata Pernambucana.....	52
4.4.1	Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE	52
4.4.2	Produção e caracteres agronômicos de feijão-caupi	54
5	CONCLUSÕES	57
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
8	ANEXOS.....	71

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é cultivado por agricultores familiares, médios e grandes empresários predominando, nas regiões Norte e Nordeste, principalmente por sua adaptação às condições edafoclimáticas a produção familiar. Nessas regiões, esta cultura desempenha um papel importante na alimentação e na geração de empregos para a população de baixa renda (ZILLI et al., 2006). Assim como no Brasil, essa cultura é importante para muitos países da África e Ásia, especialmente por representar uma fonte essencial de proteína, já que seus grãos contêm os dez aminoácidos essenciais ao ser humano, apresentando um excelente valor protéico (FREIRE FILHO et al., 2005).

Apesar da importância para as regiões brasileiras o rendimento médio da cultura é relativamente baixo, na faixa de 300 a 400 kg ha⁻¹ (FREIRE FILHO et al., 1999; FROTA e PEREIRA, 2000), o que requer o uso de práticas para o aumento de produtividade, ecológica e economicamente sustentáveis (SOARES et al., 2006). Dentre as tecnologias que podem permitir incrementos no rendimento de grãos, destaca-se a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), amplamente reconhecida. A FBN minimiza o custo da produção, diminuindo o uso de fertilizantes nitrogenados, traz benefícios ao meio ambiente e, além disso, propicia aumentos na fertilidade e na matéria orgânica do solo. A interação do feijão-caupi com bactérias fixadoras de N₂ atmosférico ou rizóbios via uso de inoculantes, e o conhecimento do processo de nodulação podem contribuir na redução de custos em até US\$ 13 milhões, no Nordeste do Brasil, elevando a produtividade em até 50% (RUMJANEK et al., 2005).

O feijão-caupi, em algumas áreas particularmente nos Cerrados das regiões Nordeste, Norte e Centro-Oeste, está modificando a estrutura tradicional de produção e o mercado. Até os anos 90, era quase exclusivamente uma cultura de pequenos e médios agricultores de base familiar com tecnologia de baixo *input*. Atualmente, a cultura vem ocupando outros cenários agrícolas, em áreas de perímetro irrigado e na safrinha, após a cultura da soja, passando a ser cultivado também por grandes produtores, com maior adoção de tecnologia e que utilizam as práticas de correção e adubação do solo (MARTINS et al., 2003; SOARES et al., 2006).

Atualmente a sua comercialização ultrapassa as barreiras regionais, como é o caso do feijão-fradinho em bolsas de mercadorias do Sudeste. Ainda, a cultivar BRS Guariba que está sendo exportada para o Canadá, Portugal, Israel, Turquia, Arábia Saudita, Irã e Egito, o que poderá implicar na ampliação das perspectivas de mercado internacional promissor, podendo abranger também as outras variedades tradicionalmente cultivadas no Brasil.

Apesar da importância da aplicação biotecnológica de bactérias fixadoras de N₂ em feijão-caupi, são poucos os trabalhos para avaliar o comportamento da cultivar de feijão-caupi BRS Guariba nas regiões de Pré-Amazônia (MA) e Zona da Mata (PE). Pela falta de resultados conclusivos são necessários estudos para avaliar a inoculação de estirpes de rizóbio já recomendadas e em recomendação nessas regiões.

Este estudo tem como hipótese que estirpes recomendadas para o feijão-caupi inicialmente testadas na Amazônia, Semi-Árido e Cerrado, podem ser utilizadas na inoculação com a cultivar BRS Guariba nas regiões de Pré-Amazônia e Zona da Mata, com resultados superiores ao controle absoluto e igual ou superior ao controle com adubação nitrogenada.

Diante do exposto os objetivos do estudo foram:

- a) Selecionar estirpe (s) de rizóbio (s) para inoculação em feijão-caupi;
- b) Verificar a eficiência agronômica de estirpes de rizóbio para feijão-caupi.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Feijão-Caupi

O feijão-caupi também denominado feijão macaçar, feijão-de-corda ou feijão-fradinho tem sua origem no oeste da África, mais precisamente na Nigéria, considerado o centro primário de diversidade da espécie. É uma planta Dicotyledonea, pertencente à ordem Fabales, família Fabacea (Leguminosae), subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolina, gênero *Vigna*, secção *Catiang* e espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp e subespécie *unguiculata* (FREIRE FILHO et al., 2005; NATIONAL PLANT GERMPLASM SYSTEM, 2009).

De acordo com WATT (1978) e FREIRE FILHO (1988) o feijão-caupi foi introduzido na América Latina no século XVI pelos colonizadores espanhóis e portugueses, primeiramente nas colônias espanholas, e em seguida no Brasil, provavelmente pelo Estado da Bahia, de onde posteriormente foi levado para outras regiões do país. Para SIMON et al. (2007) o feijão-caupi foi introduzido de diferentes regiões da África mais de uma vez, considerando que houve tráfico de escravos de diferentes regiões do continente africano.

O feijão-caupi, em diferentes partes do mundo, constitui o principal alimento do homem rural, apresentando grande valor protéico, energético e amplo significado social, especialmente na economia do Norte e Nordeste do Brasil e em países da África como Nigéria, Níger e Mali. Devido ao seu valor nutritivo, o feijão-caupi é cultivado principalmente para a produção de grãos secos ou verdes ("feijão-verde" com teor de umidade entre 60 e 70%) visando o consumo humano *in natura*, na forma de conserva ou desidratado. Pode também ser utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal e, ainda, na adubação verde e proteção do solo, (ANDRADE JÚNIOR, 2000). Seus grãos contêm os dez aminoácidos essenciais ao ser humano, apresentam grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura, não contém colesterol e tem excelente valor calórico (AMARAL et al., 2005; FREIRE FILHO et al., 2005). Pelo conjunto de características é considerada uma espécie de grande valor estratégico (FREIRE FILHO et al., 2005).

O feijão-caupi é uma das fabáceas graníferas mais extensamente adaptada, versátil e nutritiva, pois apresenta grande plasticidade, adaptando-se a diferentes condições ambientais. Além de ser uma espécie de grande valor genético, possuindo genes de resistência a estresses que lhe conferem ampla adaptação edafoclimática, alto potencial produtivo e alta capacidade de obter N em associação com bactérias fixadoras de N₂ em um processo denominado Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (BEZERRA, 1997; EHLERS e HALL, 1997; XAVIER, 2000; RUMJANEK et al., 2005; MARTINS et al., 2003). Em virtude de sua importância, foi uma das poucas espécies vegetais escolhidas pela National Aeronautical and Space Administration (NASA) para ser cultivada e estudada (EHLERS e HALL, 1997).

Embora o feijão-caupi seja resistente à seca, sua capacidade de adaptação varia dentro da espécie e, portanto para um adequado manejo visando à produtividade e qualidade dos grãos, é necessário o conhecimento da resposta aos níveis de déficit hídrico e a relação entre o consumo de água e produtividade (ZISKA e HALL, 1982; SUMMERFIELD et al., 1985). Para AMARAL et al. (2005), os períodos fenológicos críticos da cultura são compreendidos entre o florescimento e enchimento dos grãos, sendo necessário nesse período um nível de umidade que satisfaça as exigências das características da cultura, para que não ocasione o comprometimento da produção.

NASCIMENTO et al. (2004), avaliando o comportamento da cultivar IPA 206, em relação ao déficit hídrico constatou que conforme o nível de deficiência hídrica crescia afetava drasticamente seu crescimento. Em outro trabalho COSTA et al. (1997) ressaltam a

necessidade de avaliar o comportamento de cultivares desenvolvidas para sequeiro, para evitar perdas da produtividade, pois segundo ele o déficit hídrico pode comprometer o desenvolvimento e qualidade dos grãos.

O feijão-caupi é cultivado em áreas tropicais e subtropicais de baixa altitude até altitudes acima de 1300 m, chegando a 1600 m no Kênia e Camarões (FREIRE FILHO et al., 1997), sendo predominante nos trópicos semi-árido, úmido e sub-úmido onde se apresenta melhor adaptado (SMARTT, 1990). No Brasil pode ser encontrado de norte a sul do país, em um clima seco da Região Nordeste ou um clima úmido da Região Norte, abrangendo as latitudes de 5°N a 18°S (ARAÚJO et al., 1984). Também é cultivado em pequenas áreas no Paraná, no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina (FAGERIA, 1989).

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

A área colhida, a produção e a produtividade do feijão-caupi oscilam muito de ano para ano, em virtude, principalmente, das variações climáticas. No Brasil, entre 2004 e 2008 anualmente a área colhida foi de 1,3 milhões de hectares a produção foi de 482 mil toneladas e o rendimento de 366 kg ha⁻¹ (DAMASCENO-SILVA, 2009). Já em 2007, estima-se que foram cultivados no mundo cerca de 12,5 milhões de hectares de feijão-caupi, sendo que a produção mundial no mesmo ano foi de 3,6 milhões de toneladas de grãos secos com rendimento médio de 290 kg ha⁻¹ (FAO, 2010). Produção esta alcançada em 36 países, destacando-se entre os maiores produtores a Nigéria, o Níger e o Brasil, respectivamente, os quais representam 84,1 % da área e 70,9 % da produção mundial (DAMASCENO-SILVA, 2009) (Figura 1). De acordo com FREIRE FILHO et al. (2005), a cultura gera 2,4 milhões de empregos diretos, sendo que 1 hectare de feijão-caupi gera 1,5 empregos por ano, o consumo *per capita* médio é de 20 kg/ano e o valor da saca é de US\$ 33,84, abastecendo a mesa de 27,5 milhões de pessoas. Ainda, segundo FREIRE FILHO et al. (2007; 2009), a produtividade do feijão-caupi pode alcançar rendimentos médios superiores a 2.500 kg ha⁻¹, com a adoção de nível de tecnologia compatível com a utilização da irrigação, correção do solo e adubação.

Além do Brasil, que ocupa a segunda posição de produtor mundial de feijão-caupi, destacam-se outros países como a Nigéria na África, Índia e China na Ásia, havendo também cultivos na Austrália e sul da Europa, no sudeste e sudoeste da América do Norte e em vastas áreas da América Central (EHLERS e HALL, 1997; SINGH, 2006). Esta cultura de grãos representa 60% das áreas cultivadas com feijão (*Phaseolus vulgaris*) e caupi no Nordeste do Brasil, sendo que 95 a 100% das áreas plantadas com feijão nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte, o são com feijão-caupi. O Ceará é o maior produtor nacional, seguido pelo Piauí (SANTOS et al., 2000).

Nessas regiões a inoculação não é prática usual, sendo o rendimento médio relativamente baixo (300 a 400 kg ha⁻¹) e desse modo a FBN assume papel importante como uma alternativa viável para o fornecimento de N à cultura, já que os níveis FBN alcançados por estirpes nativas estão abaixo do potencial da cultura de 3t/ha (BEZERRA, 1997) a até 6t/ha (FREIRE FILHO et al., 2005). A estimativa da contribuição da FBN em feijão-caupi está na ordem de US\$ 13 milhões, somente para a região Nordeste (RUMJANEK et al., 2005), pois o uso de práticas de baixo *input* como a aplicação biotecnológica de bactérias fixadoras de N₂, tem contribuído por elevar a produtividade da cultura em até 50%, em algumas áreas produtoras.

A cultura do feijão-caupi, até a década de 90, era quase exclusivamente voltada para pequenos e médios agricultores de base familiar com pouco uso de tecnologia. Recentemente,

a cultura vem ocupando outros cenários agrícolas, em áreas de perímetro irrigado, na safrinha, após, a cultura da soja, em áreas de grandes agricultores, que utilizam as práticas de correção e adubação do solo, inclusive com adubos nitrogenados (MARTINS et al., 2003).

O cenário das mudanças climáticas globais evidenciadas pelo aumento da temperatura no planeta poderá ocasionar prejuízos no desenvolvimento e crescimento de diversas espécies vegetais. Em ambientes tropicais, especialmente nas regiões mais quentes e secas, esse efeito poderá acarretar em drástica diminuição de produtividade. Nesse contexto, o feijão-caupi que é uma espécie dotada de características, que lhe conferem adaptação a condições extremas, constitui uma importante opção entre as leguminosas produtoras de grãos comestíveis.

2.2 Fixação Biológica de Nitrogênio, Inoculação e Recomendação de Estirpes em Feijão-Caupi

O nitrogênio (N), depois do oxigênio (O), do carbono (C) e do hidrogênio (H) é o elemento químico mais abundante na atmosfera, cerca de 79%, encontrando-se numa forma combinada (N_2 ou $N\equiv N$) no qual as plantas não são capazes de aproveitar. É também um dos nutrientes mais limitantes para o crescimento vegetal nos sistemas terrestres.

A maioria das plantas obtém o nitrogênio do solo sob a forma de íon nitrato (NO_3^-), havendo algumas que o absorvem sob a forma de íon amônio (NH_4^+). A obtenção de nitrogênio da atmosfera requer a quebra da tripla ligação covalente, entre os dois átomos de nitrogênio para produzir amônia (NH_4^+). Tais reações, conhecidas como fixação do nitrogênio, podem ser obtidas por processo industrial e por processos naturais, como relâmpagos, reações fotoquímicas e fixação biológica de nitrogênio (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é um processo biológico realizado por alguns procariontes que possuem um complexo enzimático denominado nitrogenase, capaz de quebrar a tripla ligação do N_2 e utilizá-lo como fonte de proteína (NEVES e RUMJANEK, 1997; CASSINI e FRANCO, 2006).

O processo ocorre no interior de estruturas específicas, denominadas de nódulos, onde bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* entre outros, em simbiose com as leguminosas, convertem o N_2 atmosférico em amônia, que é incorporada em diversas formas de N orgânico para a utilização pelas plantas (HUNGRIA et al., 2001; SAWADA et al., 2003; GARRITY et al., 2007). Durante a simbiose, a planta fornece às bactérias os compostos de carbono (C) e outros nutrientes para sustentar o crescimento bacteriano, a fixação de N_2 e incorporar o NH_4 em compostos orgânicos, como aminoácidos, aminas e ureídios (MOAT e FOSTER, 1996).

A habilidade dos rizóbios para fixar nitrogênio em simbiose com leguminosas é de considerável importância agrícola, visto que as leguminosas têm, a seu dispor, duas fontes de nitrogênio: o mineral proveniente do solo e/ou fertilizante e o nitrogênio gasoso, fixado biologicamente (HUNGRIA et al., 1999).

Entretanto, com a subida vertiginosa dos preços dos adubos nitrogenados, devido ao grande ônus energético decorrente do gasto de combustíveis fósseis para sintetizá-los, aliada a problemas de poluição causados pelo uso excessivo desses adubos, aos desperdícios decorrentes da aplicação e do baixo aproveitamento dos adubos no sistema solo-planta, tem deixado à agricultura dos países em desenvolvimento e à dos desenvolvidos apenas as alternativas de maximizar a fixação biológica de nitrogênio, otimizar a distribuição e o emprego dos compostos nitrogenados dentro das plantas e a de tornar mais eficiente a utilização de carboidratos pelos nódulos (HUNGRIA et al., 1999).

Além disso, o nitrogênio produzido artificialmente e quando usado em excesso pode causar sérios danos ambientais, pelo aquecimento global oriundo da queima de derivados de petróleo, pela contaminação do lençol freático, pelos riscos de vazamento de amônia e consequente aumento de óxido nitroso atmosférico (HARDY, 1993).

Estudos mostram que a contribuição da FBN em feijão-caupi está na faixa de 73 e 240 kg.ha⁻¹.ano⁻¹ (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006) e que a capacidade produtiva desta cultura pode ser aumentada a partir da utilização de inoculantes rizobianos (MARTINS et al., 2003; LACERDA et al., 2004; SOARES et al., 2006; ZILLI et al., 2009), com resultados superiores ou iguais a adubação nitrogenada com 80 kg de N ha⁻¹, correspondendo um aumento de 30% na produtividade de grãos. Entretanto, para alcançar uma fixação efetiva do nitrogênio no sistema rizóbio-leguminosa, é necessário selecionar estirpes apropriadas de rizóbio (PELCZAR et al., 2005), pois no campo as estimativas são bastante variáveis, entre 40 a 90 % do total de N acumulado pela cultura (RUMJANEK et al., 2005).

BELANE e DAKORA (2009), avaliando a fixação simbiótica em 30 genótipos de feijão-caupi na região oeste de Gana, a partir da abundância natural de ¹⁵N, observaram resultados diferenciados, entre 63 a 83% de contribuição da FBN, o que correspondeu entre 94 a 56 kg ha⁻¹ de N fixado, respectivamente. Enquanto PEOPLES et al. (2009), destacaram uma média 54% de contribuição da FBN e 59 kg ha⁻¹ de N fixado.

XAVIER et al. (2007), atribuí essa variabilidade às diferenças do genótipo tanto da planta como do rizóbio. Nesse sentido, STAMFORD et al. (2002) ressaltam a necessidade da inoculação do feijão-caupi com estirpes de rizóbio específicas a fim de garantir maior eficiência na fixação de N. Eles constataram que as bactérias previamente selecionadas para as condições de estresse como acidez e temperatura elevada, mostraram-se eficientes e que em alguns solos o N proveniente da fixação biológica foi capaz de suprir todo o N necessário para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

O processo de FBN é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos citam-se as características da planta e da bactéria que podem influenciar a troca de sinais moleculares, refletindo nas diferentes respostas em relação à especificidade e eficiência simbiótica (HARTWIG, 1998).

Quanto aos aspectos edafoclimáticos, a importância da FBN principalmente em ambientes tropicais, está relacionada com a baixa disponibilidade de N nos solos, devido essencialmente a perdas deste nutriente no sistema solo-planta. Além disso, a ocorrência de deficiência hídrica pode ter efeito negativo em diferentes etapas do processo de nodulação, sobretudo no peso de nódulos e na atividade da nitrogenase, além de afetar a sobrevivência do rizóbio no solo (CARVALHO, 2002).

Já que o nitrogênio (N) juntamente com o fósforo (P) são os nutrientes que mais limitam o crescimento das plantas nos trópicos, a FBN eficiente pode representar contribuições consideráveis na viabilidade econômica e sustentabilidade dos sistemas de produção (BODDEY et al., 1997).

A FBN apresenta-se como alternativa para a substituição, total ou parcial, dos adubos nitrogenados, pelo suprimento à cultura com o N necessário para o seu crescimento e desenvolvimento, e pela diminuição dos custos de produção e economia de combustíveis fósseis utilizados para a fabricação de fertilizantes nitrogenados (SOARES et al., 2006). Contudo, a otimização da FBN requer estudos de seleção de associações eficientes e adaptáveis às condições regionais (XAVIER et al., 2006a).

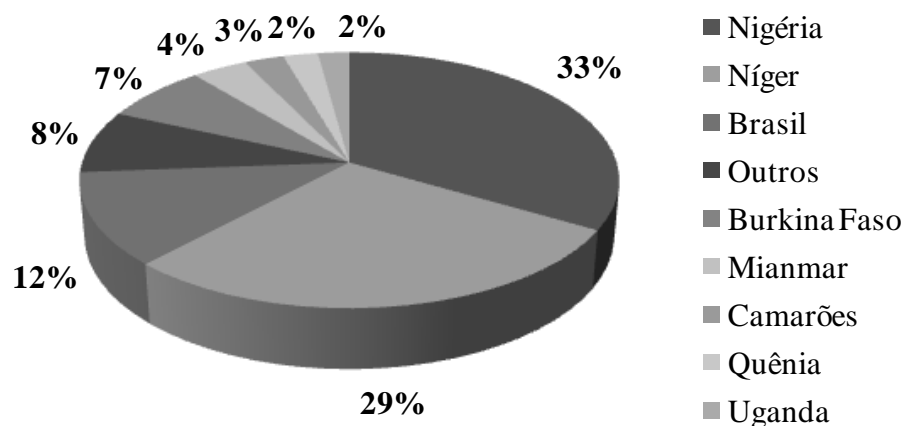


Figura 1 – Distribuição percentual da produção de grãos de feijão-caupi no mundo. Retirado de FAO (2010), modificado de DAMASCENO-SILVA et al. (2009).

Para a inoculação do feijão-caupi utiliza-se o inoculante, um produto ou formulação contendo determinado microrganismo com o objetivo de introduzir ou aumentar determinada comunidade microbiana no ambiente de interesse, torna possível o aumento do N fixado dessa espécie nos agroecossistemas. Nesse caso a FBN é manipulada, pelo uso de inoculante à base de estirpes selecionadas e adaptadas às condições edafoclimáticas (CASSINI e FRANCO, 2006).

O inoculante tem ação estimulante para o crescimento das plantas, sendo que o processo para seleção de estirpes envolve quatro estádios. No primeiro é verificada, em câmara de crescimento a capacidade de nodular e fixar N de um determinado número de estirpes, testadas separadamente, em tubos ou sacos plásticos com solução nutritiva livre de N na forma mineral, com ou sem ágar em condições estéreis. No segundo estádio, as estirpes selecionadas são testadas em mistura de areia e vermiculita esterilizada e solução nutritiva livre de N em vasos de *Leonard* em casa de vegetação. Nos estádios seguintes, estirpes selecionadas são testadas em vasos com solo na casa de vegetação e depois no campo. Estirpes que não tenham bom desempenho nos estádios iniciais de seleção são eliminadas, pois se não estabelecem simbiose eficiente em condições nutricionais e ambientais adequadas também não o farão nas condições mais estressantes do solo. Nesses estádios são adicionados tratamentos; 1 - sem inoculação; 2 - com nitrogênio, e 3 - com estirpe eficiente previamente selecionada e/ou reconhecidamente nodulífera (MOREIRA, 2005; MOREIRA, 2008).

Em seguida, para a recomendação comercial dessas estirpes como inoculantes de interesse agrícola, é necessária uma análise técnica de eficiência agrônoma dessas bactérias (RUMJANEK et al., 2006). Assim, a Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbiológicos de Interesse Agrícola (RELARE), realizada a cada dois anos, discute os resultados considerando a qualidade e eficiência dos inoculantes, que são testados em delineamentos padronizados, conduzidos em, no mínimo, dois ecossistemas de importância para a cultura, durante duas a quatro safras agrícolas. Dessa forma, a prática da inoculação será benéfica aos agricultores quando houver incremento no rendimento dos grãos (BROCKWELL e BOTTOMLEY, 1995) e as estirpes testadas tiverem a capacidade de superar ou se igualar as testemunhas controle, essas poderão ser certificadas como provisórias ou definitivas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O Brasil já comercializou cerca de 26 milhões de doses de inoculantes em 2003, 99% são para a cultura da soja e apenas 1% para as outras espécies, principalmente para o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Assim é necessário estender o uso dessa tecnologia a outras leguminosas de grãos como o feijão-caupi (MOREIRA, 2005; MOREIRA, 2008).

Alguns estudos realizados por MOREIRA (1991); MARTINS (1996); ZILLI (2001) e LACERDA (2002) resultaram na recomendação e reconhecimento pelo MAPA (Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº 10, de 21 de março de 2006) de estirpes como inoculante para o caupi, substituindo a estirpe BR 2001 recomendada, desde 1985 e pertencente ao gênero *Bradyrhizobium* na RELARE (2004), por BR 3267 e UFLA 03-84, INPA 03-11B, pois essas mostraram eficiência agrônômica superior a aquela (MARTINS et al., 2003; LACERDA et al., 2004; MOREIRA, 2005).

A estirpe BR 3267 foi isolada na região semi-árida pernambucana e caracterizada como *Bradyrhizobium japonicum*. Já as estirpes UFLA03-84 e INPA03-11B, caracterizadas como *Bradyrhizobium sp.* foram selecionadas de solos da Amazônia, dos estados de Manaus e Rondônia respectivamente sendo, portanto, adaptadas a altas temperaturas e aos níveis de acidez predominantes nos solos brasileiros. No ano de 2008 a estirpe BR 3262 foi recomendada para inoculação em feijão-caupi. Ela foi isolada do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) em Seropédica, RJ (ZILLI et al., 1999) e caracterizada como *Bradyrhizobium elkanii*, apresentando resultados positivos no estado de Roraima e garantindo ganhos de produtividade expressivos.

Resultados de experimentos dos três últimos anos têm destacado uma nova estirpe ainda mais promissora, além daquelas recomendadas pelo MAPA. Em Juazeiro-BA, em área de Caatinga, a inoculação da cultivar BRS Marataoã com a estirpe BR 3299, atingiu produtividade de 1.480 kg ha⁻¹, cerca de 30% superior ao tratamento de 80 kg N/ha na forma de uréia. Em 2005, resultados ainda mais expressivos foram encontrados na Zona da Mata em Recife-PE, onde a inoculação da cultivar Canapu, também com a mesma estirpe BR 3299, atingiu produtividade de 1.740 kg ha⁻¹, 80% acima do tratamento de 80 kg N/ha na forma de uréia e 230% superior ao controle absoluto. Em 2006, esses índices foram confirmados, pois a produtividade desse ano foi de 1.556 kg ha⁻¹, cerca de 50% em relação ao tratamento com adubação nitrogenada (80 kg N/ha) e 190% acima do controle não inoculado e não adubado com N (RUMJANEK e XAVIER, 2007). FREITAS et al., (2007) em área de Pré-Amazônia Maranhense, utilizando a cultivar BRS Guariba com a estirpe referida, obteve resultados de produtividade de 981 kg ha⁻¹, correspondendo a 214% em relação ao tratamento não inoculado. Essa estirpe mostra-se bastante promissora e deverá ser recomendada caso confirme esse potencial nos testes de eficiência agrônômica de acordo com os padrões da RELARE.

2.3 Principais Técnicas em Estudos de Fixação Biológica de Nitrogênio

A disponibilidade de N em solos tropicais é baixa para a maioria das plantas cultiváveis, e a adição de adubos ricos nesse elemento é fundamental para garantir boas produtividades. Contudo, as quantidades a serem aplicadas, assim como a forma e localização, são variáveis importantes do manejo das culturas e são determinantes para o nível de aproveitamento do N derivado dos adubos. O uso de fertilizantes deve ser otimizado visando à redução dos níveis de perda ou risco de poluição, bem como o conhecimento da forma com que esse elemento está sendo perdido para o meio ambiente (ALVES et al., 2005).

O N é um dos elementos mais importantes correspondendo a aproximadamente cerca de 10¹⁵ Mg de N₂ na atmosfera e o ciclo do nitrogênio envolve a transformação de 3 x 10⁹ Mg de N₂ por ano em uma base global. Entretanto essas transformações de fixação de nitrogênio, não são exclusivamente biológicas, já que os fertilizantes também contribuem com

importantes quantidades de N fixado quimicamente (ZAHARAN, 1999). Nesse sentido o conhecimento e quantificação do processo simbiótico da FBN são imprescindíveis na avaliação da contribuição da FBN na ciclagem de N nos sistemas agrícolas, pois sendo a FBN uma fonte renovável de N para a agricultura, isto pode proporcionar a sustentabilidade dos sistemas de produção (HUNGRIA e VARGAS, 2000).

As principais técnicas usadas para estimar a Fixação Biológica de Nitrogênio são: diferença de N total (BODDEY, 1987), técnica da redução de acetileno (BURRIS, 1975), e as técnicas isotópicas (SHEARER e KOHL, 1986; BODDEY, 1987).

2.3.1 Diferença de N total na avaliação da FBN

A técnica de diferença de N total foi uma das primeiras a ser utilizada para quantificar a FBN em vegetais. Assim como as demais metodologias, sua eficiência para estimar a contribuição do nitrogênio às plantas é maior quanto maior for o nível desta contribuição (RESENDE et al., 2003).

Os princípios desta técnica baseiam-se em cultivar uma planta referência (testemunha) e a planta teste (fixadora) em meio pobre em nitrogênio. Assim, estando o meio pobre ou livre de nitrogênio, as únicas fontes de nitrogênio existentes seriam a própria semente, o disponível no meio e o ar. Como premissa básica, assume-se que tanto a planta teste como a testemunha acumulam a mesma quantidade de nitrogênio derivado do meio de cultivo (solo, substrato, etc) (RESENDE et al., 2003).

Para o cálculo da diferença de N total, analisa-se separadamente o N-total acumulado pelas duas plantas, fixadora e testemunha, as quais são totalmente dependentes do solo para o seu desenvolvimento e que estão crescendo em condições e períodos idênticos. Em seguida subtrai-se o N-total acumulado na planta teste, do N-total acumulado na planta testemunha. A diferença obtida é a contribuição da FBN oriunda da planta teste (BODDEY et al., 1994). O percentual de contribuição dessa fonte às plantas é determinado calculando-se essa proporção (PEOPLES et al., 1989).

2.3.2 Técnicas isotópicas: uso da abundância natural do $\delta^{15}\text{N}$ para quantificação da FBN

Na natureza existem dois isótopos estáveis de nitrogênio, ^{14}N e ^{15}N . O isótopo pesado, ^{15}N , ocorre no N_2 atmosférico numa abundância constante de 0,3663 % (zero unidades de delta ^{15}N) e o restante (99,6337%) de ^{14}N (MORAIS, 2008). Técnicas baseadas no uso desses isótopos mostram-se bastante eficientes no estudo da fixação biológica de nitrogênio em sistemas agrícolas, permitindo a separação do nitrogênio do solo disponível para as plantas e o N_2 atmosférico (PEOPLES et al., 1997).

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

A técnica da abundância natural do isótopo ^{15}N baseia-se no fato de que o N mineral do solo (NO_3 e NH_4) é naturalmente enriquecido, ou menos frequentemente, empobrecido com o isótopo ^{15}N , em comparação ao N_2 atmosférico (SHEARER e KOHL, 1986). Esse enriquecimento ocorre durante os processos físicos, químicos e biológicos no sistema solo-planta, podendo resultar em um aumento na abundância natural do isótopo ^{15}N que quando comparado ao ar atmosférico, gera uma diferença expressa em unidades de $\delta^{15}\text{N}$ (SHEARER et al., 1978; MARIOTTI et al., 1982).

A abundância de ^{15}N no N mineral acumulada pela leguminosa é obtida analisando-se diferentes genótipos de plantas referência (testemunhas) não fixadoras de N, as quais são totalmente dependentes do solo para o seu crescimento e que estão crescendo próximo à leguminosa que fixa nitrogênio (SHEARER e KOHL, 1986; BODDEY, 1987). Com o aumento da FBN, a abundância do ^{15}N nas plantas fixadoras de N diminui, em função da ‘diluição’ do N assimilado no solo pelo N_2 atmosférico de baixo $\delta^{15}\text{N}$ fixado nos nódulos radiculares (PEOPLES et al, 1989). Assim, uma planta que fixa N do ar terá valores de $\delta^{15}\text{N}$ próximos a zero, já que a maior parte do N virá do ar e o padrão da técnica possui 0,3663 % de ^{15}N . Contudo as espécies não fixadoras crescendo no mesmo solo apresentarão uma abundância de ^{15}N semelhante ao solo e maior do que uma planta fixadora.

Para o cálculo da estimativa da FBN por meio da abundância natural utiliza-se a seguinte expressão (RESENDE et al., 2003; ALVES et al., 2005):

$$\% \text{FBN} = 100 \frac{(\delta^{15}\text{N ref}) - (\delta^{15}\text{N planta fixadora})}{(\delta^{15}\text{N ref} - \text{B})}$$

Sendo: $\delta^{15}\text{N ref}$ – Valor de $\delta^{15}\text{N}$ do solo obtido através de plantas não fixadoras, utilizadas como testemunha e coletadas em cada parcela experimental;

$\delta^{15}\text{N}$ planta fixadora – Valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta fixadora de N_2 (feijão-caupi);

B – Valor da discriminação isotópica de ^{15}N , ocorrido pelas plantas e crescendo exclusivamente dependente da FBN.

Essa técnica, assim como as outras utilizadas nos estudos de quantificação da FBN apresenta algumas limitações, pois necessita da premissa básica de que a abundância natural de ^{15}N das plantas, fixadora e não-fixadora de N_2 , absorvem o N do solo com a mesma marcação de ^{15}N (SHEARER e KOHL, 1986). Pode-se controlar esta limitação utilizando plantas-referência com desenvolvimento radicular e demanda de nitrogênio semelhante à planta estudada. Além disso, recomenda-se a utilização de várias espécies de plantas referências, de modo que, as variações de abundância decorrentes no tempo e no espaço sejam consideradas, fornecendo assim, um intervalo de confiança para o cálculo da FBN (SHEARER e KOHL, 1986; BODDEY et al., 2000).

2.4 Grupo Rizóbio

Dentre as simbioses de fixadores de N_2 com plantas, as de bactérias que nodulam leguminosas (BNL) ou “rizóbios” (termo coletivamente chamado) com leguminosas se destacam por sua importância ecológica, que está relacionada à sua ampla distribuição geográfica, como também econômica, já que ocorre uma maior eficiência do processo de FBN decorrente de uma parceria vegetal mais evoluída entre a planta e o microrganismo (MOREIRA, 2008).

A família Leguminosae, composta por aproximadamente 19.325 espécies distribuídos em 727 gêneros (LEWIS e al., 2005), destes 250 cultiváveis (FREIRE, 1992), se divide em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, que diferem bastante com relação ao hábito de crescimento de suas espécies, assim como a capacidade de associar-se com os rizóbios (MOREIRA, 2008). GILLER (2001) relata que sob condições naturais, as leguminosas são noduladas por estirpes, espécies e até gêneros de rizóbio diferentes, podendo esta diversidade ocorrer dentro do mesmo nódulo.

Os rizóbios são bactérias Gram negativas, aeróbicas obrigatórias sem endosporos, pertencentes a um dos gêneros (EUZÉBY, 1997), *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* entre outros, (ZAKHIA e LAJUDIE, 2001; SAWADA et al.,

2003; CHEN et al, 2003; GARRITY et al., 2007), que utilizam vários carboidratos e produzem polissacarídeos extracelulares (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

No início, todas as bactérias formadoras de nódulos em leguminosas eram classificadas em um único gênero chamado *Rhizobium*, que correspondia a bactérias de crescimento rápido, de reação básica e localização dos genes nod e nif no DNA extracromossômico (plasmídeo) (JORDAN, 1982), sendo inicialmente descritas as espécies: *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. lupini* e *R. japonicum*. Nesta classificação, as espécies eram descritas de acordo com os hospedeiros, levando-se em consideração também as características morfológicas e fisiológicas (FRED et al., 1932; WANG et al., 2008).

Posteriormente, esta taxonomia foi modificada e 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), além disso, foram encontradas muitas estirpes de origem tropical que apresentavam crescimento lento (5 a 7 dias), reação básica em meio de cultura LMA (Levedura Manitol Ágar) (VINCENT, 1970), com diâmetro menor ou igual a 1 mm e localização dos genes de nodulação (nod) e fixação de nitrogênio (nif) no cromossomo, designando-se o gênero *Bradyrhizobium* e a espécie *Bradyrhizobium japonicum* (JORDAN, 1984; WANG et al., 2008; SPRENT, 2009).

Outro grupo de bactérias de crescimento rápido, onde as características fisiológicas e bioquímicas indicavam posição taxonômica intermediária entre *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* foram encontrados em nódulos cultivados sob solos da China (KEYSER et al., 1982; XU e GE, 1984. Então SCHOLLA e ELKAN (1984) propuseram a criação de uma nova espécie, *Rhizobium fredii*, baseados principalmente em experimentos de hibridização de DNA.

As bactérias acima relacionadas são conhecidas como α -Proteobactérias, onde estão inseridas sete ordens, com todos os gêneros nodulíferos conhecidos e dispostos na ordem Rhizobiales. Das onze famílias dentro desta ordem, seis são atualmente conhecidos por conterem espécies formadoras de nódulos. Em alguns gêneros, como por exemplo, *Bradyrhizobium*, todas as espécies são capazes de induzir a nodulação, mas em outros, por exemplo, *Phyllobacterium*, a capacidade de nodulação é restrita a uma ou poucas espécies (SPRENT, 2009). Assim, hoje são consideradas quatro famílias (Rhizobiaceae, Bradyrhizobiaceae, Hyphomicrobiaceae, Methylobacteriaceae Brucellaceae e Phyllobacteriaceae), dez gêneros (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Shinella*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Devosia*, *Methylobacterium*, *Ochrobactrum* *Mesorhizobium* e *Phyllobacterium*) e mais de 300 espécies publicadas no banco de dados da Uniprot/taxonomy.

Embora fosse generalizado que todas as bactérias que nodulavam leguminosas eram alocadas no grupo alfa-Proteobactéria, MOULIN et al. (2001) verificou em nódulos de *Aspalathus carnosa* e *Macherium lunatum* estirpes do gênero *Burkholderia*, ambas pertencentes ao grupo β -proteobactéria. Essas estirpes posteriormente foram caracterizadas como *Burkholderia tuberum* e *Burkholderia phymatum* (VANDAMME et al., 2002). Em outro trabalho CHEN et al. (2001) e VERMA et al. (2004), isolaram de *Mimosa spp.* a espécie *Ralstonia taiwanensis*, posteriormente renomeada como *Cupriavidus taiwanensis* (VANDAMME e COENYE, 2004). Além desses, BARRETT e PARKER (2005) encontraram várias estirpes de *Burkholderia* isoladas de *Mimosa casta*, *M. pigra*, *M. pudica* e *Abarema macrademia*, todas pertencentes ao grupo das β -Proteobactéria .

As beta-proteobactérias contém seis ordens, com todos os membros nodulantes conhecidos na ordem Burkholderiales dentro da família Burkholderiaceae (SPRENT, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Avaliação de Estirpes de Rizóbio Inoculadas em Feijão-Caupi em Casa de Vegetação

3.1.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido na Embrapa Agrobiologia, em casa de vegetação estéril, no município de Seropédica, RJ (22° 46' S e 43° 41' O, 33 m de altitude) nos meses outubro a dezembro de 2008. O delineamento experimental foi o de blocos completos ao acaso, em arranjo fatorial 3 x 7 (três cultivares e sete tratamentos), em seis repetições. Foram utilizadas três cultivares de feijão-caupi (IPA 206, BRS Guariba e BRS Marataoã), cultivadas em vasos tipo *Leonard* (Vincent, 1970) contendo uma proporção de areia e vermiculita estéreis na relação por volume de 2:1. As sementes do feijão-caupi foram previamente desinfetadas, por imersão em álcool a 100% por 30 segundos e peróxido de hidrogênio a 5% por 3 minutos e 10 lavagens sucessivas com água destilada e esterilizada. Após o tratamento foram semeadas quatro sementes por vaso, realizando-se o desbaste e deixando uma planta por vaso, 15 dias após a semeadura. Foram utilizadas cinco estirpes de rizóbio, BR 3262, BR 3267, BR 3299, INPA 03-11B, UFLA 03-84, um tratamento controle isento de inoculante e nitrogênio e uma testemunha nitrogenada (100 mg vaso⁻¹ semana⁻¹ de N, na forma de NH₄NO₃) sem inoculação. As características das estirpes e das cultivares de feijão-caupi utilizadas nesse estudo encontram nas Tabelas Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3 e Tabela 4.

3.1.2 Avaliação do crescimento de estirpes, preparo dos inóculos e inoculação das plantas

As estirpes foram crescidas em meio de cultura YMA líquido, com indicador azul de bromotimol (FRED e WAKSMAN, 1928) (28°C; 48 horas). Em seguida alíquotas de 10µl foram transferidas para placas de Petri contendo meio YMA sólido com indicador vermelho congo, onde se procedeu a uma diluição seriada com quatro repetições entre 10⁻³ a 10⁻¹⁰. Após o surgimento das colônias nestas placas, foi feita a contagem das colônias, estimando o volume do inoculante necessário para a obtenção de uma concentração da ordem 10⁹ unidades formadoras de colônias por ml. De posse desta informação, cresceram-se novamente as estirpes em meio YMA líquido, com indicador azul de bromotimol (28°C; 48 horas) sob agitação (120 rpm). As plantas foram inoculadas com 1ml do inoculante para cada planta, cinco dias após a germinação das mesmas.

3.1.3 Irrigação e nutrição das plantas

Os nutrientes KCl (2mM); K₂HPO₄ (0,3mM); KH₂PO₄ (0,7mM); CaSO₄.5H₂O (0,3µM); ZnSO₄.7H₂O (0,7µM); MnSO₄ (1µM); (NH₄)₆ Mo₇O₂₄.4H₂O (0,002µM); H₃BO₃ (11,5µM); FeSO₄.7H₂O (17,9µM); ácido cítrico (26µM) adicionados à água foram fornecidos às plantas, semanalmente, em solução nutritiva (NORRIS, 1964), na dose de 0,25 L de solução por vaso. A irrigação foi feita com água destilada esterilizada, quando necessário.

3.1.4 Colheita do experimento e variáveis analisadas

As plantas de feijão-caupi foram coletadas aos 55 dias (estágio de florescimento) após o plantio (DAP) para análise das seguintes variáveis: número de nódulos, massa seca dos nódulos e massa seca da parte aérea (Figura 2). A parte aérea foi separada das raízes em corte no ponto de inserção cotiledonar, próximo à base do caule, e os nódulos foram retirados e contados. Posteriormente nódulos e parte aérea foram colocados em sacos de papel e secados em estufa com circulação forçada de ar a 65-70 °C até peso constante.

Tabela 1 – Identificação e características das estirpes de rizóbio.

Estirpe	Característica cultural				Local de Origem e Referência
	TC ⁽¹⁾	D ⁽²⁾	pH ⁽³⁾	COR ⁽⁴⁾	
BR 3262	5	1	Alcalino	Branca	SIPA, Seropédica-RJ (ZILLI et al., 1999)
BR 3267	5	1-2	Ácido	Branca	Semi-Árido Nordestino (MARTINS et al., 1997)
INPA 03-11 B	7	1	Alcalino	Branca	Amazônia, Manaus-AM (MOREIRA, 2005)
UFLA 03-84	6	1-2	Alcalino	Branca	Amazônia, Jí-Paraná-RO (LACERDA et al., 2004)
BR 3299	3	<0,5	Alcalino	Amarela	Zona da Mata, Aracaju-SE (MARTINS, 1996)

⁽¹⁾ Tempo em dias de crescimento de colônias isoladas. ⁽²⁾ Diâmetro da colônia (mm). ⁽³⁾ Alteração do pH meio de cultivo. ⁽⁴⁾ Coloração das colônias.

Tabela 2 – Características da cultivar de feijão-caupi IPA-206 (IPA, 1990; MAPA).

Caráter	Característica
Hábito de crescimento	Indeterminado
Porte	Semi-prostrado
Cor da flor	Roxa
Cor da vagem imatura	Roxa
Cor da vagem madura	Roxa
Cor da vagem seca	Roxa
Comprimento da vagem	18 cm
Nº de grãos por vagem	12
Nível de inserção das vagens	Acima da folhagem
Forma da semente	Arredondada
Cor do tegumento	Marrom
Peso de 100 grãos	20 g
Classe comercial	Mulato
Nº de dias para floração	38-45 dias
Ciclo	70 dias

Tabela 3 – Características da cultivar de feijão-caupi BRS Guariba (FREIRE FILHO et al., 2007).

Caráter	Característica
Hábito de crescimento	Indeterminado
Porte	Semi-ereto
Cor da flor	Branca
Cor da vagem imatura	Roxa
Cor da vagem madura	Roxa
Cor da vagem seca	Roxa
Comprimento da vagem	17,8 cm
Nº de grãos por vagem	12
Nível de inserção das vagens	Acima da folhagem
Forma da semente	Arredondada
Cor do tegumento	Branca
Cor do halo	Sem halo
Peso de 100 grãos	19,5 g
Classe comercial	Branca
Subclasse comercial	Branca
Nº de dias para floração	41 dias
Ciclo	65-70 dias

Tabela 4 – Características da cultivar de feijão-caupi BRS Marataoã (FREIRE FILHO et al., 2005).

Caráter	Característica
Hábito de crescimento	Indeterminado
Porte	Semi-prostrado
Cor da flor	Roxa
Cor da vagem imatura	Verde-clara
Cor da vagem madura	Amarela
Cor da vagem seca	Amarela-clara
Comprimento da vagem	18 cm
Nº de grãos por vagem	15
Nível de inserção das vagens	Acima da folhagem
Forma da semente	Arredondada
Cor do tegumento	Esverdeado
Cor do halo	Verde
Peso de 100 grãos	15,5 g
Classe comercial	Cores
Subclasse comercial	Sempreverde
Nº de dias para floração	42 dias
Ciclo	70-75 dias

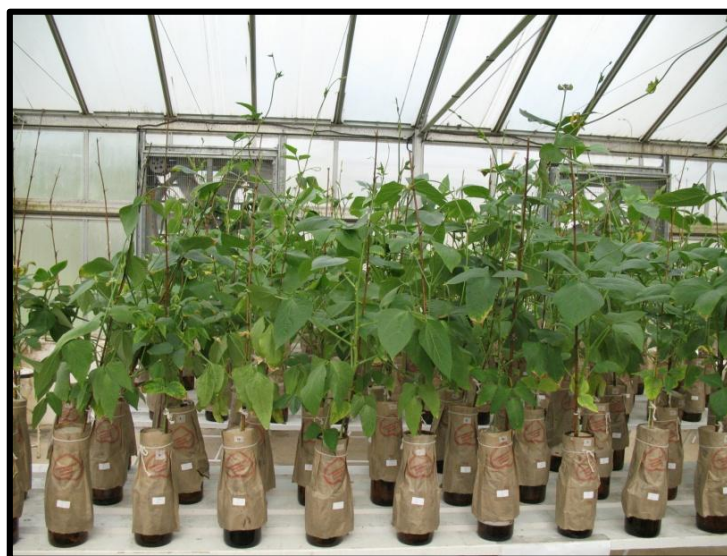


Figura 2 – Feijão-caupi aos 55 DAP, Seropédica-RJ, 2008.

3.1.5 Análise estatística

Para testar a normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros foram utilizados os testes de Lilliefors e de Cochran e Bartley, respectivamente, contidos no programa estatístico SAEG 9.1. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p < 0,05$) empregando-se o programa de análise estatística SISVAR, versão 4.0 (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.2 Eficiência de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi Cultivado em Roça Triturada na Pré-Amazônia Maranhense

3.2.1 Organismos e preparo dos inoculantes

As estirpes BR 3299, BR3262 e INPA 03-11 B, foram selecionadas para os testes em campo, em virtude dos bons resultados observados na fase de casa de vegetação. O inoculante foi preparado crescendo-se inicialmente as bactérias em meio YMA líquido por 72 horas e aplicação em turfa esterilizada, sendo a concentração obtida no inoculante da ordem de 10^9 células g^{-1} do inoculante.

3.2.2 Controle de qualidade de inoculante: diluição seriada e contagem pelo método da gota (*drop plate*)

Foi retirada uma amostra de 1 g de cada inoculante e adicionada a tubos Falcon contendo 9,0 ml de solução salina (sais do meio 79 adicionados a 0,5 ml de Tween 80/L), formando a diluição 10^{-1} . Em seguida as amostras foram homogeneizadas em agitador orbital por 10 min, retirando-se uma alíquota de 100 μ L e dispensando-a no primeiro tubo eppendorf de uma das séries de diluição (diluição 10^{-2}) e homogeneizando o frasco tampado em um agitador de tubos. Repetindo-se este procedimento, foram feitas diluições seriadas até a ordem de 10^{-10} . Posteriormente procedeu-se o plaqueamento de duas diluições por placa, com quatro repetições, através da marcação de 8 divisões em cada placa. Retirou-se quatro alíquotas de 10 microlitros (μ L) das diluições 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} das soluções dos inoculantes e adicionou-as na superfície do meio 79 com vermelho congo contido nas placas. Foram feitas duas repetições para cada diluição, distribuída em duas placas distintas, com quatro repetições.

3.2.3 Estimativa do número de rizóbios no solo através do método do NMPP (número mais provável em plantas)

Antes do plantio, foi coletada uma amostra de solo composta, formada por 10 sub-amostras simples. Após a coleta, as amostras foram estocadas em geladeira. Para a estimativa do NMPP (número mais provável em plantas), foi utilizado o método descrito por WOOMER et al. (1988), onde inicialmente, as amostras foram destorroadas e 1,0 g de solo foi transferido para um tubo Falcon, contendo 9,0 ml de solução fisiológica (0,85% de NaCl). As amostras foram então agitadas (10 minutos; 5000 rpm) em um agitador orbital. Considerou-se esta diluição 10^{-1} . Posteriormente, retirou-se uma alíquota de 1,0 ml desta solução e acrescentou-a a outro tubo Falcon contendo 9,0 ml de solução fisiológica, procedendo-se à homogeneização desta solução em um agitador de tubos, tendo-se assim a diluição 10^{-2} . Repetindo-se este procedimento, fizeram-se diluições seriadas até a ordem de 10^{-10} .

Como planta hospedeira, utilizou-se o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), cultivar BRS Guariba, a qual foi plantada em vasos tipo *Leonard* (VINCENT, 1970). A inoculação das plantas foi realizada com 1,0 ml das amostras de solo diluídas, cinco dias após o plantio. As plantas foram coletadas aos 30 dias observando-se a formação de nódulos e estimando-se o número de rizóbios no solo, através das tabelas apresentadas por WOOMER (1994).

3.2.4 Histórico da área

O experimento foi instalado no município de Santa Luzia do Paruá, no Maranhão, em área de monocultivo de feijão-caupi e sob roça triturada pertencente à família do agricultor Juarez Canuto Vieira, no período de maio a julho de 2009. A escolha da área foi realizada pelo Dr. Antônio Carlos Reis de Freitas (Pesquisador da Embrapa Meio-Norte e professor do Curso de Mestrado em Agroecologia da UEMA), o qual também concedeu valiosa colaboração na condução dos experimentos (Figura 3). As informações sobre o histórico da

área foram coletadas por meio de entrevista ao agricultor, proprietário da área, durante a amostragem do material vegetal.

A roça triturada antes de formada era uma capoeira composta basicamente por cipós e palmeiras e tinha três anos de idade. A exploração dessa área foi iniciada em 1999, com derrubada, queima e cultivo, seguidos de períodos de pousio de 3 anos.



Figura 3 – Área de capoeira antes da instalação do experimento. Agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.

3.2.5 Localização e descrição da área

Santa Luzia do Paruá (MA) (Figura 5) está situada a 02° 37' 44" S, 45° 46' 22" W e quase ao nível do mar (Figura 5) e possui uma área territorial de 905 km², distanciando-se de São Luis, capital do estado, aproximadamente 400 km (IBGE). Localiza-se na mesorregião do Oeste Maranhense e microrregião de Pindaré que pertencem à região de Pré-Amazônia. O clima é classificado como Aw'ou tropical quente e úmido, de acordo com a classificação de KÖPPEN (1936), apresentando uma estação chuvosa e outra seca, com temperatura média anual de 27° C, umidade relativa do ar anual de 77 % e com 1.800 a 1.900 mm anuais de precipitação total. As condições climáticas da região no período da realização do trabalho estão apresentadas na Figura 4. O solo da área continha as seguintes características químicas, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm, com base em análises de amostras de terra realizadas de acordo com as recomendações da EMBRAPA (1997), constando os resultados na Tabela 5.

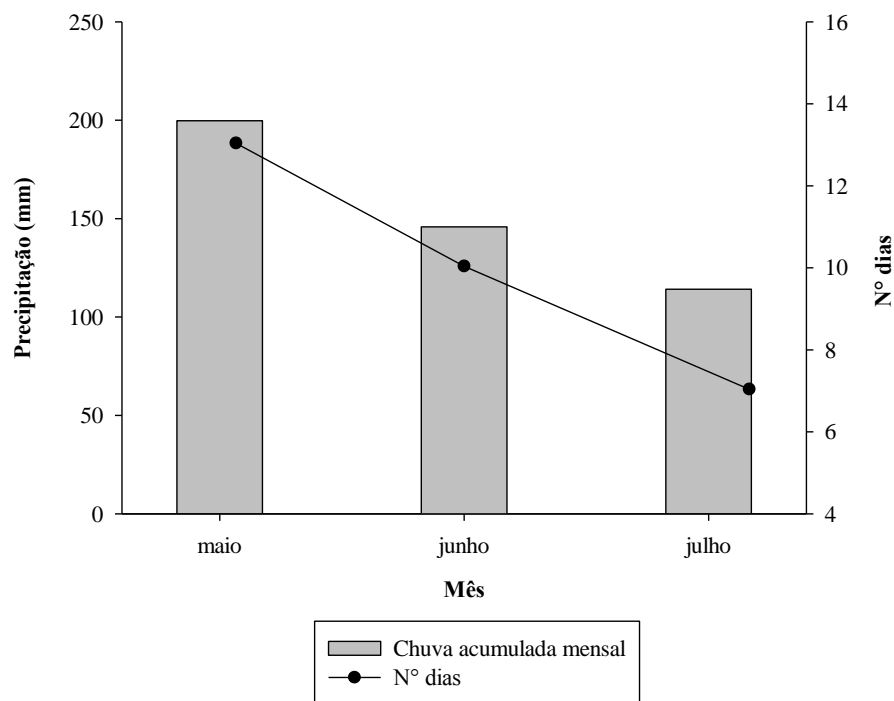


Figura 4 – Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Área agricultor Juarez, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009. Fonte: INMET, Zé Doca-MA.

Tabela 5 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Área agricultor Juarez, Santa Luzia-MA, 2009.

Profundidade	pH	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	P	K ⁺
cm		cmolc/dm ³			mg/dm ³	
0-10	5,44	0,3	1,59	4,93	3,53	94,04
10-20	4,65	2,5	0,06	0,70	9,39	78,82



Figura 5 – Município de Santa Luzia do Paruá, MA. Retirado de www.IBGE.gov. Acesso em jun. 2009.

3.2.6 Procedimento experimental e tratamentos

O preparo da área foi realizado via corte e trituração da biomassa vegetal (*slash-and-mulch*) com uso de um trator puxando um fresador florestal (modelo AHWI-600; Figura 6). Após a trituração foi feita a correção do solo aplicando-se a lanço, sem incorporação 1,5 Mg/ha de calcário com PRNT 95,2%; CaO - 29,6%; MgO - 19,5%, em seguida foi feita a semeadura do milho (*Zea mays L.*), que serviu apenas de cobertura morta para o cultivo do feijão-caupi.

Para o plantio do feijão-caupi as covas foram abertas com auxílio de enxadas e a semeadura foi realizada manualmente, ocorrendo logo após a inoculação das sementes. O delineamento experimental foi o de blocos completos casualizados com cinco tratamentos e seis repetições.

Foram aplicadas doses de 60 e 20 kg/ha de P_2O_5 e K_2O , respectivamente na semeadura, de acordo com MELO et al. (2005) e com base na análise de solo, realizada antes da implantação do experimento. As fontes de fósforo e potássio foram o superfosfato simples e o cloreto de potássio, respectivamente.

As sementes de feijão-caupi (BRS Guariba) foram inoculadas separadamente com as estirpes de rizóbio BR 3262; BR 3299 e INPA 03-11B. A dosagem utilizada foi de 100 g de inoculante para 10 kg de semente, e a inoculação foi realizada com o umedecimento prévio das sementes com uma solução açucarada (10 % p v⁻¹) na proporção de 6 mL kg⁻¹ de semente (HUNGRIA et al., 2001). As características da cultivar BRS Guariba (FREIRE FILHO, et al., 2007) encontram-se na Tabela 3.

No plantio colocaram-se cerca de 4 sementes por cova semeado no espaçamento de 0,5 m x 0,25 m sendo cultivada em condições de sequeiro. O desbaste foi realizado aos quinze dias após a semeadura, deixando-se apenas duas plantas por cova. A parcela experimental correspondeu a 24 m², com quatro fileiras de 6,0 m de comprimento, tendo como área útil as seis fileiras centrais.

Os tratamentos avaliados foram compostos pelas estirpes, BR 3262 e INPA 03-11B, já recomendadas; estirpe BR 3299, em processo de recomendação; um tratamento controle isento de inoculante e de adubação com N; e uma testemunha nitrogenada (80 kg de N/ha)

sendo aplicado 40 kg no plantio e o restante aos 30 DAE, tendo como fonte de N a uréia e sem inoculação.



Figura 6 – Máquina utilizada para corte e trituração da biomassa vegetal (fresador florestal modelo AHWI-600). Fonte: FREITAS, A.C.R. Evaluating Agricultural Systems Based on Mulch Technology: A Case Study. International Research on Food Security, Natural Resource Management and Rural Development, 2005.

3.2.7 Amostragem e análises do material vegetal

Foram coletadas dez plantas com as raízes intactas da terceira linha de cada lado da parcela aos 30 DAE (dias após a emergência da cultura, fase de florescimento; Figura 7), conforme recomendado pela RELARE (2008) e aos 50 DAE (fase de enchimento de grãos; Figura 7).

Para avaliação dos tratamentos foram determinadas as seguintes variáveis:

- a) Número de nódulos por planta – determinado através da retirada das raízes e posterior contagem manual dos nódulos;
- b) Massa seca de nódulos – feita a partir da pesagem dos nódulos retirados para contagem da nodulação, os quais foram secos em estufa de circulação forçada de ar à 65-70 °C durante 72 h;
- c) Massa seca da parte aérea – a parte aérea (caule e folhas) das plantas foi separada das raízes em corte no ponto de inserção cotiledonar, próximo à base do caule, para secagem em estufa de circulação forçada de ar à 65-70 °C durante 72 h;
- d) Eficiência relativa – calculada através da divisão da massa seca da parte aérea dos tratamentos inoculados pela massa seca da parte aérea do tratamento com 80 kg h⁻¹ de N, multiplicando-se por 100 (BERGENSEN et al., 1971);
- e) Acúmulo de N na parte aérea – calculado a partir do teor de N total analisado pelo método Kjeldahl, de acordo com a metodologia descrita pela EMBRAPA (1997) multiplicando-se pela massa seca da parte aérea que após a pesagem foi moída em moinho tipo Wiley (peneiras de 2,0 mm);
- f) Comprimento de vagens – obtido a partir da média de cinco vagens retiradas da área útil, medidas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros;
- g) Peso de vagens – oriundo das vagens usadas para determinação da variável anterior;
- h) Número de vagens – feito a partir da relação total de vagens da área útil pelo número de plantas desta área;

- i) Número de grãos por vagem – as vagens obtidas da variável anterior foram triadas e os grãos destas contados;
- j) Peso de 100 grãos – determinado através da contagem e pesagem de 100 grãos;
- l) Produtividade de grãos - avaliada aos 65 DAE, com umidade corrigida para 13%; e
- m) Análises de correlações entre as variáveis estudadas.

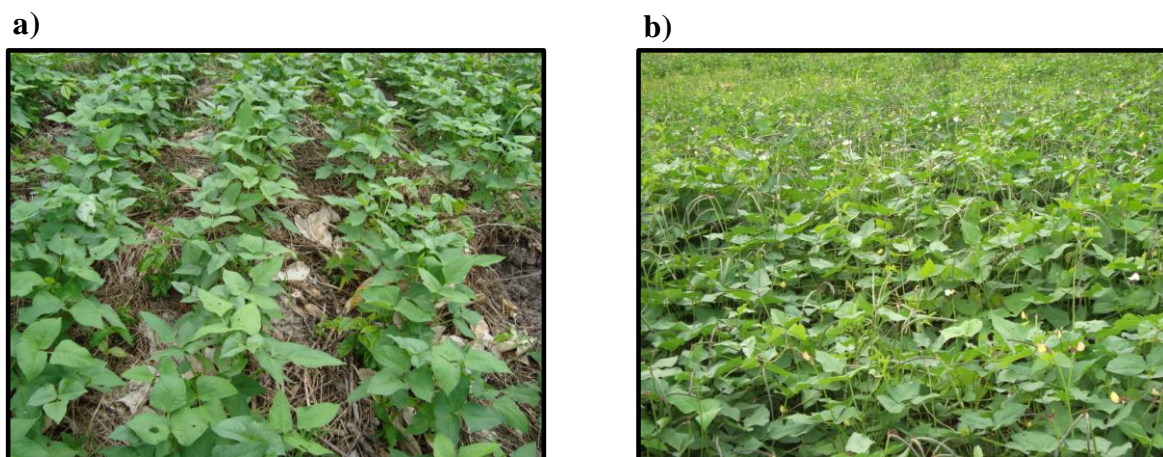


Figura 7 – Feijão-caupi: a) aos 30 DAE; b) aos 50 DAE. Santa Luzia do Paruá-MA, 2009.

3.2.8 Análise estatística

Para testar a normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros foram utilizados os testes de Lilliefors e de Cochran e Bartley, respectivamente, contidos no programa estatístico SAEG 9.1. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p < 0,05$) utilizando-se o teste F e quando este foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade empregando-se o programa de análise estatística SISVAR, versão 4.0 (FERREIRA, 2000).

3.3 Avaliação Simbiótica de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi sob Capoeira Triturada na Pré-Amazônia Maranhense

3.3.1 Organismos e preparo dos inoculantes

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.3.2 Controle de qualidade de inoculante rizobiano: diluição seriada e contagem pelo método da gota (drop plate)

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.3.3 Estimativa do número de rizóbios no solo através do método do NMPP (número mais provável em plantas)

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.3.4 Histórico da área

Este estudo foi implantado no município de Santa Luzia do Paruá, estado do Maranhão, em área de monocultivo de feijão-caupi e sob capoeira triturada pertencente à família do agricultor José Elias Sobrinho, no período de junho a agosto de 2009. A escolha da área e colaboração na condução do experimento foi realizada pelo Dr. Antônio Carlos Reis de

Freitas (Figura 8). As informações sobre o histórico das áreas foram feitas por meio de entrevista ao agricultor, durante a amostragem do material vegetal.

A capoeira triturada, antes de formada era composta basicamente por palmeiras e possuía aproximadamente três anos de idade. A exploração dessa área foi iniciada em 1999, com derrubada, queima e cultivo, seguidos de períodos de pousio de 3 anos.



Figura 8 – Área de capoeira antes da instalação do experimento. Agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia-MA, 2009.

3.3.5 Localização e descrição da área

Santa Luzia do Paruá (MA) (Figura 5) localiza-se a $02^{\circ} 37' 44''$ S, $45^{\circ} 46' 22''$ W e altitude ao nível do mar (Figura 5) e situa-se na mesorregião do Oeste Maranhense e microrregião de Pindaré que pertencem à região de Pré-Amazônia. O clima é classificado como *Aw* ou tropical quente e úmido, de acordo com a classificação de KÖPPEN (1936), apresentando uma estação chuvosa e outra seca, com temperatura média anual de 27° C, umidade relativa do ar média anual de 77 % e com 1800 a 1900 mm anuais de precipitação total. As condições climáticas da região no período da realização do experimento estão apresentadas na Figura 9. O solo da área continha as seguintes características químicas, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm, com base em análises de amostras de terra realizadas de acordo com as recomendações da EMBRAPA (1997), constando os resultados na Tabela 6.

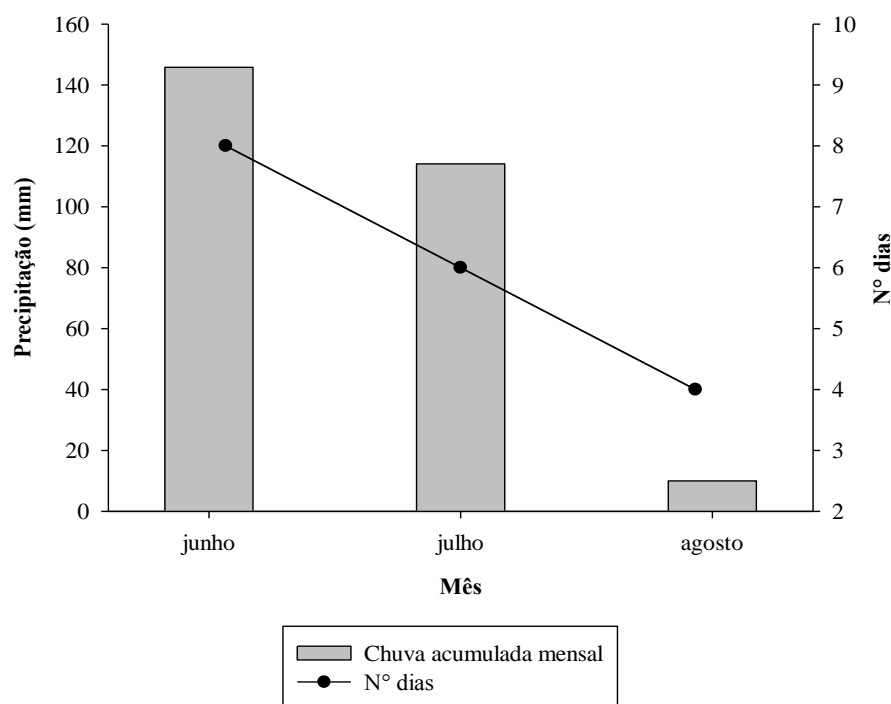


Figura 9 - Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009. Fonte: INMET, Zé Doca-MA.

Tabela 6 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia-MA, 2009.

Profundidade	pH	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	P	K ⁺
cm		cmolc/dm ³			mg/dm ³	
0-10	5,69	0,2	2,57	3,45	38,10	481,58
10-20	4,78	1,5	0,66	0,95	3,46	106,11

3.3.6 Procedimento experimental e tratamentos

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.3.7 Amostragem e análises do material vegetal

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.3.8 Análise estatística

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

3.4 Inoculação de Estirpes de Rizóbio e Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijão-Caupi Cultivado em Latossolo Amarelo na Zona da Mata Pernambucana

3.4.1 Organismos e preparo dos inoculantes

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2)

3.4.2 Controle de qualidade de inoculante rizobiano: diluição seriada e contagem pelo método da gota (drop plate)

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2)

3.4.3 Histórico da área

O presente estudo foi realizado no município de Paudalho, estado de Pernambuco de agosto a outubro de 2009, em uma propriedade particular, em área de monocultivo de feijão-caupi e sob sistema de plantio convencional, sem utilização anterior de qualquer inoculante. Esta etapa contou com o precioso e importante auxílio da Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos (Professora do Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFRPE), na escolha da área e condução do experimento (Figura 10).

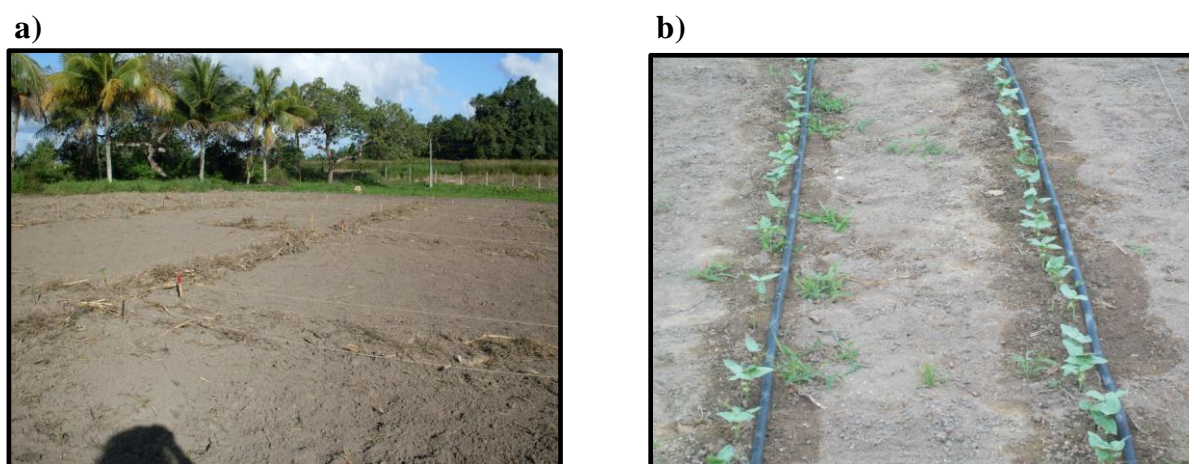


Figura 10 – Área do experimento: a) antes da instalação; b) Feijão-caupi com 15 dias após o plantio. Paudalho-PE, 2009.

3.4.4 Localização e descrição da área

Paudalho-PE (Figura 11) localiza-se a 07°53'49" S e 35°10'48" W e apresenta uma extensão territorial de 278 km², distanciando-se a 40 km da capital Recife. Situa-se na mesorregião Mata e microrregião Mata Setentrional do Estado de Pernambuco, que pertencente a região de Zona da Mata. O clima é do tipo As ou tropical úmido com verão seco, de acordo com a classificação de KÖPPEN (1936) e caracteriza-se por apresentar temperatura média de 25°C, umidade relativa do ar média de 80% e precipitação pluvial média anual de 1.702 mm (FIAM, 1994). O solo da área foi classificado como Latossolo Amarelo e continha os seguintes atributos químicos, na camada de 0-20 cm, com base em análises de amostras de terra realizadas de acordo com as recomendações da EMBRAPA (1997), constando os resultados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultado da análise química de terra antes da implantação do experimento. Paudalho-PE, 2009.

Profundidade cm	M.O -g/kg-	pH	Al ⁺³	H+Al	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	CTC	K ⁺	P
					cmolc/dm ³					-mg/dm ³ -
0-20	14,1	5,46	0,09	2,1	1,40	0,55	0,0042	4,08	0,08	9,6

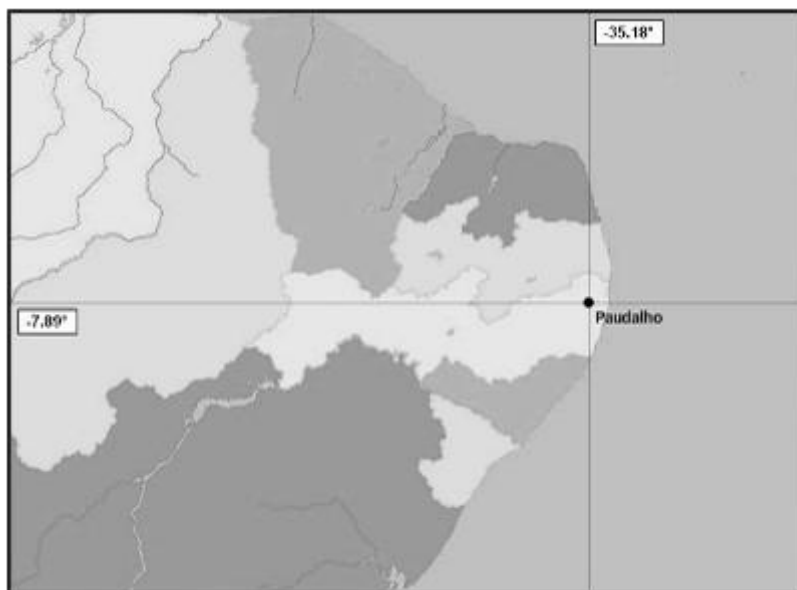


Figura 11 – Município de Paudalho, PE. Retirado de www.IBGE.gov. Acesso em ago. 2009.

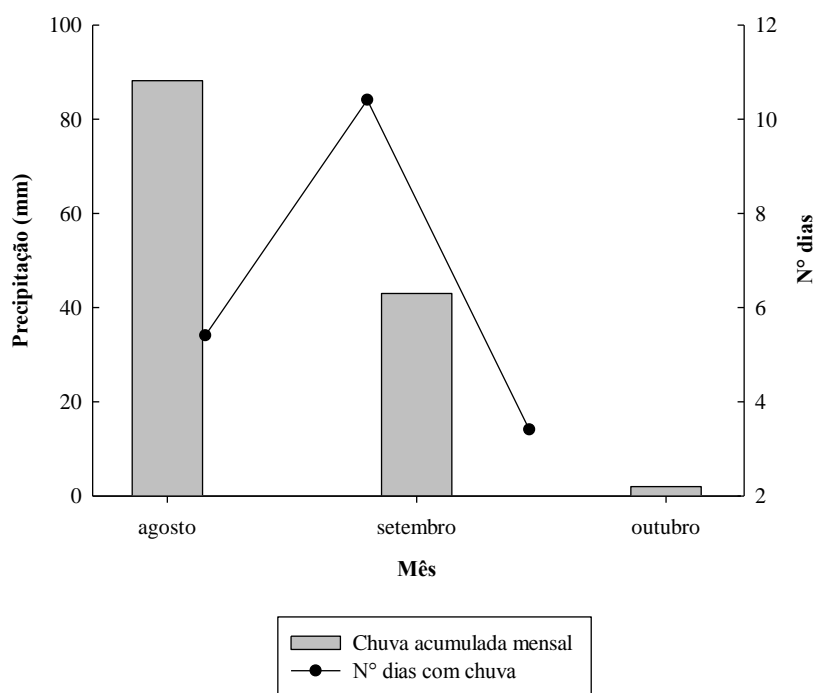


Figura 12 - Chuva acumulada x número de dias com chuva no período de condução do experimento. Paudalho-PE, 2009. Fonte: LAMEPE/ITEP.

3.4.5 Procedimento experimental e tratamentos

O preparo do solo foi constituído por uma aração, onde os restos vegetais de lavoura de milho (*Zea mays L.*) na área foram incorporados para posterior cultivo do feijão-caupi.

O plantio do feijão-caupi, o delineamento experimental, o número de tratamentos, as repetições, a inoculação das sementes e a cultivar de feijão-caupi foram realizadas de acordo com o citado no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2). No plantio colocaram-se

cerca de 3 sementes por cova e semeado no espaçamento de 0,5 m x 0,25 m sendo conduzido com irrigação por gotejamento.

3.4.6 Amostragem e análises do material vegetal

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

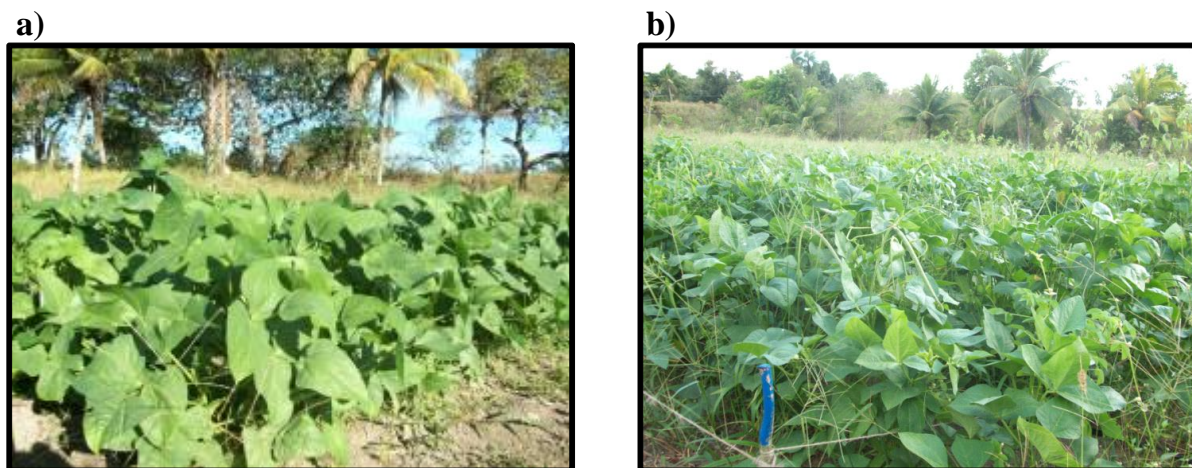


Figura 13 – Feijão-caupi: a) aos 30 DAE; b) aos 50 DAE. Paudalho-PE, 2009.

3.4.7 Análise estatística

Como descrito no experimento de eficiência de estirpes (subitem 3.2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação de Estirpes de Rizóbio Inoculadas em Feijão-Caupi

4.1.1 Nodulação

Em relação ao efeito das estirpes, houve diferenças no número de nódulos, na média geral entre os tratamentos com as estirpes BR 3267 e BR 3299. Quanto à avaliação das cultivares, a IPA 206 e a BRS Marataoã se sobressaíram no número de nódulos, no tratamento com a estirpe BR 3262, em relação à BRS Guariba. Já cultivar BRS Marataoã, obteve maior número de nódulos com a estirpe INPA 03-11B, em relação às demais cultivares. Em relação à média geral a cultivar BRS Marataoã foi superior às demais cultivares (Tabela 8).

Tabela 8 - Número de nódulos aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008.

Tratamentos	Cultivares			Média
	IPA 206	BRS Guariba	BRS Marataoã	
	Número de nódulos (nº planta ⁻¹)			
BR 3262	262 Aa	130 Bb	333 Aa	241 B
BR 3267	391 Aa	284 Aa	353 Aa	343 A
BR 3299	343 Aa	333 Aa	367 Aa	348 A
INPA 03-11B	214 Ab	155 Bb	389 Aa	253 B
UFLA 03-84	244 Aa	334 Aa	292 Aa	290 B
Controle (S/I)	-	-	-	-
100 mg de N	-	-	-	-
Média	208 b	177 b	248 a	
CV (%)				11,95

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

Quanto à massa seca dos nódulos, foi observada diferença significativa da cultivar BRS Marataoã, com a estirpe INPA 03-11B, em relação às demais cultivares. Na média geral as cultivares IPA 206 e BRS Marataoã obtiveram valores superiores em relação à BRS Guariba (Tabela 9).

Tabela 9 - Massa seca dos nódulos aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão caupi. Seropédica-RJ, 2008.

Tratamentos	Cultivares			Média
	IPA 206	BRS Guariba	BRS Marataoã	
	Massa seca dos nódulos (mg planta ⁻¹)			
BR 3262	596,6 Aa	331,9 Aa	522,8 Aa	483,5 A
BR 3267	564,0 Aa	407,8 Aa	722,9 Aa	564,9 A
BR 3299	575,8 Aa	510,9 Aa	526,5 Aa	537,7 A
INPA 03-11B	459,0 Ab	273,2 Ab	672,3 Aa	468,2 A
UFLA 03-84	469,5 Aa	519,3 Aa	609,9 Aa	532,8 A
Controle (S/I)	-	-	-	-
100 mg de N	-	-	-	-
Média	380,6 a	291,9 b	436,3 a	
CV (%)				12,51

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

Alguns autores citam que o número e a massa dos nódulos são indicadores usuais da capacidade de nodulação da planta. No entanto, é sempre necessário que esses parâmetros estejam associados à eficiência da nodulação (FERREIRA e CASTRO, 1995). Apesar de não ter sido avaliado o N acumulado pela planta neste experimento, contudo em DOBEREINER (1966), mostra que há uma correlação positiva entre a massa nodular e a quantidade de N acumulado em leguminosas. Essa correlação positiva foi constatada por WADISIRISUK e WEAVER (1985) em estudos de nodulação com o feijão-caupi. Esse efeito sugere que plantas com maior número de nódulos fixam mais N, embora, de acordo com HANSEN et al. (1993), essa correlação não seja linear, sendo necessário para a otimização da FBN não só muitos nódulos, mas nódulos eficientes.

A massa de nódulos é um parâmetro intimamente relacionado com a FBN e tem sido recomendado para programas de melhoramento que objetivam o aumento da fixação de N₂. As correlações entre esse parâmetro e a quantidade de N fixado, permitem uma redução substancial no tempo, nos materiais desses programas e nos custos (ANKOMAH et al., 1996).

4.1.2 Biomassa seca

Com relação à produção de massa seca da parte aérea, as cultivares BRS Marataoã e IPA 206 apresentaram valores superiores em relação a cultivar BRS Guariba (Tabela 10). Resultados semelhantes foram observados por XAVIER et.al (2007), em estudo avaliando duas cultivares de feijão-caupi inoculadas com a estirpe de *Bradyrhizobium sp.*(BR 2001).

De modo geral, observaram-se respostas positivas à inoculação com as estirpes avaliadas nesse estudo, sendo que os resultados apresentados na massa seca da parte aérea para as todas elas, foram similares ao tratamento com 100 mg de N nas cultivares IPA 206 e BRS Marataoã.

A estirpe BR 3299, por exemplo, contribuiu com 100 e 56% de aumento na massa seca da parte aérea nas cultivares IPA-206 e BRS Marataoã, respectivamente em relação ao controle (S/I). Resultados preliminares sugerem que a estirpe BR 3299 apresenta eficiência agrônômica superior às estirpes recomendadas para feijão-caupi em condições de campo (FREITAS et al., 2007).

Tabela 10 - Massa seca da parte aérea aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008.

Tratamentos	Cultivares			Média
	IPA 206	BRS Guariba	BRS Marataoã	
	Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)			
BR 3262	7,61 Aa	4,73 Ba	7,63 Aa	6,66 A
BR 3267	6,72 Aa	4,36 Ba	6,53 Aa	5,87 A
BR 3299	6,38 Aa	5,18 Ba	6,01 Aa	5,85 A
INPA 03-11B	6,78 Aa	3,33 Bb	8,65 Aa	6,25 A
UFLA 03-84	6,47 Aa	6,62 Ba	7,37 Aa	6,82 A
Controle (S/I)	3,19 Ba	1,04 Cb	3,84 Ba	2,69 B
100 mg de N	6,98 Aa	7,58 Aa	6,09 Aa	6,88 A
Média	6,30 a	4,69 b	6,59 a	
CV (%)				28,46

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

Foram realizadas análises de correlações entre as variáveis avaliadas e observou-se que houve correlação significativa positiva entre número de nódulos x massa seca de nódulos (r = 0,71). Essa alta correlação demonstrou que o maior número de nódulos está intimamente associado à sua massa seca, ou seja, os tratamentos com maiores números, também

apresentaram aumentos na massa seca de nódulos. Verificou-se correlação positiva entre o número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,58$) e massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,80$) (Tabela 11). Esses resultados, foram superiores aos obtidos por NASCIMENTO et al. (2010), os quais obtiveram valor de $r = 0,64$. De acordo com o autor citado, à medida que ocorre aumento da biomassa seca de nódulos, têm-se um incremento na sua biomassa seca da parte aérea.

Tabela 11 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 5 estirpes aos 55 dias após o plantio (DAP) em feijão-caupi. Seropédica-RJ, 2008 ⁽¹⁾.

	NN	MSN
MSN	0,71**	
MSPA	0,58**	0,80**

⁽¹⁾ NN: número de nódulos; MSN: massa seca de nódulos; MSPA: massa seca da parte aérea. Valores seguidos por (**) indicam diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Pearson.

4.2 Eficiência de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi Cultivado em Roça Triturada na Pré-Amazônia Maranhense

4.2.1 Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE

Os resultados apresentados a seguir são relativos às coletas realizadas no período de junho e julho, referentes à área do agricultor Juarez Canuto Vieira.

Aos 30 DAE foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) dos tratamentos inoculados, BR 3299 e INPA 03-11 B, que produziram maiores números de nódulos em relação ao tratamento controle (S/I), sendo que a estirpe BR 3299 foi 76 e 9% superior às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente (Tabela 12). Nos tratamentos que não receberam inoculação, controle (S/I) e 80 kg de N, foi observada considerável nodulação, em virtude da população nativa de bactérias nodulantes. Diferente das observações realizadas por LACERDA et al. (2004), SALVAGIOTII et al. (2008) e MELO e ZILLI (2009), o tratamento com 80 kg de N não restringiu a nodulação, fato este também observado por outros autores como SOARES et al. (2006) e SILVA et al. (2008).

Quanto à massa seca de nódulos a análise de variância mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) das bactérias, BR 3299 e INPA 03-11 B, que obtiveram valores maiores que o observado no controle (S/I). Em consequência do maior número de nódulos, estas bactérias também se sobressaíram em relação à BR 3262 (Tabela 12).

Os resultados de nodulação mostram que as estirpes utilizadas desempenharam um papel fundamental de suprimento de N ao feijão-caupi, contudo o menor valor de número de nódulos e consequentemente de massa seca de nódulos, especialmente da BR 3262, cerca de 13 nódulos por planta, pode estar associada a fatores climáticos (precipitação pluviométrica), uma vez que o excesso de água inibe a formação e o desenvolvimento dos nódulos, além da baixa disponibilidade de oxigênio onde as bactérias podem liberar substâncias tóxicas inibidoras da nodulação de acordo com OSA-AFIANA e ALEXANDER (1979). De acordo com MELO e ZILLI (2009) que realizaram um estudo similar à este em ambiente de Cerrado, no estado de Roraima, destacaram que esse efeito pode estar relacionado a fatores edáficos, especialmente aos baixos teores de Ca e Mg observados na camada de 10-20 cm, ou à competição dos rizóbios nodulantes de feijão caupi presentes no solo.

Em relação à massa seca da parte aérea foram observados resultados superiores da bactéria BR 3299 e do tratamento com 80 kg de N em comparação ao tratamento controle (S/I) (Tabela 12), sendo que a estirpe BR 3299 foi 64, 24 e 30 % superior ao controle (S/I) e às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente.

Quanto à eficiência relativa foi observada diferença significativa, na qual a estirpe BR 3299 e o tratamento com 80 kg de N obtiveram resultado superior aos demais tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12– Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca da parte aérea	Eficiência relativa
	(n ^o planta ⁻¹) ⁽²⁾	(mg planta ⁻¹) ⁽²⁾	(g planta ⁻¹)	%
	30 DAE			
BR 3299	23 a	95,8 a	2,6 a	105,3 a
BR 3262	13 bc	65,5 ab	2,1 bc	84,3 bc
INPA 03-11B	21 ab	90,3 a	2,0 bc	81,1 cd
Controle (S/I)	8 c	36,0 b	1,6 c	64,4 d
80 kg de N	13 c	61,8 ab	2,5 ab	100,0 ab
Média	15,6	69,9	2,2	87,0
CV (%)	23,3	22,2	19,9	16,7

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

⁽²⁾ Dados transformados para raiz quadrada.

De modo geral aos 50 DAE, houve uma diminuição no número e massa seca de nódulos em todos os tratamentos em relação à avaliação dos 30 DAE (Tabela 12). Para GUALTER et al. (2008) este efeito pode caracterizar o início da senescência nodular, provavelmente associado ao ciclo precoce da cultivar utilizada neste estudo, que é aproximadamente 65 dias. De acordo com HUNGRIA e VARGAS (2000) em se tratando desta fase de enchimento de grãos, os fotossintatos produzidos pela planta e que eram transportados aos nódulos, passam a ser enviados às vagens para posterior nutrição dos grãos (Tabela 13). Em contrapartida, estudos realizados por MAYZ et al. (2003); CREWS e PEOPLES. (2005) indicam que na floração e na emissão das vagens ocorre maior demanda de N pelo feijão-caupi, o que induziria a planta a suprir essa necessidade por meio da FBN.

As estirpes BR 3299 e INPA 03-11 B diferiram significativamente ($p < 0,05$), apresentando valores superiores ao tratamento controle (S/I) para o número de nódulos, sendo que a BR 3299 foi 64 e 28 % maior que às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente (Tabela 13).

Para a massa seca de nódulos foi observado comportamento semelhante ao número de nódulos, já que as bactérias BR 3299 e INPA 03-11 B obtiveram valores superiores comparando-as ao controle (S/I) (Tabela 13).

SOARES et al. (2006) avaliaram a eficiência agrônômica e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões-MG, analisando o número e massa seca de nódulos, onde a INPA 03-11 B foi uma das estirpes que promoveu maior nodulação nas plantas.

Quanto à massa seca da parte aérea observaram-se resultados superiores da BR 3299 e do tratamento com 80 kg de N em relação aos demais tratamentos (Tabela 13), sendo que a estirpe BR 3299 proporcionou incremento de 174% em comparação ao controle (S/I). Esta também foi 102 e 72 % superior às estirpes já recomendadas como inoculante para o feijão-caupi, BR 3262 e INPA 03 11B.

Constatou-se que ocorreu aumento gradativo da massa seca da parte aérea ao longo do ciclo fenológico com um incremento médio de 354% entre a fase de desenvolvimento vegetativo e a formação de vagens. Esses dados estão de acordo com XAVIER et al. (2007) que relacionou este fato ao acúmulo que as plantas normalmente apresentam até a fase de

reprodução e posteriormente a partir desta fase, inicia-se a senescência vegetal com conseqüente diminuição gradativa da biomassa.

Para a eficiência relativa, assim como ocorreu na massa seca da parte aérea foram observadas diferenças significativas da BR 3299 que apresentou valores acima dos demais tratamentos, correspondendo a 102 e 72 % superior as estirpes BR 3262 e INPA 03-11 B respectivamente (Tabela 13).

O número e peso seco dos nódulos são alguns dos critérios utilizados pela RELARE para avaliação da eficiência simbiótica entre rizóbios e leguminosas. Neste caso, considerando os dados apresentados nas Tabelas Tabela 12 e Tabela 13, embora superior nos seus resultados, estatisticamente o desempenho da estirpe BR 3299 foi similar ao de estirpes recomendadas para essa cultura e aos de outros trabalhos como os de LACERDA et al. (2004) e SOARES et al. (2006).

Tabela 13 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte área e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca da parte aérea	Eficiência relativa
	(n° planta ⁻¹) ⁽²⁾	(mg planta ⁻¹) ⁽²⁾	(g planta ⁻¹)	%
BR 3299	18 a	89,2 a	14,8 a	109,1 a
BR 3262	11 abc	55,0 ab	7,3 b	53,9 bc
INPA 03-11B	14 ab	84,3 a	8,6 b	63,3 b
Controle (S/I)	6 c	34,3 b	5,4 b	40,0 c
80 kg de N	8 bc	50,2 b	13,5 a	100,0 a
Média	11,5	62,6	10,0	73,3
CV (%)	25,2	22,8	28,5	22,9

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

⁽²⁾ Dados transformados para raiz quadrada.

4.2.2 Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE

Quanto ao acúmulo de N na parte aérea, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a estirpe BR 3299 e o tratamento com 80 kg de N em comparação ao controle (S/I) nas duas épocas avaliadas (

Tabela 14 – Acúmulo de N na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

). Comportamento semelhante ao observado na biomassa da parte aérea (Tabelas Tabela 12 e Tabela 13) mostrando uma relação entre esta variável, a nodulação e o crescimento vegetativo.

MARRA et al.(2009), avaliando a eficiência simbiótica de rizóbios em feijão-caupi sob condições de casa-de-vegetação, demonstrou resultados inferiores ao desse estudo. Já SILVA et al.(2008), em condições de semi-árido, na Paraíba, observaram acúmulo de N na parte aérea superior ao observado nesse trabalho.

Tabela 14 – Acúmulo de N na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Acúmulo de N na parte aérea (mg.planta ⁻¹)	
	30 DAE	50 DAE
BR 3299	95,7 a	383,1 a
BR 3262	76,8 ab	197,9 bc
INPA 03-11B	71,4 bc	224,3 b
Controle (S/I)	56,0 c	131,2 c
80 kg de N	91,1 a	357,4 a
Média	77,8	258,8
CV (%)	20,0	28,0

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Foram realizadas análises de correlações entre as variáveis avaliadas nas duas épocas e observou-se que aos 30 DAE houve correlação significativa positiva entre número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,70$), número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,41$), massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,71$), número de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,38$), massa seca de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,68$) e massa seca da parte aérea x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,96$). Já aos 50 DAE, houve correlação significativa para número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,70$), número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,36$), massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,52$), número de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,31$), massa seca de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,47$) e massa seca da parte aérea x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,98$) (Tabela 15).

As correlações entre o número de nódulos e a massa seca de nódulos obtidas nas duas épocas de avaliação (Tabela 15), corroboram com resultados obtidos por SOUZA et al. (2008) e HUNGRIA e BOHRER (2000). Esses autores ressaltam que em solos com população estabelecida de rizóbio, somente um dos dois parâmetros necessitaria ser avaliado, sendo preferível optar pela massa seca de nódulos, pela praticidade, menor variabilidade espacial e temporal e melhor correlação com o desempenho simbiótico.

Tabela 15 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

	30 DAE		
	NN	MSN	MSPA
MSN	0,70**		
MSPA	0,41*	0,71**	
ANPA	0,38*	0,68**	0,96**
	50 DAE		
	NN	MSN	MSPA
MSN	0,70**		
MSPA	0,36*	0,52**	
ANPA	0,31*	0,47*	0,98**

(1) NN: número de nódulos; MSN: massa seca de nódulos; MSPA: massa seca da parte aérea; ANPA: acúmulo de N na parte aérea. Valores seguidos por (*) ou (**) indicam diferença significativa a 5 e a 1% de probabilidade respectivamente pelo teste de Pearson.

HAYDOCK et al. (1980) verificaram em condições de meio de cultura que as estirpes mais eficientes poderiam ser selecionadas com base apenas na biomassa de plantas, ou somente da parte aérea, sem a necessidade de determinar o teor de N nos tecidos. Já SOUZA et al. (2008), em um trabalho com soja, observaram que a massa seca dos nódulos e da parte aérea apresentam alta correlação e são indicadores eficientes para avaliação da FBN.

As altas correlações entre a massa seca da parte aérea e o acúmulo de N na parte aérea observadas nas duas avaliações (Tabela 15) estão de acordo com os resultados obtidos por HUNGRIA e BOHRER (2000) que obtiveram ($r = 0,91$, $p < 0,001$).

4.2.3 Produtividade de grãos de feijão-caupi

A produtividade de grãos variou de 149 a 893 kg ha⁻¹, superando a média nacional em todos os tratamentos, com exceção do controle (S/I) (Tabela 16).

Somente o controle (S/I) diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, contudo a estirpe BR 3299 destacou-se das demais estirpes, promovendo produção de grãos 500 e 1 % superior ao controle (S/I) e à testemunha nitrogenada (80 kg de N) respectivamente. Estes resultados estão acima dos apresentados por FREITAS et al (2007) que obteve 214% de incremento em relação ao tratamento não inoculado. Foram observados também incrementos da BR 3299 em relação à BR 3262 e INPA 03 11-B, correspondendo a 47 e 32% respectivamente.

SILVA et al. (2008) nas condições do semi-árido Paraibano avaliaram o efeito de quatro estirpes (BR 3267, INPA 3-11B, UFLA 3-84 e NFB 700) inoculadas em feijão-caupi, cultivar CNCx409-11F, onde também não se verificaram diferenças significativas entre esses inoculantes e os tratamentos controle (com e sem nitrogênio mineral), porém, a produtividade de sementes (1.340 a 1.768 kg.ha⁻¹) foi bastante superior àquela encontrada neste trabalho.

As estirpes, BR 3262 e INPA 03 11-B, já recomendadas para a cultura apresentaram valores de 607,8 e 678 kg/ha, correspondendo a 307 e 354%, respectivamente, em relação ao controle não inoculado e sem N (Tabela 16). Esses resultados estão abaixo dos apresentados por MELO e ZILLI (2009) e SOARES et al. (2006), que obtiveram produtividades de 2.300 e 957 kg ha⁻¹ com a inoculação das bactérias BR 3262 e INPA 03 11-B nas cultivares de feijão-caupi BRS Mazagão e BR-14 Mulato, respectivamente.

Ainda, é importante salientar que mesmo tendo sido feita a correção do solo com calcário, P e K, o tratamento controle (S/I) só produziu 149 kg ha⁻¹ demonstrando que as estirpes nativas apresentam baixa efetividade.

Tabela 16 – Produtividade de grãos de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor Juarez Canuto Vieira, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Produtividade de grãos
	(kg ha ⁻¹)
BR 3299	893,3 a
BR 3262	607,8 a
INPA 03-11B	678,7 a
Controle (S/I)	149,2 b
80 kg de N	880,4 a
Média	635,6
CV(%)	37,5

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

4.3 Avaliação Simbiótica de Estirpes de Rizóbio em Feijão-Caupi sob Capoeira Triturada na Pré-Amazônia Maranhense

4.3.1 Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE

Os resultados apresentados a seguir são relativos às coletas realizadas no período de julho e agosto, referentes à área do agricultor José Elias Sobrinho.

Aos 30 DAE, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) dos tratamentos inoculados, BR 3299 e BR 3262, que promoveram maiores números de nódulos em relação ao tratamento controle (S/I), sendo que a inoculação com a estirpe BR 3299 foi 4 e 34 % superior às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B. Assim como no experimento da área do agricultor Juarez Canuto Vieira foi observado nodulação por bactérias nativas nos tratamentos, controle (S/I) e 80 kg de N, uma vez que não houve inoculações em cultivos anteriores na área em estudo (Tabela 17). Contudo, as bactérias alóctones isto é, introduzidas no ambiente a partir da inoculação, apresentam maior eficiência e competitividade, uma vez que são selecionadas para tais características (HUNGRIA et al., 1994).

Na massa seca de nódulos a análise de variância mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) das bactérias, BR 3299 e BR 3262, que propiciaram valores superiores em relação aos tratamentos controle (S/I) e 80 kg de N. As estirpes BR 3299 e BR 3262 também se sobressaíram em relação à INPA 03-11B, comportamento semelhante ao observado no número de nódulos (Tabela 17).

Assim como observado na área do agricultor Juarez Canuto Vieira, é possível inferir que as estirpes utilizadas atuaram de maneira satisfatória no suprimento de N ao feijão-caupi, a partir dos resultados de nodulação. O menor valor de número e conseqüente massa seca de nódulos, especialmente da INPA 03-11 B, cerca de 18 nódulos por planta, pode ser uma característica dessa estirpe, pois LACERDA et al. (2004) avaliando o efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi em Perdões-MG, sob Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico, obtiveram 17 nódulos e 200,3 mg de massa seca de nódulo por planta, ou seja, resultados próximos aos obtidos nesse estudo.

Quanto à massa seca da parte aérea foi observado resultado superior da BR 3299 em comparação ao tratamento controle (S/I) (Tabela 17), sendo que aquela foi 269 % superior ao controle (S/I) e 39 e 31 % maior que a BR 3262 e a INPA 03-11B respectivamente.

Tabela 17 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos (n° planta ⁻¹) ⁽²⁾	Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹) ⁽²⁾	Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)	Eficiência relativa %
BR 3299	24 a	143,4 a	3,7 a	119,5 a
BR 3262	23 a	135,0 a	2,7 ab	86,0 ab
INPA 03-11B	18 ab	104,6 a	2,8 ab	90,8 ab
Controle (S/I)	9 c	34,5 b	1,0 b	32,1 b
80 kg de N	11 bc	45,0 b	3,1 ab	100,0 ab
Média	17,1	92,5	2,8	90,8
CV (%)	16,8	24,0	48,8	50,1

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

⁽²⁾ Dados transformados para raiz quadrada.

Na eficiência relativa à BR 3299 obteve valor superior aos observados nos demais tratamentos. Este resultado foi similar ao visualizado na massa seca da parte aérea, em virtude dessas características terem uma relação direta.

LIMA et al. (2005) estudando a diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia em feijão-caupi, cultivado em vasos Leonard, verificaram diferenças significativas, onde uma das estirpes mais eficientes, foi a INPA 03-11 B. SOARES et al. (2006) também observaram maior eficiência relativa da estirpe INPA 03- B em relação às demais avaliadas no trabalho.

Aos 50 DAE (Tabela 18), assim como observado na área do agricultor Juarez Canuto Vieira e em estudos realizados por GUALTER et al. (2006), SILVA et al. (2008) e GUALTER et al. (2008), houve uma diminuição no número e massa seca de nódulos em todos os tratamentos em relação à avaliação dos 30 DAE (Tabela 17).

De acordo com GRAHAM (1981) genótipos de ciclo longo com maturação tardia são mais eficientes na fixação de N do que aqueles de ciclo curto, ou seja, maturidade precoce. Segundo HUNGRIA e THOMAS (1987), em culturas de ciclo curto ocorre um período inicial de deficiência de N devido à falta de sincronização do esgotamento das reservas dos cotilédones da planta hospedeira e o início da fixação e exportação do N₂ fixado pelos nódulos.

No número de nódulos todas as estirpes apresentaram valores superiores ao tratamento controle (S/I), sendo que a BR 3299 foi 34 % maior que a INPA 03-11B (Tabela 18).

Para a massa seca de nódulos foi observado comportamento semelhante ao número de nódulos, já que as estirpes testadas obtiveram valores superiores comparando-as ao controle (S/I) e ao tratamento com 80 kg de N (Tabela 18).

ZILLI et al. (2006) avaliando a eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. isoladas de solo e Cerrado em feijão-caupi e comparando-as às estirpes referência, BR 3262 e BR 3267, constataram que essas apresentaram valores significativamente superiores à aquelas. Em outro trabalho MELO e ZILLI (2009), observaram a fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima e identificaram que a BR 3262 também propiciou incrementos no número e massa seca de nódulos em relação aos demais tratamentos. Em outro trabalho ZILLI et al. (2009b) estudando a contribuição de estirpes de rizóbio no desenvolvimento e produtividade de feijão-caupi sob Cerrado e Mata Alterada em Roraima, também verificaram que a BR 3262 mostrou-se ser a mais adequada na inoculação em feijão-caupi.

Tabela 18 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos (n° planta ⁻¹) ⁽²⁾	Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹) ⁽²⁾	Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)	Eficiência relativa %
BR 3299	20 a	137,4 a	7,5 a	137,7 a
BR 3262	19 a	129,0 a	7,3 a	134,3 ab
INPA 03-11B	15 a	99,1 a	5,8 a	106,7 ab
Controle (S/I)	6 b	28,5 b	2,8 b	50,5 c
80 kg de N	8 b	39,0 b	5,5 a	100,0 b
Média	13,35	86,6	5,8	105,8
CV (%)	19,1	26,5	31,1	29,3

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

⁽²⁾ Dados transformados para raiz quadrada.

Quanto à massa seca da parte aérea, apenas o controle (S/I) diferiu estatisticamente, sendo inferior aos demais tratamentos (Tabela 18). Em trabalho semelhante a este, MORGADO et al. (2006) também não detectaram influência da inoculação com as estirpes

BR 3301, BR 3302, BR 3267 e BR 3299 sobre a massa seca da parte aérea das plantas de feijão-caupi.

Para a eficiência relativa, foram observadas diferenças significativas, na qual a BR 3299 correspondeu em aumentos de 3 e 29% em relação as estirpes BR 3262 e INPA 03-11 B respectivamente (Tabela 18).

4.3.2 Acúmulo de nitrogênio na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE

Para o acúmulo de N na parte aérea todas às estirpes foram semelhantes entre si e similares ao tratamento com 80 kg de N aos 50 DAE (Tabela 19).

Estes resultados estão abaixo dos observados na área do agricultor Juarez Canuto Vieira e superiores aos encontrados por RUFINI et al. (2009), que avaliou a eficiência simbiótica de bactérias fixadoras de N₂, em feijão-caupi em Lavras.

Tabela 19 – Acúmulo de N na parte aérea de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Acúmulo de N na parte aérea (mg.planta ⁻¹) ⁽²⁾	
	30 DAE	50 DAE
BR 3299	138,4 a	189,8 a
BR 3262	96,0 a	178,1 a
INPA 03-11B	104,8 a	161,1 a
Controle (S/I)	35,6 a	72,0 b
80 kg de N	109,3 a	141,3 ab
Média	102,4	148,5
CV (%)	53,6	41,5

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Foram realizadas análises de correlações entre as variáveis avaliadas nas duas épocas e observou-se que aos 30 DAE houve correlação significativa positiva entre número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,96$), número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,76$), massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,82$), número de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,74$), massa seca de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,80$) e massa seca da parte aérea x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,99$). Aos 50 DAE, as correlações foram significativas para número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,87$); número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,59$), massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,61$), número de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,56$), massa seca de nódulos x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,61$) e massa seca da parte aérea x acúmulo de N na parte aérea ($r = 0,95$) (Tabela 20).

As correlações entre o número de nódulos e a massa seca de nódulos nas duas épocas de avaliação (Tabela 20), foram superiores às visualizadas na área do agricultor Juarez Canuto Vieira e semelhante às observadas por SOUZA et al. (2008) e HUNGRIA e BOHRER (2000).

SOUZA et al. (2008) também verificaram que a massa seca dos nódulos e da parte aérea apresentam alta correlação e são indicadores eficientes para avaliação da FBN, resultados esses que corroboram com os visualizados nesse estudo.

As altas correlações entre a massa seca da parte aérea e o acúmulo de N na parte aérea verificadas nas duas avaliações (Tabela 20) estão intimamente relacionadas, pois a produção de massa seca de parte aérea influenciou no maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea da planta, ou seja, quanto maior a eficiência da estirpe, maior a quantidade de N presente na planta. Em um trabalho na Zona da Mata Pernambucana, SILVA (2007) obteve alta correlação entre a massa seca da parte aérea e o acúmulo de N na parte aérea das estirpes inoculadas em *Arachis hypogaea*.

Para PIMRATCH et al. (2004) o acúmulo de massa seca de parte aérea é considerado a característica mais confiável para seleção de cultivares com maior potencial simbiótico em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio.

Tabela 20 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

30 DAE			
	NN	MSN	MSPA
MSN	0,96**		
MSPA	0,76**	0,82**	
ANPA	0,74**	0,80**	0,99*
50 DAE			
	NN	MSN	MSPA
MSN	0,87**		
MSPA	0,59**	0,61**	
ANPA	0,56**	0,61**	0,95**

⁽¹⁾ NN: número de nódulos; MSN: massa seca de nódulos; MSPA: massa seca da parte aérea, ANPA: acúmulo de N na parte aérea. Valores seguidos por (**) indica diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Pearson.

4.3.3 Produção e caracteres agronômicos de feijão-caupi

A produtividade de grãos variou de 52,2 a 620,3 kg ha⁻¹. Houve diferenças significativas para a BR 3299 que foi superior as outras estirpes e ao controle (S/I), promovendo incrementos de 1087 e 17 % na produção de grãos em relação aos tratamentos controle (S/I) e com 80 kg de N respectivamente (Tabela 21). Estes resultados do ponto de vista de incrementos percentuais, estão acima dos observados na área do agricultor Juarez Canuto Vieira e dos obtidos por FREITAS et AL. (2007).

Vale destacar que esses resultados poderiam ter sido um pouco mais promissores, contudo, próximo à época de formação das vagens (agosto) a precipitação pluviométrica já se apresentava bastante escassa na região de plantio (Figura 9). Contudo, a produtividade de grãos permaneceu dentro da média da Região Nordeste, que está em torno de 300 a 400 kg ha⁻¹ (FREIRE FILHO et al., 1999; FROTA e PEREIRA, 2000; ALCANTARA, 2006). Essa produtividade também pode ter sido influenciada pela capacidade produtiva do genótipo utilizado, uma vez que, já foram observadas diferenças de produtividade de feijão-caupi que variavam de 117 a 1.587 kg ha⁻¹, dependendo da cultivar avaliada (VIEIRA et al., 2000).

O comprimento de vagens (COMPV) diferiu significativamente, onde a estirpe BR 3299 apresentou valor superior ao controle (S/I) e ao tratamento com 80 kg de N (Tabela 21). ALCANTARA et al. (2007), avaliando os efeitos da FBN na produção de feijão-caupi, em Teresina-PI, também verificaram que a BR 3299 apresentou maiores valores em relação aos demais tratamentos. Nesse aspecto a estirpe referida, já se mostrava promissora à simbiose com o feijão-caupi.

Os valores de COMPV observados nos tratamentos inoculados dessa pesquisa foram maiores do que o padrão comercial que é em torno de 18 cm (Tabela 21). SAMPAIO et al. (2006), testando 42 materiais, afirmaram que as linhagens do tipo semi-ereto e ereto apresentaram valores médios inferiores a 20 cm. Por outro lado, OLIVEIRA et al. (2002) notaram que a linhagem CNCX- 409-12F e a cultivar IPA-206 apresentaram os mais elevados valores para comprimento de vagem.

O peso de vagens por planta (PVP) variou de 28,5 a 1,5 g, sendo que as estirpes BR 3299 e BR 3262 e o tratamento com 80 kg de N apresentaram valores maiores que o controle (S/I) e a INPA 03-11B (Tabela 21).

No peso de cem grãos (PCG), apenas o controle (S/I) diferiu dos demais tratamentos, sendo inferior a esses (Tabela 21). SANTOS et al. (2009), avaliando a produção e componentes produtivos das variedades de feijão-caupi, Galanjão e Epace 10, na microrregião do Cariri Paraibano observaram diferenças em relação à essas, onde a variedade Galanjão foi superior a Epace 10.

No número de vagens por planta (NVP), o controle (S/I) foi inferior aos demais tratamentos, sendo que esses não diferiram entre si (Tabela 21). A partir desses resultados, é possível verificar que o NVP influenciou de forma significativa sobre a maior produtividade da BR 3299 em comparação ao controle (S/I). Os resultados obtidos nesse estudo para a INPA 03-11B e para o controle (S/I) foram os mais baixos. Em consonância a este fato SAMPAIO et al. (2006) verificaram médias de 5 vagens por planta em linhagens do tipo semi-ereto e ereto. O NVP pode ter sofrido estresse hídrico e com mais severidade que o ocorrido nos outros componentes, em função da escassez de chuvas (Figura 9) na época de formação das vagens (agosto). De acordo com LEITE et al. (2000), tal comportamento pode ser explicado como um dos mecanismos de resistência à seca utilizado pela planta, no sentido de buscar melhores condições para superar a falta de água, produzindo menor quantidade de vagens.

Avaliando o efeito de cinco níveis de água no crescimento e produtividade do feijão caupi, LIMA (1996), observou que o número de vagens por planta diminuiu com o aumento do estresse hídrico. Este autor sugere que a redução deste componente parece ser o principal fator de decréscimos na produção de grãos de feijão caupi. SUMMERFIELD et al. (1976), obteve redução de 50% no número de vagens e massa de grãos por planta quando o estresse hídrico foi imposto na fase de desenvolvimento vegetativo em feijão-caupi.

Quanto ao número de grãos por vagem (NGV), somente o controle (S/I) diferiu estatisticamente, sendo inferior aos demais tratamentos (Tabela 21). Esses resultados foram maiores do que os observados para o padrão comercial (12 grãos). SAMPAIO et al. (2006) estudando linhagens do tipo semi-ereto e ereto, observaram valores de 12 a 15 grãos por vagem, respectivamente, valores similares ao desse estudo.

Tabela 21 - Produtividade de grãos, comprimento de vagens (COMPV), peso de vagens por planta (PVP), peso de 100 grãos (PCG), número de vagens por planta (NVP) e número de grãos por vagem (NGV) de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)	COMPV (cm)	PVP (-g -)	PCG	NVP	NGV
BR 3299	620,3 a	21,3 a	28,5 a	21,2 a	14 a	16 a
BR3262	351,8 c	20,6 ab	24,4 a	20,4 a	10 a	15 a
INPA 03-11 B	302,7 bc	20,1 ab	19,4 b	20,0 a	8 a	15 a
Controle (S/I)	52,2 d	18,7 b	1,5 c	16,7 b	2 b	10 b
80 kg de N	531,9 ab	19,3 b	26,5 a	20,5 a	13 a	16 a
Média	403,5	20,0	20,7	19,9	9,15	14,3
CV (%)	35,9	7,9	8,6	10,1	28,29	5,8

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Quanto aos caracteres agrônômicos, obtiveram-se resultados significativos para todas as variáveis avaliadas: comprimento de vagem x peso de vagem (r = 0,40); comprimento de vagens x peso de 100 grãos (r = 0,30); comprimento de vagens x número de vagens (r = 0,41);

comprimento de vagens x número de grãos por vagem ($r = 0,36$); peso de vagens x peso de 100 grãos ($r = 0,62$); peso de vagens x número de vagens ($r = 0,76$); peso de vagem x número de grãos por vagem ($r = 0,73$); peso de 100 grãos x número de vagens ($r = 0,45$); peso de 100 grãos x número de grãos por vagem ($r = 0,60$); número de vagens x número de grãos por vagem ($r = 0,68$) (Tabela 22).

Tabela 22 - Coeficientes de correlação linear entre os caracteres agronômicos de feijão-caupi aos 65 DAE. Área agricultor José Elias Sobrinho, Santa Luzia do Paruá-MA, 2009⁽¹⁾.

	COMPV	PVP	PCG	NVP
PVP	0,40*			
PCG	0,30*	0,62**		
NVP	0,41*	0,76**	0,45**	
NGV	0,36*	0,73**	0,60**	0,68**

⁽¹⁾ Comprimento de vagens: COMPV; peso de vagens por planta: PVP; peso de 100 grãos: PCG; peso de 100 grãos; NVP: número de vagens por planta; NGV: número de grãos por vagem. Valores seguidos por (*) ou (**) indicam diferença significativa a 5 e a 1% de probabilidade respectivamente pelo teste de Pearson.

4.4 Inoculação de Estirpes de Rizóbio e Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijão-Caupi Cultivado em Latossolo Amarelo na Zona da Mata Pernambucana

4.4.1 Nodulação, biomassa seca e eficiência relativa de feijão-caupi aos 30 e 50 DAE

Os resultados apresentados a seguir são relativos às coletas realizadas no período de setembro e outubro, referentes ao estudo realizado em Paudalho-PE.

Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) no número de nódulos, na massa seca de nódulos, na massa seca da parte aérea e na eficiência relativa nas duas épocas de avaliação.

Aos 30 DAE, a BR 3299 produziu maior número de nódulos em relação aos demais tratamentos, sendo 140 e 317% superior as estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente (Tabela 23). A nodulação por rizóbios nativos não foi significativa, tendo em vista que os tratamentos controle (S/I) e com 80 kg de N, ficaram abaixo dos tratamentos inoculados, sendo que o tratamento com N apresentou menor nodulação em comparação ao controle (S/I), e de acordo com SALVAGIOTI et al. (2008) e MELO e ZILLI (2009) esse nutriente aplicado no plantio restringe a nodulação espontânea.

Quanto à massa seca de nódulos a BR 3299 obteve resultado superior aos demais tratamentos, sendo 94 e 83 % superior às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente, comportamento semelhante ao observado no número de nódulos (Tabela 23).

HUNGRIA e BOHRER (2000), afirmam que para o feijão-caupi, não existem informações conclusivas sobre o número mínimo de nódulos necessários para garantir bom desempenho da FBN, como já existe para a cultura da soja, para a qual se reconhece como suficientes 15 a 20 nódulos na coroa da raiz principal. Entretanto, mesmo com o menor valor de número e massa de nódulos, especialmente da INPA 03-11 B, cerca de 28 nódulos por planta, os resultados de nodulação demonstram que a estirpe BR 3299 desempenhou um papel fundamental de suprimento de N ao feijão-caupi. Esse resultado de nodulação da INPA 03-11 B foi superior ao observado na área do produtor José Elias Sobrinho.

Em relação à massa seca da parte aérea, o tratamento com 80 kg de N foi superior aos demais tratamentos (Tabela 23). Contudo a BR 3299 proporcionou um incremento de 142, 73 e 277 % em comparação a BR 3262, a INPA 03-11B e ao controle (S/I). Pesquisas realizadas por XAVIER et al. (2006b) e FREITAS et al. (2007) demonstraram o efeito positivo e

superior da BR 3299 em comparação com as estirpes já recomendadas para a inoculação em feijão-caupi.

Assim como visualizado na massa seca da parte aérea, a eficiência relativa seguiu o mesmo padrão, onde o tratamento com 80 kg de N obteve valor superior aos tratamentos, BR 3299 e 80 kg de N quando comparado ao controle (S/I) (Tabela 23).

Tabela 23 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa aos 30 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca da parte aérea	Eficiência relativa
	(n° planta ⁻¹)	(mg planta ⁻¹)	(g planta ⁻¹)	%
BR 3299	117 a	153,5 a	9,8 b	75,6 b
BR 3262	49 b	79,3 b	4,0 d	31,2 d
INPA 03-11B	28 c	83,7 b	5,6 c	44,2 c
Controle (S/I)	16 d	38,3 c	2,5 d	20,0 e
80 kg de N	12 d	32,2 c	12,9 a	100,0 a
Média	44,3	7,7	6,9	54,2
CV (%)	13,6	15,2	12,7	9,6

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Aos 50 DAE, ocorreu diminuição no número e massa seca de nódulos em todos os tratamentos em relação à avaliação dos 30 DAE (Tabela 23). Contudo é importante salientar a presença de nódulos na fase final do ciclo da cultura, o que não é observado em outras culturas como feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), por exemplo.

Pesquisas realizadas por GUALTER et al. (2008) demonstram que esse declínio, mesmo não acentuado no número e massa seca de nódulos, pode estar caracterizando o início da senescência nodular em função do ciclo curto (precoce) da cultivar utilizada neste estudo. HUNGRIA e VARGAS (2000) relatam que nesta fase de enchimento de grãos, os fotossintatos produzidos pela planta e que eram transportados aos nódulos, passam a ser enviados às vagens para posterior nutrição dos grãos.

Quanto ao número de nódulos, a BR 3299 apresentou valor superior aos demais tratamentos, sendo que esta foi 92 e 250 % maior que às estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente (Tabela 24).

Para a massa seca de nódulos foi observado comportamento semelhante ao número de nódulos, no qual o tratamento com a BR 3299 resultou em incrementos de 22 e 29 % quando comparado as estirpes BR 3262 e INPA 03-11B respectivamente (Tabela 24).

Na massa seca da parte aérea observaram-se resultados superiores da BR 3299 e do tratamento com 80 kg de N em relação aos demais tratamentos (Tabela 24), sendo que a estirpe BR 3299 proporcionou um incremento de 292% em relação ao controle (S/I). Esta também foi 62 e 139 % superior às estirpes BR 3262 e INPA 03 11B respectivamente, que são recomendadas como inoculante para o feijão-caupi. XAVIER et al. (2006b), avaliaram o desempenho de estirpes de rizóbio em feijão-caupi e observaram que a BR 3299 demonstrou contribuições significativas da inoculação com aumentos de 865 e 785 % no número de nódulos e na massa seca da parte aérea, respectivamente.

Verificou-se um aumento gradativo da massa seca da parte aérea dos 30 para os 50 DAE com um incremento médio de 82 % entre a fase de desenvolvimento vegetativo e a formação de vagens. Esses dados coincidem com os de XAVIER et al. (2007), GUALTER et al. (2008) e com obtidos, nos experimentos da Pré-Amazônia. É importante destacar que esse aumento na massa seca da parte aérea promovido pela estirpe BR 3299 pode significar uma vantagem sobre as demais estirpes, haja vista que o feijão-caupi, também pode ser utilizado como adubo verde para fornecimento de nitrogênio no solo (CASTRO et al., 2004).

Para a eficiência relativa, assim como ocorreu na massa seca da parte aérea foram observadas diferenças significativas da BR 3299 e do tratamento com 80 kg de N em relação aos demais tratamentos, sendo que a BR 3299 foi 62 e 140 % superior a BR 3262 e a INPA 03-11 B respectivamente (Tabela 24).

Tabela 24 – Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa aos 50 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca da parte aérea	Eficiência relativa
	(n° planta ⁻¹)	(mg planta ⁻¹)	(g planta ⁻¹)	%
BR 3299	77 a	88,2 a	18,9 a	97,0 a
BR 3262	40 b	72,2 b	11,7 b	60,0 b
INPA 03-11B	22 c	68,2 b	7,9 c	40,5 c
Controle (S/I)	8 d	17,8 c	4,8 d	24,6 d
80 kg de N	8 d	23,2 c	19,5 a	100,0 a
Média	30,8	53,9	12,5	64,4
CV(%)	14,8	10,2	5,1	5,4

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Foram realizadas análises de correlações entre as variáveis avaliadas nas duas épocas e observou-se que aos 30 DAE houve correlação significativa positiva entre número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,90$), número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,44$) e massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,94$) (Tabela 25). Enquanto que aos 50 DAE, as correlações foram significativas para número de nódulos x massa seca de nódulos ($r = 0,84$), número de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,44$) e massa seca de nódulos x massa seca da parte aérea ($r = 0,83$) (Tabela 25).

As correlações entre o número de nódulos e a massa seca de nódulos nas duas épocas de avaliação (Tabela 25) foram superiores aos resultados obtidos na área do agricultor Juarez e similares aos observados na área do agricultor José Elias Sobrinho. Esses resultados corroboram com os de SOUZA et al. (2008) e segundo este autor a massa seca de nódulos é o parâmetro que apresenta maior praticidade e menor variabilidade espacial e temporal, representando uma melhor correlação com o desempenho simbiótico.

Tabela 25 - Correlações lineares simples entre as variáveis analisadas nas 3 estirpes e no tratamento controle (S/I) aos 30 e 50 DAE em feijão-caupi. Paudalho-PE, 2009⁽¹⁾.

	30 DAE	
	NN	MSN
MSN	0,88**	
MSPA	0,89**	0,94**
	50 DAE	
	NN	MSN
MSN	0,80**	
MSPA	0,97**	0,83**

(1) NN: número de nódulos; MSN: massa seca de nódulos; MSPA: massa seca da parte aérea. Valor seguido por (**) indica diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Pearson.

CASTILLEJA e ROSKOSKI (1983) avaliaram em condições de campo, 17 genótipos de feijão-caupi e verificaram que o N fixado estava diretamente associado à massa de nódulos. Concluíram que em genótipos com baixa nodulação ocorria uma troca ineficiente de sinais moleculares e de maior especificidade em relação ao microssimbionte. Esta observação é importante, pois, segundo DOBEREINER (1966), há uma correlação positiva entre a massa

nodular e a quantidade de N acumulado em leguminosas. Tal correlação positiva foi encontrada por WADISIRISUK e WEAVER (1985) em feijão-caupi.

4.4.2 Produção e caracteres agronômicos de feijão-caupi

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na produtividade de grãos, comprimento de vagens (COMPV), peso de vagens por planta (PV), peso de 100 grãos (PCG), número de vagens por planta (NVP) e número de grãos por vagem (NGV).

A produtividade de grãos variou de 470 a 1.581 kg ha⁻¹, superando a média da Região Nordeste (300 a 400 kg ha⁻¹) em alguns tratamentos. A BR 3299 promoveu aumentos de 236 e 17% na produção de grãos em relação aos tratamentos controle (S/I) e com 80 kg de N, respectivamente (Tabela 26). Estes resultados estão acima dos observados nos experimentos da Pré-Amazônia e dos obtidos por GUALTER et al. (2006) e FREITAS et al. (2007).

ALCANTARA et al. (2007), também verificaram que a BR 3299 apresentou valor superior, em relação aos demais tratamentos aproximadamente 2.000 kg ha⁻¹. Nesse aspecto a estirpe referida, já se mostrava como promissora à simbiose com o feijão-caupi. GUALTER et al. (2007), avaliando os efeitos da inoculação de feijão-caupi observaram produtividade semelhante da BR 3262 à observada nesse estudo, em torno de 1.200 kg ha⁻¹. ALCANTARA et al. (2007), observaram que a INPA 03-11 B promoveu na produção de grãos um aumento de 32% sobre as plantas do controle sem N e sem inoculação, 26% sobre o controle com 80 kg N ha⁻¹.

Em relação ao comprimento de vagens (COMPV), a BR 3299 também obteve valor superior aos demais tratamentos (Tabela 26). Somente o tratamento com a estirpe citada foi maior que o padrão comercial (18 cm). Quanto ao peso de vagens por planta (PVP) esta variou de 14,5 a 53,5 g, sendo que a BR 3299 obteve valor superior aos demais tratamentos (Tabela 26).

Para o peso de cem grãos (PCG), assim como observado na produtividade de grãos, CV e PV, a BR 3299 foi superior aos demais tratamentos (Tabela 26). Verificou-se que essa estirpe resultou em aumentos expressivos, já que o padrão comercial dessa variável é de 19,5 e o resultado do tratamento com a BR 3299 foi de 31,3 g. De modo geral, a inoculação com as demais estirpes promoveu aumentos no PCG.

No número de vagens por planta (NVP), a bactéria BR 3299 apresentou resultado acima dos demais tratamentos (Tabela 26). A partir desses resultados, é possível verificar que o NVP contribuiu de forma significativa para a maior produtividade da BR 3299 em comparação aos outros tratamentos. ALCANTARA et al. (2007), verificaram para a BR 3299, um número aproximado de 12 vagens por planta, valor bem inferior ao visualizado nesta pesquisa.

Quanto ao número de grãos por vagem (NGV), a BR 3299 se destacou dos demais tratamentos, sendo superior à esses (Tabela 26). A inoculação com a bactéria referida contribuiu significativamente no aumento do NGV (20 grãos), superando o padrão comercial que é de 12 grãos. Assim como observado na área do agricultor José Elias Sobrinho na região de Pré-Amazônia, independente da estirpe os tratamentos inoculados resultaram em valores superiores ao padrão comercial.

De acordo com os resultados obtidos, é possível inferir que a inoculação do feijão-caupi com a BR 3299 foi eficiente. MARTINS et al. (2003) afirma que respostas positivas de inoculação serão mais facilmente obtidas em áreas com baixa população de rizóbios nodulantes de feijão-caupi estabelecidas no solo, fato que tende a ocorrer em períodos de estiagem prolongada. Já STAMFORD et al. (2003) observaram que a fixação biológica pode suprir todo o nitrogênio necessário para o crescimento e produção de feijão-caupi, desde que a simbiose com rizóbio seja eficiente. SANTOS et al. (2005), relata que o feijão caupi apresenta

alta capacidade de nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio na presença de população de rizóbios (10^9 células por g^{-1} de inoculante) para uma adequada efetividade.

Tabela 26 - Produtividade de grãos, comprimento de vagens (COMPV), peso de vagens por planta (PVP), peso de 100 grãos (PCG), número de vagens por planta (NVP) e número de grãos por vagem (NGV) de feijão-caupi aos 65 DAE em Paudalho-PE, 2009⁽¹⁾.

Tratamentos	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)	COMPV (cm)	PVP (- g -)	PCG	NVP	NGV
BR 3299	1.581,7 a	22,8 a	53,5 a	31,4 a	31 a	20 a
BR 3262	1.228,4 b	17,8 b	37,5 b	25,8 b	28 b	16 b
INPA 03-11 B	1.081,7 c	17,2 b	37,8 b	24,0 b	24 c	15 b
Controle (S/I)	470,0 e	11,2 d	14,5 d	20,0 c	11 e	10 c
80 kg de N	938,4 d	15,2 c	30,8 c	20,0 c	20 d	14 b
Média	1.060,0	16,8	34,8	24,2	22,7	15,0
CV (%)	7,0	8,6	5,5	7,7	9,3	10,9

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Em relação aos caracteres agronômicos, obtiveram-se correlações significativas para todas variáveis avaliadas: comprimento de vagem x peso de vagem ($r = 0,91$); comprimento de vagens x peso de 100 grãos ($r = 0,84$); comprimento de vagens x número de vagens ($r = 0,89$); comprimento de vagens x número de grãos por vagem ($r = 0,86$); peso de vagens x peso de 100 grãos ($r = 0,81$); peso de vagens x número de vagens ($r = 0,91$); peso de vagem x número de grãos por vagem ($r = 0,90$); peso de 100 grãos x número de vagens ($r = 0,79$); peso de 100 grãos x número de grãos por vagem ($r = 0,78$); número de vagens x número de grãos por vagem ($r = 0,83$) (Tabela 27).

Tabela 27 - Coeficientes de correlação linear entre os caracteres agronômicos de feijão-caupi aos 65 DAE. Paudalho-PE, 2009⁽¹⁾.

	COMPV	PVP	PCG	NVP
PVP	0,91**			
PCG	0,84**	0,81**		
NVP	0,89**	0,91**	0,79**	
NGV	0,86**	0,90**	0,78**	0,83**

⁽¹⁾ Comprimento de vagens: COMPV; peso de vagens por planta: PVP; peso de 100 grãos: PCG; peso de 100 grãos; NVP: número de vagens por planta; NGV: número de grãos por vagem. Valor seguido por (**) indica diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste de Pearson.

5 CONCLUSÕES

- A estirpe BR 3299, tanto em condições de casa-de-vegetação como em campo apresentou resultados semelhantes às estirpes recomendadas para feijão-caupi e ao tratamento nitrogenado em relação às variáveis estudadas.
- As estirpes de modo geral proporcionaram boa nodulação, bom acúmulo de N na parte aérea, bom rendimento de biomassa seca e eficiência relativa quando comparadas ao controle (S/I) na região Pré Amazônica.
- Em condições de Zona da Mata, a BR 3299 promoveu maior nodulação, massa seca de parte aérea e eficiência relativa em relação às estirpes BR 3262 e a INPA 03-11 B.
- A estirpe BR3299 mostrou-se adequada para a inoculação de sementes de feijão-caupi, podendo ser recomendada para esta cultura na região Pré-Amazônica e na Zona da Mata.
- As estirpes contribuíram positivamente na produtividade de grãos, com destaque para a BR 3299, onde foi verificada aumentos de 500 a 1087 % em relação ao controle (S/I) e de 1 a 17 % em comparação ao tratamento nitrogenado (80 kg de N).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Já é sabido que a FBN é um processo natural e usa a energia derivada da fotossíntese, de modo que a lixiviação de nitrato do solo é mínima, o que reflete baixo ou nenhum potencial de poluição. Sua contribuição para a produção de alimentos é ainda muito pequena em relação ao conhecimento e as tecnologias disponíveis e ao seu potencial de uso no mundo. Certamente o uso de adubos nitrogenados não poderá ser substituído pela FBN, nem estas pelos adubos no contexto da produção agrícola. O grande desafio para a pesquisa é aumentar a participação da FBN nos sistemas produtivos, garantindo-lhes a produtividade e a sustentabilidade (FRANCO e BALIEIRO, 1999). De acordo com ALVES et al. (2003), a FBN desempenha um papel fundamental não só suprimindo as necessidades de N das plantas hospedeiras, como também, enriquecendo o solo com seus restos culturais, evidenciando sua contribuição tanto econômica como social para a agricultura brasileira e mundial.

O feijão-caupi é uma espécie capaz de se beneficiar desse processo e quando bem nodulado, pode dispensar outras fontes de nitrogênio, atingindo altos níveis de produtividade. XAVIER et al. (2006b) e FREITAS et al. (2007), observaram que uma mesma estirpe foi capaz de contribuir em mais de 200 % na produtividade de grãos. FRANCO et al. (2002) reportam que o aumento da eficiência do processo de nodulação e conseqüentemente da FBN é uma das formas de aumentar a produtividade da cultura.

No experimento em casa de vegetação foi observado aumento significativo na biomassa de caupi, ocasionado pelas estirpes de rizóbio. Nos experimentos de campo a BR 3299 obteve respostas positivas à prática da inoculação proporcionando ganhos de produtividade de grãos de 500, 1087 e 236% em relação ao controle sem inoculação.

Esses resultados encorajam os estudos e proporcionam novas perspectivas em relação ao estudo de bactérias com potencial biotecnológico na inoculação com feijão-caupi. O desafio é otimizar esta associação, visando alcançar os patamares de fixação já atingidos por outras culturas como a soja. A maximização dessa tecnologia depende de algumas estratégias, buscando, por exemplo, genótipos responsivos à inoculação em diferentes condições ambientais.

A prática da inoculação ainda depende de vários estudos como: melhoramento da adaptabilidade e capacidade competitiva do rizóbio no solo, avaliação dos fatores determinantes da inoculação, detecção do período dessas bactérias e possíveis mecanismos no auxílio daquelas no ambiente alóctone.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, R. M. C. M.; FORTALEZA, J. M.; XAVIER, G. R. e SOUZA, J. S. Inoculação de feijão-caupi [*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.] com rizóbio BR 3267 em Teresina, PI. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 1., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa, 2006. CD-ROM.
- ALCANTARA, R. M. C. M.; FORTALEZA, J. M.; XAVIER, G. R. e SOUZA, J. S. Efeitos da FBN na produção de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), em Teresina-PI. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., 2007, Gramado. **Anais...** Gramado: SBCS, 2007. CD-ROM.
- ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L. JANTALIA, C.P. Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. In: AQUINO, A. M e ASSIS, R.L. **Processos biológicos no sistema solo-planta**. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 368p.
- ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v.252, p.1-9. 2003.
- AMARAL, J.A.B.; BELTRÃO, N.E.M.; SILVA, M.T. **Zoneamento Agrícola do Feijão-Caupi no Nordeste Brasileiro Safra 2005/2006 - Estado da Paraíba**. Campina Grande: Embrapa – CNPA, 2005. 9p. (Embrapa – CNPA. Comunicado Técnico, 253).
- ANDRADE JÚNIOR, A.S. **Viabilidade da irrigação, sob risco climático e econômico, nas microrregiões de Teresina e Litoral Piauiense**. 2000. 566f. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem). Curso de Pós-Graduação em Irrigação e Drenagem, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- ANKOMAH, A. B.; ZAPATA, F.; HARDARSON, G.; DANSO, S. K. A. Yield, nodulation, and N₂ fixation by cowpea cultivars at different phosphorus levels. **Biology and Fertility of Soils**, v. 22, p.10-15, 1996.
- ARAÚJO, J. P. P. de; RIOS, G. P.; WATT, E. E.; NEVES, B. P. das FAGERIA, N. K.; OLIVEIRA, I. P. de; GUIMARÃES, C. M.; SILVEIRA FILHO, A. **Cultura do caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp)**: descrição e recomendações técnicas de cultivo. Goiânia: Embrapa-CNPAF, 1984. 82p. (Embrapa-CNPAF. Circular Técnica, 18).
- BARRETT, C. F.; PARKER, M. A. Prevalence of *Burholderia* sp. nodule symbionts on four mimosoid legumes from Barro Colorado Island, Panama. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p.57-65, 2005.
- BELANE, A.K.; DAKORA, F.D. Symbiotic N₂ fixation in 30 field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in the Upper West Region of Ghana measured using ¹⁵N natural abundance. **Biology and Fertility of Soils**, v.46, p.191-198, 2010.
- BERGENSEN, F.J.; BROCKWELL, J.; GIBSON, A.H.; SCHWINGHAMER, E.A. Studies of natural populations and mutants of *Rhizobium* in the improvement of legume inoculants. **Plant and Soil**, v.46, p.3-16, 1971. (Supplement, 1).
- BEZERRA, A.A. de C. **Variabilidade e diversidade genética em caupi (*Vigna unguiculata*, L. Walp.) precoce, de crescimento determinado e porte ereto e semi-ereto**. 1997. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

- BODDEY, R. M. Methods for the quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. **CRC Critical Reviews Plant Science**, v. 6, p. 209-266, 1987.
- BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo ^{15}N . In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Org.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994, p.470-494.
- BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.; ALVES, B.J.R., URQUIAGA, S. Field application of the ^{15}N isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. **Fertilizer Research**, v.42, n.1-3, p.77-87, 1995.
- BODDEY, L.H.; HUNGRIA, M. Phenotypic grouping of Brazilian *Bradyrhizobium* strains which nodulate soybean. **Biology and Fertility of Soils**, v.25, p.407-415, 1997.
- BODDEY, R.M.; PEOPLES, M.B.; PALMER, B.; DART, P.J. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.57, p.235-270, 2000.
- BROCKWELL, J.; BOTTOMLEY, P.J. Recent advances in technology: prospects for the future. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.683-697, 1995.
- BURRIS, R. H. The acetylene reduction technique. In: STEWART, D. P. (Ed.). **Nitrogen fixation by free-living microorganisms**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 249-258. (International Biological Programme, 6).
- CARVALHO, E.A. **Avaliação agronômica da disponibilização de nitrogênio à cultura de feijão sob sistema de semeadura direta**. 2002. 63 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Fitotecnia). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- CASSINI, S.T.A.; FRANCO, M.C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. (Eds). **Feijão: 2 ed.** Viçosa: UFV, 2006, p.143-159.
- CASTRO, C.M.; ALVES, B.J.R. ALMEIDA, D.L.; RIBEIRO, R.L.D. Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da berinjela em sistema orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.779-785, 2004.
- CASTILLEJA, G.; ROSKOSKI, J. P. N_2 (C_2NH_4) fixing activity in 17 varieties of field-grown cowpea. **Turrialba**, v. 33, n. 1, p. 67-71, 1983.
- CHEN, W. M.; LAEVENS, S.; LEE, T.M.; COENYE, T.; DE VOS,P.; MAX MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of Mimosa species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, 1729–1735, 2001.
- CHEN, W.M.; MOULIN, L.; BONTEMPS, C.; VANDAMME, P.; BENA, G.; BOIVIN-MASSON, C. Legume symbiotic nitrogen fixation by β -proteobacteria is widespread in nature. **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 24, p. 7266–7272, 2003.
- COSTA, M.M.M.N.; TÁVORA, F.J.A.F.; PINHO, J.L.N.; MELO, F.I.O. Produção, componentes de produção, crescimento e distribuição das raízes de caupi submetido à deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.1, p.43-50, 1997.
- CREWS, T.E.; PEOPLES, M.B. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A review. **Nutrition Cycling Agroecosystem**, v. 72, p.101-120, 2005.

DAMASCENO-SILVA, K.J. Estatística da produção de feijão-caupi. 2009. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/estatistica.pdf>>. Acesso em jan.2010.

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

EHLERS, J.D.; HALL, A.E. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Field Crops Research**, v.53, p.187-204, 1997.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa - CNPS, 1997, 212 p.

ENZÉBY, J.P. List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder available on the Internet (URL: <http://www.bacterio.cict.fr/>). **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.47, p.590-592, 1997.

FAO. FAOSTAT. Crops. Cow peas, dry. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>>. Acesso em :24 jan. 2010.

FAGERIA, N. K. Ecofisiologia da cultura do caupi. In: FAGERIA, N. K. (ed.). **Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas**. Brasília, DF: Embrapa-DPU, 1989. p. 397-409.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In...** 45^a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, 2000. p. 255-258.

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

FIAM - Fundação de Desenvolvimento Municipal do Interior de Pernambuco. Histórico do Município de Paudalho. In: Fundação de Desenvolvimento Municipal do Interior de Pernambuco. Histórico do Município de Paudalho. **Perfil municipal do interior de Pernambuco**. Recife, 1994, p.639-642.

FRANCO, A.A.; BALIEIRO, F.C. Fixação biológica do nitrogênio: Alternativa aos fertilizantes nitrogenados. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Eds.). **Inter-Relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas**. Viçosa: SBCS, Lavras:UFLA/DCS, 1999, p. 577-595.

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

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. Yeast Extract – **Mannitol agar for laboratory manual of general microbiology**. New York: McGraw Hill, 1928, 145p.

FRED, E. B.; BALDWIN, I. L.; McCOY, E. Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison: University of Wisconsin, 1932, 132p. Disponível em: <<http://digital.library.wisc.edu/1711.dl/HistSciTech.RootNodule>>. Acesso em: 21 ago. 2008.

FREIRE FILHO, F.R. Origem, evolução e domesticação do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. In: ARAÚJO, J. P. P. de.; WATT, E.E. (Eds.). **O Caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa-CNPAF/ Ibadan: IITA, 1988, p. 25-46.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BANDEIRA, LMR. **Cultivares de feijão-caupi**

recomendadas para plantio nas regiões Norte e Nordeste: ano agrícola 1997/98. Teresina: Embrapa-CPAMN, 1997. 26p. (Embrapa-CPAMN. Documentos, 22).

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D.; SANTOS, C.A.F. Melhoramento genético de Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na Região do Nordeste. In: QUEIROZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa - CPATSA; Brasília, DF: Embrapa-Cenargen, 1999. Disponível em: <<http://www.cpatosa.embrapa.br/catalogo/livroorg/index.html>>. Acesso em: 15 ago. 2008.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V.Q.; ALCÂNTARA, J dos P.; BELARMINO FILHO, J.; ROCHA, M. de M. BRS Marataoã: novo cultivar de feijão-caupi tipo sempre-verde. **Revista Ceres**, v. 52, n. 303, p. 771-777, 2005.

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

FREIRE FILHO, F.R.; BENVINDO, R.N.; ALMEIDA, A.L.G.; OLIVEIRA, J.T.S.; PORTELA, G.L.F. **Caracterização de pólos de produção da cultura de feijão-caupi no estado o Piauí**. Teresina: Embrapa-CPAMN, 2007. 28p. (Embrapa-CPAMN. Documento, 100)

FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. de M.; BRIOSO, P.S.T.; RIBEIRO, V.Q. BRS Guariba: a white grain cowpea cultivar for the Brazilian Mid-North Region. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.6, p.175-176, 2007.

FREIRE FILHO, F.R.; ROCHA, M.de M.; SILVA, K.J.D. e; RIBEIRO, V.Q.; NOGUEIRA, M.S. da R. Feijão-caupi: melhoramento genético, resultados e perspectivas. In: VIDAL NETO, F. das C.; BERTINI, C.H.C.de M.; ARAGÃO, F.A.S.; CAVALCANTI, J.J.V. (Ed.) **O melhoramento genético no contexto atual**. Fortaleza: Embrapa - CNPAT, 2009. p. 25 – 59.

FREIRE, J.R.J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. cap. 9. p. 121-140.

FREITAS, A.C.R.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. Aumenta a produtividade do feijão-caupi na região Pré-Amazônia com a inoculação com rizóbios, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/artigos/produtividade-feijao-caupi.html>>. Acesso em: 20 fev. 2009.

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

GARRITY , G.M.; LILBURN , T.G.; COLE , J.R.; HARRISON , S.H.; ENZÉBY , J.; TINDALL , B.J. Taxonomic outline of bacteria and archaea: TOBA release 7.7. Michigan: Michigan State University, 2007. Disponível em: <<http://www.taxonomicoutline.org>>. Acesso em: 31 jul. 2009.

GILLER, K.E. **Nitrogen fixation in tropical cropping systems**. 2 ed. Wallingford: CAB International, 2001. 423 p.

- GRAHAM, P. H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. a review. **Field Crops Research**, v. 4, p. 93-112, 1981.
- GUALTER, R.M.R.; HENRIQUES NETO, D.; LEITE, L.F.C.; DANTAS, J.S.; SOUSA, F.P. Inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. e seus efeitos na nodulação e produtividade de feijão-caupi nos serrados piauienses. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 1., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa, 2006. CD-ROM.
- GUALTER, R.M.R.; LEITE, L.F.C.; ALCÂNTARA, R.M.; CARDOSO, M.; COSTA, D.B.; LIMA, S.S. Avaliação dos efeitos da inoculação de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) com *Bradyrhizobium elkanii*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.637-640, 2007.
- GUALTER, R. M. R.; LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F. de; ALCANTARA, R. M.C.M. de.; COSTA, D. B. Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade de grãos. **Revista Scientia Agraria**, v.9, n.4, p.469-474, 2008.
- HANSEN, A.P.; YONEYAMA T.; KOUCHI H.; MARTIN P.; Respiration and nitrogen fixation of hydroponically cultured *Phaseolus vulgaris* L. cv OAC Rico and supernodulant mutant I. Growth, mineral composition and effect of sink removal. **Planta**, v.189, p.538-545, 1993.
- HARDY, R. W. F. Biological nitrogen fertilization: Present and future applications. In: SRIVASTAVA, J. P.; ALDERMANS, H. (Ed.). Agriculture and Environmental Challenges. Agricultural Sector Symposium, 13. **Proceedings ...** Washington: The World Bank. 1993. p.109 - 117.
- HAYDOCK, K.P.; NORRIS, D.O.; MANNETJE, L. t. The relation between nitrogen percent and dry weight of inoculated legumes. **Plant and Soil**, v.57, p.353-362, 1980.
- HARTWIG, U. A. The regulation of symbiotic N₂ fixation: a conceptual model of N feedback from the ecosystem to the gene expression level. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 1, p. 92-120, 1998.
- HÖGBERG, P. ¹⁵N natural abundance in soil-plant systems. Tansley review n°95. **New Phytologist**, v.137, p.179-203, 1997.
- HUNGRIA, M.; THOMAS, R. J. Effects of cotyledons and nitrate on the nitrogen assimilation of *Phaseolus vulgaris*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 3, p. 411-419, 1987
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa, 1994. p.9-90.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ANDRADE, D. S.; CAMPO, R. J.; CHUEIRE, L. M. O.; FERREIRA, M. C.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio em leguminosas de grãos. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Ed.) Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Lavras: SBCS, 1999. p.597-620.
- HUNGRIA, M.; BOHRER, T.R.J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, v.31, p.45-52, 2000.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa_CNPSO, 2001. 48p. (Embrapa-CNPSO, Circular Técnica, 35).

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE Cidades. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=211003>>. Acesso em: 16 ago. 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE Cidades. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=261060>>. Acesso em: 5 set. 2009.

INMET – Instituto de meteorologia. Sonabra. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/sonabra/maps/automaticas.php/>>. Acessos em: 15 jun.; 20 jul. 2009.

IPA-206: nova cultivar de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) tipo moita para Pernambuco. Recife: IPA, 1990. 1p. (**Divulga, 35**).

JORDAN, D. C. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 136–139, 1982.

JORDAN, D. C. Family III Rhizobiaceae. CONN. 1938. In: KRIEG, N.R., ed. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. p. 234-256.

KEYSER, H. H.; van BERKUM, P.; WEBER, D. F. A comparative study of the physiology of symbiosis formed by *Rhizobium japonicum* with *Glycine max*, *Vigna unguiculata*, and *Macroptilium atropurpureum*. **Plant Physiology**, v.70, n.1, p.1626-1630, 1982.

KÖPPEN, W. **Das geographische system der klimate**. In: KOPPEN, W.; GEIGER, R. (Ed.). Handbuch der klimatologie. Berlin: Borntrager, 1936. v. 1, part c. p. 1 - 44.

LACERDA, A. M. **Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. com estirpes selecionadas de rizóbio**. 2002. 44f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas). Curso de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

LAMEPE/ITEP – Laboratório de meteorologia. Disponível em: <<http://www.itep.br/LAMEPE.asp/>>. Acesso em: 20 set. 2009.

LEITE, M.L.; RODRIGUES, J.D.; VIRGENS FILHO, J.S. Efeitos do déficit hídrico sobre a cultura do caupi, cv. EMAPA-821. III - Produção. **Revista de Agricultura**, v.75, n.1, p.9-20, 2000.

LEWIS, G.P.; SCHIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legume of world**. The Royal Botanic Gardens, Kew, 2005. 592p.

LIMA, G.P.B. Crescimento e produtividade do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica do solo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 4., 1996, Teresina. **Resumos...** Teresina: Embrapa, 1996. p.41-43.

LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.M.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1095-1104, 2005.

MAPA – Cultivares do Zoneamento Agrícola. Disponível em:<
<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 26 set. 2009.

MARIOTTI, A., MARIOTTI F., CHAMPIGNY M.L., AMARGER N. E MOYSE A. Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO₃⁻ by pearl millet. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 880-887, 1982.

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

MARTINS, L.M.V. **Características ecológicas e fisiológicas de rizóbio de caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) isolados a partir de solos da região nordeste do Brasil.** 1996. 213f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MARTINS, L.M.V.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Characteristics of cowpea rhizobia isolates from the northeast region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5/6, p. 1005-1010, 1997.

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

MAYZ, J.; CAMPOS, F.; VALLADARES, N. Evaluation of rhizobial (*Rhizobium* sp.) isolates for their effects on cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] growth and yield. **Tropic Agricultural**, v. 80, p.36-40, 2003.

MELO, F.de B. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q (Org.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos.** Brasília: Embrapa-Informação Tecnologia, 2005. p 28-92.

MELO, S.R.de.; ZILLI, J.E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1177-1183, 2009.

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

MEEKS, J. C.; WOLK, C. P.; SCHILLING, N.; SHAFFER, P. W.; AVISSAR, Y.; CHIEN W. S. Initial organic products of fixation of [¹³N] dinitrogen by root nodules of soybean (*Glycine max*). **Plant Physiology**, v.61, p.980-983, 1978.

MOAT, A.G.; FOSTER, J.W. **Microbial Physiology.** 3 ed. New York: Wiley Liss, 1996. p.437-461.

MORGADO, L.B.; MARTINS, L.M.V.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. Avaliação do potencial de estirpes de rizóbio em fixar nitrogênio associadas ao feijão-caupi em Petrolina-PE. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 1., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa, 2006. CD ROM.

MORAIS, R.F. **Potencial produtivo e eficiência da fixação biológica de nitrogênio de cinco genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* schum.), para uso como fonte alternativa de energia.** 2008. 122f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo).

Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MOREIRA, F.M.S. **Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica.** 1991. 152f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MOREIRA, F.M.S. **Estirpes de bactérias altamente eficientes que fornecem nitrogênio para o caupi foram selecionadas na UFLA e já são recomendadas para a produção de inoculantes comerciais.** Boletim de Extensão da UFLA, 2005, 12p. Disponível em: <[http://www.ufla.br/editora/publicações/boletim de extensão](http://www.ufla.br/editora/publicações/boletim_de_extensao)>. Acesso em: 12 jul. 2008.

MOREIRA, F. M. M.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras: Editora da UFLA, 2006. 726 p.

MOREIRA, F.M.S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSARD, L. (ed.). **Biodiversidade dos Solos em Ecossistemas Brasileiros.** Lavras: Editora da UFLA, 2008. p. 299-322.

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the b-subclass of Proteobacteria. **Nature**, v. 411, p. 948-950, 2001.

NASCIMENTO, J.T.; PEDROSA, M.B.; TAVARES SOBRINHO, J. Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o crescimento e produção de feijão caupi, vagens e grãos verdes. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.174-177, 2004.

NASCIMENTO, L.R. S.; SOUSA, C.A.; SANTOS, C.E. R. S.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I.M. M. B.; SAMPAIO, E.V. S. B. Eficiência de isolados de rizóbios nativos do agreste paraibano em caupi. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1,p. 36-42, 2010.

NATIONAL PLANT GERMPLASM SYSTEM. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?41647>>. Acesso em: 18 dez. 2009.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soyben and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.889-895, 1997.

NORRIS, D. O.; T'MANNETJE, L. The symbiotic specialization of African *Trifolium* spp. In relation to their taxonomy and their agronomic use. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v.29, p.214-235, 1964.

OLIVEIRA, A. P.; TAVARES SOBRINHO, J.; NASCIMENTO, J. T; ALVES, A. U; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 180-182, 2002.

OKITO, A., ALVENS, B. R. J., URQUIAGA, S., BODDEY, R. M. Isotopic fractionation during N₂ fixation by four tropical legumes. **Soil Biology Biochemistry**, v.36, p.1179-1190, 2004.

OSA – AFIANA, L.O.; ALEXANDER, M.E.Effect of moisture on the survival of *Rhizobium* in soil. **Soil Science society of America Journal**, v.43, n.5, p.925-930, 1979.

PELCZAR, M.J.; CHAM, E.C.S., KRIEG, N.R.; EDWARDS, D.D., PELCZAR, M.F. **Microbiologia: conceitos e aplicações.**Vol. II. São Paulo: Pearson Makron Books, 2005. 517p.

PEOPLES, M.B.; FAIZAH, A.W.; RERKASEM, B.; HERRIDGE, D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1989. 76p. (Aciar. Monography, 11).

PEOPLES, M.B.; TURNER, G.L.; SHAH, Z.; SHAH, S.H.; ASLAM, M.; ALI, S. Evaluation of the ¹⁵N natural abundance technique for measuring N₂ fixation in experimental plots and farmer's fields. In: RUPELA, O.P.; JOHANSEN, C.; HERRIDGE, D.F (eds). **Proceedings of an International Workshop on Managing Legume Nitrogen Fixation in Cropping Systems of Asia**. Hyderabad: ICRISAT, 1997. p. 57-75.

PEOPLES, M.B.; BROCKWELL, J.; HERRIDGE, D.F.; ROCHESTER, I.J.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; DAKORA, F.D.; BHATTARAI, S.; MASKEY, S.L.; SAMPET, C.; RERKASEM, B.; KHAN, D.F.; HAUGGAARD-NIELSEN, H.; JENSEN, E.S. The contribution of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. **Symbiosis**, v.48, p.1-17, 2009.

PIMRATCH, S. Heritability and correlation for nitrogen fixation and agronomic traits of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Songklanakarinn Journal Science Technology**, v.26, n.3, p. 305-315, 2004.

RELARE. Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola. Disponível em: <http://www.relare.org.br>. Acesso em: 10 ago. 2008.

RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Técnicas utilizadas na quantificação da fixação biológica de nitrogênio**. Seropédica: Embrapa - CNPAB, 2003. 26 p. (Embrapa - CNPAB. Documentos, 165).

RUFINI, M., SILVA, A.T.da., SOARES, B.L., FERREIRA, P.A., MOREIRA, F.M.S. Eficiência simbiótica de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam o feijão-caupi em Lavras, MG In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBCS, 2009. CD-ROM.

RUMJANEK, N.G.; MARTINS, L.M.V.; XAVIER, G.R.; NEVES, M.C.P. A Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.A.; RIBEIRO, V.Q. (Eds.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 280-335.

RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Inoculação do feijão-caupi: uma tecnologia que garante aumento real na produtividade. 2007. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php>. Acesso em: 3 set. 2008.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

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

SALVAGIOTTI, F.; CASSMAN, K.G.; SPECHT, J.E.; WALTERS D.T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: a review. **Field Crops Research**, v.108, p.1-13, 2008.

SAMPAIO, L.S.; CRAVO, M.; FREIRE FILHO, F.R.; ROCHA, M. M.; RIBEIRO, V. Q. Avaliação de linhagens de feijão-caupi em Igarapé Açu-PA. . In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 1., 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa, 2006. CD ROM.

- SANTOS, C.A.F.; ARAUJO, FP; MENEZES, EA. Comportamento produtivo de caupi em regimes irrigado e de sequeiro em Petrolina e Juazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p.2229-2234, 2000.
- SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D. S.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G; SOUTO, S. M.. Efetividade de rizóbios isolados de solos da região nordeste do Brasil, na fixação do N₂ em amendoim (*Arachis hypogaea*). **Acta Scientiarum**, v.27, n.1, p.305-312, 2005
- SANTOS, J.F.; GRANGEIRO, J.I.T.; BRITO, C.H.de.; SANTOS, M.C.A. Produção e componentes produtivos de variedades de feijão-caupi na microregião Cariri paraibano. **Engenharia Ambiental**, v.6, p.214-222, 2009.
- SAWADA H, KUYKENDALL L.D, YOUNG J.M. Changing concepts in the systematic of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. **Journal of General and Applied Microbiology**, v.49, p.155–179, 2003.
- SCHOLLA, M. H.; ELKAN, G. H. *Rhizobium fredii* sp. nov., a fast-growing species that effectively nodulates soybeans. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 34, n.3, p.484-486, 1984.
- SHEARER, G.; KOHL D. H. N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.699-756, 1986.
- SILVA, M.F. **Efetividade da inoculação com *Bradyrhizobium* spp. em amendoim cultivado em solo da zona da mata de Pernambuco**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- SILVA, R.P.; SANTOS, C.E.R.S.; LIRA JÚNIOR, M.; STAMFORD, N.P. Efetividade de estirpes selecionadas para feijão caupi em solo da região semi-árida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.2, p.105-110, 2008.
- SINGH, B. B. Cowpea breeding at IITA: highlights of advances and impacts In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 2006, Teresina. **Anais...** Teresina: Embrapa-CPAMN, 2006. CD-ROM.
- SMARTT, J. Evolution of genetic resources. In: SMARTT, J. (Ed.), **Grain Legumes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. p. 140–175.
- SIMON, M.V.; BENKO-ISEPPON, A.M.; RESENDE, L.V.; WINTER, P.; KAHL, G. Genetic diversity and phylogenetic relationships in *Vigna* Savi germplasm revealed by DNA amplification fingerprinting (DAF), **Genome**, v.50, p.538-547, 2007.
- SOARES, A.L.L.; PEREIRA, J.P.A.; FERREIRA, P.A.A.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, (MG). I-caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 1, p.795-802, 2006.
- 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**, v.43(1): 83-91, 2008.
- SPRENT, J.I. Bacteria nodulating legumes. In: SPRENT, J.I. (Ed.). **Legume nodulation: a global perspective**. Wiley: Blackwell, 2009. p.65-78.

STAMFORD, N.P; FREITAS, A.D.S; FERRAZ, D.S.; SANTOS, C.E.R.S. Effect of sulphur inoculated with *Thiobacillus* on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. **Journal of Agricultural Science**, v.139, p.275-281, 2002.

STAMFORD, N. P.; FREITAS, A. D.; FERRAZ, D. S.; MONTENEGRO, A. E SANTOS, C. E. R. S. Nitrogen fixation and growth of cowpea and vam bean in a sodic soil as affected by gypsum and S inoculation. **Tropical Grasslands**, v. 37, p. 11-19, 2003.

STURTZ, A.V.; CHRISTIE, B.R.; MATHESON, B.G.; NOWAK, J. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. **Biology and Fertility of Soils**, v. 25, p. 13-19, 1997.

SUMMERFIELD, R.J.; PATE, J.S.; ROBERTS, E.H.; WIEN, H.C. The physiology cowpea. In: SINGH, S.R.; RACHIE, K.O. (Eds.). **Cowpea research, production and utilization**. Chichester: John Wiley, 1985. p.66-101.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

UNIPROT. Universal Protein Resource [home page]. Disponível em: <http://www.uniprot.org/taxonomy>. Acesso em: 6 set. 2008.

VANDAMME, P.; GORIS, J.; CHEN, W. M.; VOS, P.; WILLEMS, A. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov. nodulate the roots of tropical legumes. **Systematic and Applied Microbiology**, v.25, p.507-512, 2002.

VANDAMME, P.; COENYE, T. Taxonomy of the genus Cupriavidus: a tale of lost and found. **International Journal Systematic Evolutionary Microbiology**, v.54, p.2285-2289, 2004.

VERMA, S. C.; CHOWDHURY, S. P.; TRIPATHI, A. K. Phylogeny based on 16S rDNA and nifH sequences of *Ralstonia taiwanensis* strains isolated from nitrogen-fixing nodules of *Mimosa pudica*, in India. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, p.313-322, 2004.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; CALDAS, M.T. Comportamento do feijão-fradinho na primavera-verão na zona da mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p.1359-1365, 2000.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell, 1970. 164p.

WADISIRISUK, P.; WEAVER, R.W. Importance of bacteroid number in nodules and effective nodule mass to dinitrogen fixation by cowpeas. **Plant and Soil**, v.87, p.223-231, 1985.

WANG, E. T.; MARTÍNEZ-ROMERO, J.; LÓPEZ, I. Rhizobium y su destacada simbiosis con plantas. **Microbios en línea**. Disponível em: <http://www.biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap8/>. Acesso em: 15 ago. 2008.

WATT, E. E. **First annual report on the EMBRAPA/IITA - Cowpea Program in Brasil**. Goiânia: Embrapa-CNPAF, 1978. 55p.

WILSON, J. K. Over five hundred reasons for abandoning the cross inoculation groups of legumes. **Soil Science**, v. 58, n. 1, p. 61-69, 1944.

WOOMER, P.; SINGLETON, P.; BOHLOOL, B.B. Ecological indicators of native rhizobia in tropical soils. **Applied and Environment Microbiology**, v. 54, p. 1112-1116, 1988.

- WOOMER, P.L. Most probable number counts. In: WEAVER, P.W.; ANGLE, J.S.; BOTTOMELY, P.S., ed. **Methods of soil analysis**. Wisconsin: Soil Science Society of American Book, 1994. p. 59-79.
- XAVIER, G.R. **Estudo da ocupação nodular de genótipos de caupi (*Vigna unguiculata*) agrupados pela técnica de RAPD**. 2000. 113f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- 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. **Revista Caatinga**, v.19, n.1, p. 25-33, 2006a.
- XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G.; MARTINS, L.M.V.; MORGADO, L.B.; ALCANTARA, R.M.C.M de; FORTALEZA, J.M.; FREIRE FILHO, F. R.; DANTAS, J.P.; SANTOS, C.E.; ZILLI, J.E.; COSTA, J.R. Avaliação do desempenho de estirpes de rizóbio em feijão-caupi: dados de rede referente ao 1º ano de experimentação. In: FERTBIO, 4., 2006b, Bonito. **Anais...** Bonito: SBCS, 2006b. CD-ROM.
- XAVIER, T.F.; ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; CAMPOS, F.L. Ontogenia da nodulação em duas cultivares de feijão-caupi. **Ciência Rural**, v. 37, p. 572-575, 2007.
- XAVIER, T.F.; ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; CAMPOS, F.L. Influência da inoculação e adubação nitrogenada sobre a nodulação e produtividade de grãos de feijão-caupi. **Ciência Rural**, v. 38, 2008.
- XU, L. M.; GE, C. Physiological-biochemical characteristics and symbiotic response of the fast growing *Rhizobium japonicum*. **Soybean Science**, v. 3, p. 102-109, 1984.
- ZAHARAN, H.H. *Rhizobium*-Legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, v.63(4): 968-989, 1999.
- ZAKHIA, F.; LAJUDIE, P. Taxonomy of Rhizobia. **Agronomie**, v.21. n. 6, p.569-576, 2001.
- ZILLI, J.E.; FERREIRA, E.P.B.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Efficiency of fast-growing rhizobia capable of nodulating cowpea. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.71, n.3, p.553-560, 1999.
- ZILLI, J.E. **Caracterização e seleção de estirpes de rizóbio para inoculação de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] em áreas do cerrado**. 2001. 137 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- ZILLI, J.E.; VALICHESKIR, R.; RUMJANEK, N.G.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; FREIRE FILHO, F.R. E NEVES, M.C.P. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.811-818, 2006.
- ZILLI, J.E. Embrapa desenvolve novo inoculante para aumentar a produtividade de feijão-caupi. Disponível em: <http://www.cpafr.embrapa.br/embrapa/index.php/br/ultimas-noticias/>. Acesso em: 12 set. 2009a.
- ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v.39, n.4, p.749-758, 2009b.
- ZISKA, L.H.; HALL, A.E. Seed yields and water use of cowpeas [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] subjected to planned-water deficit irrigation. **Irrigation Science**, v.3, p.1-9, 1982.

8 ANEXOS

Diluição Seriada e Contagem pelo Método da Gota (Drop plate)

Materiais:

- Álcool 70%
- Algodão
- Eppendorfs
- Erlenmeyers
- Grade para tubos
- Inoculantes (BR 3262, BR 3267, BR 3299, BR 3301)
- Meio de Cultura (meio 79 com vermelho congo)
- Papel filme
- Papel alumínio
- Pipetas
- Ponteiras
- Placas tipo YMF
- Sais do meio 79 (K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4$, $NaCl$)
- Solução salina (sais do meio 79 adicionados de 0,5 ml de Tween 80/L)
- Tubos Falcon
- Tween

Teste para estimativa de células de rizóbio no solo pelo NMPP (WOOMER, 1994)

Diluições do Solo	Repetições						Plantas noduladas *
	1	2	3	4	5	6	
10 ⁻²	+	+	+	+	+	-	5
10 ⁻³	+	+	+	+	-	+	5
10 ⁻⁴	+	+	+	+	-	+	5
10 ⁻⁵	+	+	+	-	+	-	4
10 ⁻⁶	-	-	+	+	+	+	4
10 ⁻⁷	+	+	-	-	+	-	3
10 ⁻⁸	+	-	+	-	-	+	3
10 ⁻⁹	-	-	-	-	-	+	1
10 ⁻¹⁰	-	-	-	+	-	-	1

* De acordo com a tabela (WOOMER, 1994), o total de plantas noduladas 5-5-5-3-2-2-1-1-0 representam a estimativa de células de rizóbio da ordem de 10².