



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA**

**AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO QUE NODULAM O
FEIJOEIRO-COMUM**

LENIANY PATRÍCIA MOREIRA

Orientador:
....Prof. Enderson Petrônio de Brito Ferreira

Abril - 2015

LENIANY PATRÍCIA MOREIRA

**AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO QUE NODULAM O
FEIJOEIRO-COMUM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Solo e Água.

Orientador:

Prof. Dr. Enderson Petrônio de Brito
Ferreira

Goiânia, GO – Brasil
2015

Dedico este trabalho a vocês que sempre me fizeram acreditar que era possível a realização deste sonho. À minha mãe, Maria Terezinha que com seu jeito humilde sempre me incentivou seguir em frente. Aos meus amados filhos (Luana e Augusto), a cada olhar tinha certeza que seria compensador. A você André Luiz, companheiro de todas as horas, no amor, na vida e nos sonhos, que sempre me apoiou nas horas difíceis me deu força para continuar. A vocês com todo meu amor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

É por acreditar que não se constrói nada sozinho que reconheço aqui as importantes e valiosas contribuições no decorrer deste trabalho, aos que contribuíram direta ou indiretamente para que chegasse até aqui, me incentivando e me dando força quando mais precisei.

Ao meu marido e meus filhos, esses participaram em todos os momentos, inclusive momentos de angústia e desânimo.

Agradeço à minha família: mãe, irmãos, cunhadas, cunhado, sobrinhos, sogra, que estiveram presente quando foi necessário.

Ao meu orientador Enderson Petrônio de Brito Ferreira, pela paciência e dedicação, pelas decisivas e importantes orientações no decorrer desse trabalho.

À Universidade Federal de Goiás pela oportunidade de fazer o curso e a todos os professores e professoras que nesse período estiveram presentes e contribuíram para que chegasse até aqui.

Aos estagiários da Embrapa Arroz e Feijão pelas importantes contribuições nos trabalhos de Campo.

Aos funcionários da Embrapa Arroz e Feijão, em nome do Marcos Rodrigues, Wilson e Tatiana agradeço a todos que contribuíram com esse trabalho, sem a ajuda de vocês seria quase impossível à realização deste.

Ao Adriano Knupp pelo auxílio em vários momentos e pela amizade que construímos nesse período.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

Aos colegas e amigos que estiveram presente nesta caminhada.

A todos e todas que sonham e lutam por um mundo melhor.

“Vocês devem ensinar as suas crianças que o solo a seus pés é a cinza de nossos avós. Para que respeitem a terra, digam a seus filhos que ela foi enriquecida com as vidas de nosso povo. Ensinem as suas crianças o que ensinamos às nossas: que a terra é nossa mãe. Tudo o que acontecer à terra, acontecerá aos filhos da Terra .” Chefe indígena Seattle

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 O FEJOEIRO-COMUM.....	13
2.2 NECESSIDADES NUTRICIONAIS DO FEJOEIRO-COMUM.....	15
2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N	17
2.4 BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEJOEIRO.....	19
2.5 ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEJOEIRO.....	20
2.6 CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEJOEIRO AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM	21
2.7 FEJOEIRO.....	22
2.8 PRODUÇÃO DE FEJOEIRO-COMUM EM PEQUENAS PROPRIEDADES	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 ISOLADOS AVALIADOS E BACTÉRIAS UTILIZADAS.....	27
3.2 PREPARO DO INOCULANTE	29
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA SOB CONDIÇÕES DE	
3.3 CAMPO.....	31
3.4 TRATAMENTOS E IMPLANTAÇÃO DOS ENSAIOS.....	33
3.5 COLETA DAS PLANTAS.....	35
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE ISOLADOS DE	
4.1 RIZÓBIO EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	39
TEORES DE MACRO E MICRONUTRIENTES DA PARTE AÉREA DE FEJOEIRO-COMUM INOCULADO COM DIFERENTES ISOLADOS DE	
4.2 RIZÓBIO.....	49
EFICIÊNCIA RELATIVA DE PRODUÇÃO DE GRÃOS EM FEJOEIRO-	
4.3 COMUM INOCULADO.....	57
5 CONCLUSÕES.....	62
6 REFERÊNCIAS.....	63
7 ANEXO.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Identificação e dados de origem dos isolados bacterianos obtidos de nódulos de feijoeiro-comum utilizados nos estudos de avaliação agronômica em condições de campo.....	27
Tabela 2	Estirpes padrão utilizadas como referência nos ensaios de avaliação agronômica de novos isolados de rizóbio em condições de campo.....	28
Tabela 3	Resultados das análises dos atributos químicos do solo das áreas dos dois experimentos antes da instalação do experimento.....	32
Tabela 4	Valores e significância do teste <i>F</i> para os efeitos de local, fonte de N e suas interações sobre o número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da raiz, estande, área foliar, massa seca da parte aérea, número de vagem, número de grãos, massa seca de 100 grãos, produção de grãos, nitrogênio da parte aérea, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados de rizóbio.....	40
Tabela 5	Comparação entre locais para atributos da nodulação: número de nódulos e massa seca de nódulos; desenvolvimento de plantas: massa seca da raiz, estande, área foliar e massa seca da parte aérea e componentes de rendimento: número de vagens, número de Grãos, massa seca de 100 grãos e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados.....	42
Tabela 6	Valores médios de número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da raiz, estande, área foliar, massa seca da parte aérea, número de vagem, número de Grãos, massa seca de 100 grãos e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Guapó.....	44
Tabela 7	Valores médios de número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da raiz, estande, área foliar, massa seca da parte aérea, número de vagem, número de Grãos, massa seca de 100 grãos e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Santo Antônio de Goiás.....	48
Tabela 8	Comparação entre locais para os teores de macro e micronutrientes: nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco da parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados.....	50
Tabela 9	Teores médios de macro e micronutrientes: nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco na parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Guapó.....	52

Tabela 10	Teores médios de macro e micronutrientes: nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco na parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Santo Antônio de Goiás.....	56
------------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Meio YMA sólido e placas de Petri.....	29
Figura 2	Tubos de centrífuga estéreis e centrífuga.....	30
Figura 3	Preparo do inoculante.....	31
Figura 4	Localização da área onde foi instalado o experimento no município de Guapó.....	32
Figura 5	Localização da área onde foi instalado o experimento em Santo Antônio de Goiás -GO.....	33
Figura 6	Momento da inoculação das sementes, com seus respectivos tratamentos.....	34
Figura 7	Visão geral da área onde foi instalado no experimento para avaliação agronômica da eficiência simbiótica dos novos isolados de rizóbio, município de Guapó-GO.....	35
Figura 8	Visão geral da área onde foi instalado no experimento para avaliação agronômica da eficiência simbiótica dos novos isolados de rizóbio, na fazenda experimental da Embrapa Arroz e feijão, Santo Antônio de Goiás.....	35
Figura 9	Visão geral do momento da lavagem das raízes para avaliação do NN.....	36
Figura 10	Coleta em campo da área foliar e raízes.....	37
Figura 11	Momento do corte das plantas de feijoeiro e trilha mecânica.....	37
Figura 12	Eficiência relativa de produção de grãos em relação aos tratamentos T0 (ERPG : TO), TN (ERPG : TN), SEMIA 4077 (ERPG : SEMIA 4077), SEMIA 4080 (ERPG : SEMIA 4080) e SEMIA 4088 (ERPG : SEMIA 4088) do feijoeiro-comum inoculado com diferentes isolados de rizóbio em Guapó e em Santo Antônio de Goiás. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$).....	59

RESUMO

MOREIRA, L. P. **Avaliação agronômica de isolados de rizóbio que nodulam o feijoeiro-comum.** 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Solo e Água) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, 2015.¹

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L) é uma leguminosa de grande importância para a população brasileira, principalmente as mais carentes por representar a principal fonte de proteínas. O feijoeiro tem capacidade de se beneficiar da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), através da simbiose com bactérias fixadoras pertencentes ao grupo dos rizóbios. No presente trabalho avaliou-se a eficiência agronômica de isolados de rizóbio em condição de campo, comparados às três estirpes comerciais de *Rhizobium tropici* SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088. Foi avaliado o número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), estande (E), área foliar (AF), número de vagens (NV), número de grãos (NG), massa seca de 100 grãos (MS100G), produção de grãos (PG) e teores para macro e micronutrientes na parte aérea de plantas de feijoeiro-comum. Os resultados revelaram que houve diferenças significativas para os tratamentos testados em Guapó para os parâmetros de NN, MSPA, NV, NG e PG. Em Santo Antônio de Goiás houve diferenças significativas para MSN, MSR, AF, MSPA, NV, NG e PG. Foi verificado, na avaliação de macro e micronutrientes no experimento em Guapó, diferenças significativas para todos os nutrientes avaliados. Em Santo Antônio de Goiás não foram verificadas diferenças significativas apenas para Fe e Mn. Cerca de 70% dos isolados testados em Guapó apresentaram eficiência relativa de produção de grãos iguais às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088, enquanto em Santo Antônio de Goiás todos os isolados apresentaram a mesma eficiência verificada para as estirpes padrão. A inoculação com isolados de rizóbio contribuiu de forma significativa para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro-comum, com resultados semelhantes ao tratamento TN e às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088, sendo um indicativo de que é possível encontrar isolados mais eficientes no processo da FBN que as estirpes comerciais utilizadas atualmente.

Palavras-chave: feijoeiro-comum, FBN, rizóbio, simbiose.

¹ Orientador: Dr. Enderson Petrônio de Brito Ferreira. Embrapa Arroz e Feijão.

ABSTRACT

MOREIRA, L. P. **Agronomical evaluation of rizobia isolates for common bean.** 2015. 75 f. Dissertation (Master in Agronomy: Soil and water) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, 2015.¹

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a leguminous plant of great importance for the Brazilian population, especially for the poorer population by representing the main source of protein. Common bean can establish symbiosis with nitrogen-fixing bacteria to obtain N from the atmosphere through Biological Nitrogen Fixation (BNF) process. This work aimed to evaluate the agronomic efficiency of rhizobia isolates under field conditions in two sites: Guapó and Santo Antônio de Goiás, by comparison of their results with the commercial strains SEMIA 4077, 4080 and SEMIA 4088 of *Rhizobium tropici*. We evaluated the number of nodules (NN), nodules dry weight (NDW), root dry weight (RDW), shoot dry weight (SDW), stand (S), leaf area (LA), number of pods (NP), number of grains (NG), 100 grains dry weight (100GDW), grain yield (GY) and levels of macro and micronutrients in the shoots of common bean plants. The results revealed significant differences for NN, SDW, NP, NG and GY among the treatments evaluated in Guapó. In the experiment carried out in Santo Antônio de Goiás significant differences were observed among treatments for NDW, RDW, LA, SDW, NP, NG and GY. The content of micro and micronutrients varied significantly among all of the isolates while in Santo Antônio de Goiás no significant differences were found for Fe and Mn. About 70% of the isolates evaluated in Guapó showed relative efficiency of grain yield similar to the strains SEMIA 4077, SEMIA 4080 and SEMIA 4088. In Santo Antônio de Goiás all of the evaluated isolates showed the same efficiency of those strains. The inoculation with the isolates contributed on a significant way for the grain yield increasing with results similar to the N treatment and commercial strains. These results indicate that is possible to find isolates more efficient than the commercial strains on the BNF process.

Key words: common bean, BNF, rhizobia, symbiosis

¹ Advisor: Dr. Enderson Petrônio de Brito Ferreira. Embrapa Arroz e Feijão

1 INTRODUÇÃO

A sociedade tem se tornado cada vez mais exigente, e a busca por alimentos mais saudáveis, cultivados sem o emprego de agrotóxicos, fertilizantes químicos e manejos que agredam menos o meio ambiente, tem tido uma procura cada vez maior.

Dentre os nutrientes mais absorvidos em maior quantidade e necessários ao crescimento de plantas está o nitrogênio (N), que na maioria das vezes é aplicado sem planejamento e controle por parte dos produtores, o que pode vir a comprometer a qualidade do solo e, como consequência, dos alimentos, emitir N_2O contribuindo para o efeito estufa.

A adição de N ao solo pode ser realizada de várias formas, por descargas elétricas, que adicionam uma quantidade insignificante para a agricultura, uso de fertilizantes sintéticos, compostos orgânicos e fixação biológica de nitrogênio (FBN), entre outras (EPAGRI, 1992).

A fixação biológica de N_2 (FBN) é um processo essencial para transformar o N_2 , uma molécula estável e abundante na atmosfera, que não pode ser utilizada pela maioria dos microrganismos e pelas plantas, na forma inorgânica combinada NH_3 , e, a partir daí, em formas reativas orgânicas e inorgânicas vitais em sistemas biológicos. A reação de redução do N_2 a NH_3 é realizada por microrganismos que contêm a enzima nitrogenase e são conhecidos como fixadores de N_2 ou diazotróficos (Novais et al., 2007).

Algumas espécies de vegetais são capazes de interagir com bactérias fixadoras de nitrogênio, retirando diretamente do ar o nitrogênio em forma gasosa e transformando-o em formas absorvíveis pelas plantas, a associação mais conhecida é a que ocorre entre algumas espécies de leguminosas e as bactérias da família de *Rhizobiaceae* (Hungria et al., 2013)

O feijoeiro está entre as leguminosas que se beneficiam em condições de campo do processo de fixação biológica de N_2 , podendo alcançar produtividade acima de 2.500 kg ha^{-1} (Hungria et al., 2000).

De acordo com Pelegrin et al. (2009) a FBN é uma fonte alternativa de suprimento de N para a cultura do feijoeiro. Em pesquisa de campo realizada por esses autores utilizando bactérias fixadoras de N para a produção de feijão, verificou-se que o tratamento de inoculação com rizóbio promoveu rendimentos de grãos de feijoeiros equivalentes à aplicação de 80 kg ha^{-1} de N. Levando em consideração que o feijão é um alimento amplamente consumido pelos brasileiros, portanto um menor gasto econômico com adubação possibilitaria a redução dos custos de produção e com isso o preço ao consumidor final.

Diversas pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de selecionar estirpes mais eficientes, capazes de fixar N em condições de campo, podendo chegar há uma boa produtividade de grãos, e assim diminuir o uso de adubos nitrogenados. Atualmente existem três estirpes de rizóbio recomendadas para a produção de inoculantes para o feijoeiro-comum (SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088), porém é preciso investir mais em pesquisas que visem o isolamento e seleção de novas bactérias fixadoras de N para o feijoeiro, visando explorar ao máximo a diversidade microbiana que ocorre nos solos brasileiros, no intuito de obter estirpes que apresentem alta eficiência simbiótica e proporcionem índices de produtividades maiores do que aqueles observados atualmente com o uso das estirpes recomendadas.

Diante da necessidade de adoção de práticas mais sustentáveis que possam permitir menos danos ao meio ambiente, e que a inoculação do feijoeiro com estirpes de rizóbio é capaz de suprir, ainda que parcialmente, a necessidade de N, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência agrônômica de isolados de rizóbio em condições de campo, em simbiose com o feijoeiro e a comparação destas com três estirpes recomendadas para a produção de inoculante comercial para a cultura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O FEIJOEIRO-COMUM

O feijão é um alimento de grande importância para a população brasileira, possuindo grande relevância econômica e social, se apresenta como uma das principais fontes de proteínas principalmente para as populações mais carentes. De acordo com a estimativa da Conab/safra 2013/14, levantamento de março de 2014 o consumo alimentar médio de feijão é de 3.450,0 toneladas/ano.

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta da família das leguminosas, gênero *phaseolus*, espécie *Phaseolus vulgaris* L., é classificado com uma planta anual herbácea termófila, e tem sua origem nas Américas, sendo o centro de origem e domesticação na Mesoamérica, (EPAGRI, 1992).

Segundo Backes & Hemp (2014), o Brasil rivaliza com a Índia pelo título de maior produtor mundial de feijão, sendo que nessas estatísticas são considerados distintos grupo de feijão. De acordo com os autores, as cultivares de feijão são classificados de acordo com a cor dos grãos nos seguintes grupos comerciais: carioca, preto, branco, jalo, rosinha, mulatinho, roxo entre outros. Em alguns casos os grupos são resumidos a dois grupos, “pretos” e “de cor”, sendo que o feijão de cor representa mais de 80% da produção nacional, com o feijão do grupo carioca representando cerca de 70% da produção nacional.

A produção de feijão-comum é realizada por diversos tipos de produtores, em diversas regiões do país, utilizando diferentes níveis tecnológicos. A Agricultura familiar ganha um papel de destaque entre os produtores desse grão, sendo apontada como a grande responsável pela produção de feijão no país (Silva & Wander, 2012).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), aguarda-se para a produção de feijão para safra de 2014/2015 uma produção de 3.249,6 toneladas. A área plantada foi estimada em 3.236,8 hectares, destacando-se como maiores produtores (em mil t), segundo a atual estimativa, o estado do Paraná com uma produção de 735,4, Minas Gerais com 589,2 t.h⁻¹ e Mato Grosso com 523,3. Em nível de região brasileira a

maior produtora de feijão (em mil t) está à região Sul com 934,9, seguindo da região Centro-Oeste com 809,5, Sudeste com 730,5, Nordeste com 650,0 e por último a região Norte com 77,7. Segundo Moreira et al. (2003) no Brasil podem ser feitas três safras anuais no plantio do feijoeiro, a primeira na região sul conhecida por “safra das águas” acontece de agosto a dezembro. Já a segunda safra conhecida por “safra da seca” acontece de janeiro a abril e se distribui por todo território nacional. A terceira safra, ou “safra de inverno” vai de maio a agosto e ocorre mais na região Centro–Oeste. Isso mostra que a safra do feijão se estende durante todo o ano.

O feijoeiro é cultivado em quase todas as regiões do Brasil, por isso é exposto a distintas condições climáticas. Assim fatores como precipitação pluvial, temperatura do ar e radiação solar, em diferentes intensidades esses fatores podem afetar a produtividade (Moreira et al., 2003).

Segundo Silva & Wander (2012) boa parte da produção é destinada ao auto consumo das famílias, principalmente onde se produz em áreas menores, porém mesmo os pequenos produtores de feijão destinam parte de sua produção ao mercado, apesar das oscilações de preço, tem sido compensadores aos produtores, o que de certa forma estimula os produtores a se manterem na atividade.

A importância alimentar dos feijões se deve ao menor custo de sua proteína em relação à de origem animal. Esse produto tão consumido nacionalmente disponibiliza entre 10 a 20% das necessidades de adultos para uma série de nutrientes. Os feijões são boas fontes de carboidratos, contendo cerca de 65%, de seu peso, sendo que em maior quantidade se tem o amido (Mesquita, 2007).

Em pesquisa recente, resultados mostram que o consumo de feijões seja capaz de prevenir o câncer, Schneider (2014), relata os resultados da pesquisa realizada por Thompson & Brinck (2014), onde incluiu na alimentação de ratos uma dieta com 7,5, 15, 30 e 60% de feijão comum. Após 45 dias sob a dieta foram realizadas as avaliações, e os resultados foram surpreendentes, os animais que se alimentaram com 60% da dieta composta por feijão reduziram a incidência de câncer à 41% e a multiplicidade em 53% , mesmo os que receberam o menor percentual de feijão a incidência e a multiplicidade foram significativamente menor

2.2 NECESSIDADES NUTRICIONAIS DO FEIJOEIRO-COMUM

As culturas de modo geral são exigentes em diversos nutrientes para alcançar uma boa produtividade. Segundo Carvalho et al. (2013) destaca-se dentre os fatores que contribuem para a baixa produtividade das culturas, em destaque a do feijão, a baixa disponibilidade de nutrientes na maioria dos solos brasileiros, em especial na região do Cerrado, a qual apresenta necessidade de correção da acidez do solo e fornecimento de nutrientes por meio de aplicação de corretivos e fertilizantes para conseguir se ter uma boa produção.

De acordo com Leal & Prado (2008), o solo deve atender às exigências nutricionais das plantas, quando isso não acontece tem-se o início de alterações no metabolismo da planta, ocasionado pela falta de nutrientes, esse processo promove a desordem nutricional. Os autores conduziram um experimento para avaliar o desenvolvimento da planta de feijoeiro na ausência de N, P, K Ca, S, Mg, B e Zn. Os resultados da pesquisa mostraram que a falta de potássio, seguido do fósforo, nitrogênio e cálcio, foi o que mais afetou os parâmetros vegetativos de crescimento do feijoeiro e a produção de matéria seca das plantas.

Segundo Fageria et al. (1996), o feijoeiro exige dezesseis nutrientes para que seu crescimento seja normal, os quais são: carbono, hidrogênio, oxigênio (esses são fornecidos pelo ar e pela água), nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, zinco, ferro, cobre, manganês, boro, molibdênio e o cloro que dificilmente é deficiente nesta cultura.

Dentre os nutrientes absorvidos em maior quantidade e necessários ao crescimento de plantas está o nitrogênio (N), não sendo diferente para a cultura do feijão. De acordo com Ferreira et al. (2013), a época de maior exigência é no florescimento, porém sua absorção ocorre praticante durante todo o ciclo da cultura.

O nitrogênio é um nutriente essencial, que se encontra predominantemente ligado a compostos orgânicos, portanto sujeito a vários processos de transformação biológica da matéria orgânica, que depende das condições climáticas, da atuação dos micro-organismos e da cultura implantada, se tornando essencial à vida, sendo necessário, por exemplo, na constituição das proteínas e do DNA, tendo como suas principais fontes os íons de amônio e nitrato, oriundos do processo da decomposição da matéria orgânica do solo e dos fertilizantes nitrogenados, além do N₂ atmosférico (Martins et al., 2003).

Além do elevado custo econômico, o uso de adubos nitrogenados em solos tropicais tem ainda um custo ecológico adicional. Considera-se que as perdas de adubos nitrogenados aplicados estão em torno de 50%, sendo ocasionadas principalmente por lixiviação, na forma de nitrato e escoamento superficial, provocado pela água das chuvas e/ou irrigações (Straliotto et al., 2002).

Para Hungria et al. (2007) significa que, se o agricultor colocar 100 kg de N no solo, 50 kg serão perdidos pelos processos de lixiviação (lavagem no perfil do solo por percolação ou escoamento superficial) e transformação em formas gasosas, tanto pela desnitrificação (redução, pela ação dos microrganismos, para formas gasosas, N_2 e N_2O), como pela volatilização (perdas gasosas na forma de NH_3). Outra consideração feita pelos autores é sobre a poluição ambiental, os quais ressaltam que a lixiviação do N e o escoamento desse nutriente pela superfície do solo resultam em acúmulo de formas nitrogenadas, particularmente nitrato, nas águas dos rios, lagos e lençóis subterrâneos, podendo atingir níveis tóxicos aos peixes e ao homem.

O reservatório de N presente na matéria orgânica do solo é limitado, sendo que as condições de temperatura e umidade predominantes no Brasil aceleram os processos de decomposição da matéria orgânica e de perdas de N (Hungria et al., 2001). Os fertilizantes nitrogenados tem um custo elevado, pois requer um gasto considerável de fontes energéticas não-renováveis, outro fator agravante é a baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, que raramente ultrapassa 50%. A fixação não biológica contribui com cerca de 10% da entrada anual de N na Terra, já o processo biológico contribui com cerca de 65% da fixação anual de N.

Uma das principais dificuldades para a produção da cultura do feijoeiro é o manejo adequado da adubação nitrogenada. No entanto, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma fonte alternativa de suprimento deste nutriente à cultura (Pelegrin et al., 2009).

A FBN apresenta-se como uma possibilidade de tornar o N atmosférico prontamente disponível para as culturas agrícolas, constituindo a principal via de incorporação do nitrogênio à biosfera, apresenta-se após a fotossíntese, como o mais importante processo biológico para a existência da vida na Terra (Junior Reis, 2011).

Segundo Mendes et al. (2010), a importância da FBN está ligada em temas como a segurança alimentar e as mudanças climáticas, tanto é que no ano de 2009, a FBN

foi selecionada pela plataforma ABC (Agricultura de Baixo Carbono) como um dos mecanismos a serem adotados no Brasil para mitigar os efeitos de gases de efeito estufa.

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N

O processo de fixação biológica de nitrogênio é considerado um dos processos biológicos mais importantes, sendo um processo no qual alguns gêneros de bactérias captam o N presente no ar tornando-o assimilável pelas plantas (Junior Reis, 2011).

Algumas plantas conseguem obter nitrogênio por processo de simbiose, que é a associação de bactérias noduladoras ou rizóbios. Nesse processo a planta fornece ao micróbio carboidratos, enquanto o micróbio fornece a planta nitrogênio, esse processo ocorre em várias plantas, principalmente na família das leguminosas (Primavesi, 1999).

A simbiose é uma associação entre duas espécies, na qual ambas se beneficiam, essa simbiose pode ser obrigatória, na qual a vida de indivíduo depende da simbiose, ou facultativa, em que o indivíduo se beneficia da associação, mas poderia viver sem ela (Silva & Sasson, 2005).

Entre as leguminosas e as bactérias do gênero *Rhizobium*, pode ocorrer uma simbiose facultativa que tem grande importância devido à ciclagem do nitrogênio que promove, podendo substituir o uso da adubação nitrogenada, o qual é dependente de energia fóssil, e tem um custo elevado, além disso, é potencialmente poluidora pelo nitrato lixiviado (IAPAR, 1989).

Essas bactérias vivem livres no solo, porém em contato com uma leguminosa a bactéria infecta uma célula interna da raiz, dando origem aos nódulos, estrutura hospedeira, no qual pode se reproduzir. No nódulo a bactéria passa a receber todos os açúcares que necessita, conseguindo assim formar colônias muito maiores, do que livre no solo, e em troca fornece para a planta nitrogênio (Gliessman, 2005).

De acordo com Hungria et al. (2001), quando as bactérias penetram nas raízes da planta, provocam o crescimento de células específicas da planta hospedeira, onde ocorre a formação dos nódulos. Por ocasião da plena atividade dos nódulos, esses irão apresentar em sua parte interna, coloração rósea intensa. Isso ocorre devido à presença da leghemoglobina, proteína que tem a função do transporte do oxigênio, essencial às funções vitais desses micro-organismos aeróbicos.

Dentre as simbioses, a rizóbio-leguminosa é o mais importante sistema simbiótico entre microrganismos e plantas graças à eficiência do processo fixação de N_2 , à amplitude e distribuição geográfica dos hospedeiros e ao impacto econômico para a agricultura, uma vez que permite substancial economia de fertilizantes nitrogenados (Novais et al., 2007).

De acordo com Hungria et al. (2007), a maior contribuição do processo de fixação biológica do N_2 ocorre pela associação simbiótica de plantas da família das leguminosas com bactérias do gênero *Rhizobium*.

Segundo Vargas et al. (2002), o processo de FBN consiste na conversão do N_2 atmosférico em NH_3 , sendo essa reação catalisada pela enzima nitrogenase, encontrada nos organismos que fixam N_2 .

O Brasil se desponta nos estudos sobre a FBN, sendo considerado líder em estudos aplicados da tecnologia de fixação biológica de nitrogênio, existe hoje no país uma lista de mais de cem estirpes elite de rizóbio, as quais foram selecionadas em pesquisas brasileiras, sendo recomendadas pelo MAPA para a fabricação de inoculantes comerciais para mais de cem leguminosas (Hungria et al., 2013).

De acordo com Hungria et al. (2000) estudos têm demonstrado que é possível que a cultura do feijoeiro se beneficie, em condições de campo, do processo de fixação biológica de N, podendo alcançar produtividade acima de 2.500 kg ha^{-1} .

Estima-se que o processo biológico contribua com cerca de 65% de todas as entradas de N, sendo o maior provedor desse nutriente para a manutenção de vida na Terra, sendo que quase 50% de toda a entrada de N na Terra são atribuídos à fixação biológica do N_2 que ocorre pela simbiose de rizóbios com leguminosas.(Hungria et al., 2007).

Segundo Hungria et al. (2007), a investigação e a utilização das vantagens do processo de fixação biológica do N_2 também favorece o cenário de uma agricultura moderna, visando à obtenção de tetos máximos de produtividade, levando em consideração a melhor relação custo/benefício e impacto ambiental mínimo.

Segundo Araujo & Hungria (1994), para atingir uma boa produtividade no caso de produção com inoculação são necessárias, como em todos os demais cultivos, as condições ideais de umidade, fertilidade, preparo do solo, temperatura e controle de pragas e doenças.

Para Hungria et al. (2013) é possível afirmar que as estipes comerciais existentes hoje no mercado para produção de inoculante para o feijoeiro-comum (SEMIA

4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088) apresentam alto desempenho em fixação biológica de nitrogênio.

2.4 BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEJOIRO

As bactérias estão presentes em todos os ambientes terrestres. Dentre os grupos de bactérias existem aquelas que são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, essas são consideradas um dos grupos mais importantes na agricultura tropical, essas são consideradas bactérias diazotróficas, pois podem viver livres em diversos ambientes ou também estar associadas às plantas, que são denominadas diazotróficas associativas (Videira et al, 2007).

Esse grupo de bactérias apresenta uma importante contribuição para o fornecimento de nitrogênio às culturas, compreendendo uma diversidade de microrganismos procariotos, como as arqueobacterias, cianobacterias, bactérias gram-positivas e gram-negativas (Moreira & Siqueira, 2006).

Evans & Burris (1992) afirmam que as bactérias fixadoras de nitrogênio podem ser classificadas dentro de três grupos: diazotróficos de vida livre, que fixam N para seu próprio uso; diazotróficos associativos, essas contribuem para o crescimento da planta sem a formação de nódulos e os diazotróficos simbióticos, que estabelecem uma interação muito estreita entre o macro e microsimbionte.

Há relatos na história que o uso de leguminosas existe desde a idade do bronze, que gregos e romanos recomendavam a rotação de culturas com leguminosas. Na Inglaterra, estudos realizados por Jean-Baptiste Boussingault no ano de 1837 com trevo e ervilha e com aveia e trigo, mostraram que as leguminosas conseguiam obter o N necessário para seu metabolismo. Woronin descobriu que os nódulos das leguminosas continham bactérias, já os alemães Hellriegel e Wilfarth descobriram que a FBN dependia de “fermentos no solo” responsáveis pela formação dos nódulos. (Wilson, 1940; Burris, 1974; Evans & Burris, 1992 citados por Araújo & Hungria 1994).

Já Beijerinck observou a formação de nódulos nas raízes de plantas de ervilhas, e conseguiu, pela primeira vez, isolar em meio de cultura artificial as bactérias existentes nos nódulos. Foi o início dos estudos sobre FBN, sendo que nessa época essas bactérias receberam o nome de *Bacillus radicola*, anos depois agrupou-se no gênero *Rhizobium*, (Carvalho, 1946).

De acordo com Hungria et al. (2007), inicialmente o agrupamento dos rizóbios foi baseado nas características fenotípicas, principalmente na capacidade de nodular algumas leguminosas, dando-se origem ao conceito de “grupos de inoculação cruzada”. Aos poucos a taxonomia dos rizóbios que era baseada na especificidade hospedeira foi sendo substituída pela taxonomia numérica, tendo como base as características bioquímicas, moleculares, fisiológicas e sorológicas.

Conhecidos como bactérias simbióticas, chamadas coletivamente de rizóbios, pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium*, essas bactérias se destacam por sua capacidade de fixar N₂ somente na presença de plantas leguminosas e algumas não leguminosas, formando estruturas conhecidas como nódulos. Na maioria das simbioses estudadas os nódulos são formados nas raízes, com bactérias já presentes no solo ou introduzidas por meio de inoculante, essas são conhecidas como bactérias de vida livre (Vargas & Hungria, 1997).

Essas bactérias que pertencem ao gênero *Rhizobium*, são aeróbicas, gram-negativas, usualmente produzem poli-β-hidroxibutirato, são móveis, temperatura ótima de crescimento entre 25-30°C e pH 6-7. São quimiorganotróficas, utilizando uma série de carboidratos e sais de ácidos orgânicos como fontes de carbono, sem a formação de gás. Celulose e amido não são utilizados. Produzem uma reação ácida em meio contendo sais minerais e manitol ou outros carboidratos e reação alcalina oriunda de uma reação proteolítica. Sais de amônio, nitrato, nitrito e muitos aminoácidos podem servir como fontes de nitrogênio (Marin et al., 1999).

2.5 ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEIJOEIRO

De acordo com Ferreira (2008), a seleção de novas estirpes eficientes na FBN, quando associadas ao feijoeiro, vem ganhando força nos últimos períodos, sendo realizadas pelos diversos órgãos de pesquisas, com o intuito de produzir inoculantes comerciais capazes de melhorar os níveis de produtividade.

Segundo Reis Junior et al. (2011), nos solos brasileiro existem a presença de estirpes nativas nodulantes de feijoeiro, esse é um dos motivos que podem prejudicar o sucesso da inoculação. Observa-se então a importância de selecionar estirpes que, além de alta eficiência fixadora, possuam maior capacidade competitiva e de estabelecimento nos solos cultivados.

O isolamento de rizóbio faz parte de uma etapa importante nos estudos da simbiose rizóbio leguminosa e o sucesso de se beneficiar do processo de FBN, através de plantas leguminosas depende do isolamento de estirpes de rizóbio adaptadas a cada região, para que se possa dar mais eficiência a esse processo (Leite et al., 2013).

De acordo com Stocco et al. (2008), os solos brasileiros apresentam uma vasta população de rizóbios capazes de nodular e fixar N_2 em simbiose com o feijoeiro-comum, contudo, essas diversidades de bactérias ainda são pouco conhecidas.

Para fazer o processo de isolamento deve-se empregar o meio de cultura mais adequado para o desenvolvimento de tal microrganismo, no caso dos rizóbio utiliza-se o meio YMA. Deve-se proporcionar para o isolamento de bactérias, condições balanceadas de nutrientes como fonte de carbono, condições ótimas de temperatura, pH, pressão de oxigênio e umidade (Ogunseitan, 2005).

A técnica de semeadura por estrias é utilizada para o isolamento de rizóbios. Utilizando uma alça de platina, coleta-se uma pequena parcela do meio de inoculo e o espalha sobre uma placa de Petri com Agar fazendo movimentos em zigue-zague, formando um caminho na forma de estrias (Droval et al., 2001).

É importante a realização de levantamento contínuo de grupo de bactérias em diferentes plantas hospedeiras, visando a seleção de associações mais eficientes e adaptáveis as diversos ambientes, ampliando a contribuição da FBN (Bratti et al., 2005).

2.6 CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N EM FEIJOEIRO

Na intenção de aprimorar os estudos sobre as bactérias que fixam N, várias pesquisas veem sendo desenvolvidas. Nos últimos anos, a diversidade microbiana vem sendo determinada principalmente pelo uso de técnicas moleculares, levando em consideração que a avaliação das características culturais é o primeiro passo na identificação de novos grupos taxonômicos de microrganismos. Busca-se uma taxonomia polifásica e as características culturais estão presentes nos caracteres utilizados para essa classificação, sendo que essas características podem indicar diferenças morfológicas e fisiológicas importantes dos microrganismos (Chagas Junior et al., 2010).

O processo de caracterização de uma bactéria está ligada a diversas propriedades como a morfologia, cultivo, nutrição, bioquímica, metabolismo, ácidos nucleicos, patogenicidade e ecologia (Kampfer et al., 1995).

Nogueira (2005) ressalta que a seleção de estirpes eficientes que possa aperfeiçoar a FBN na cultura do feijão deve se atentar a alguns fatores como a eficiência da estirpe, as características como a habilidade de competir com estirpes nativas, habilidade de sobreviver e se multiplicar no solo, formação de nódulos sob larga faixa de temperatura e umidade nas raízes. A caracterização de uma bactéria envolve a descrição qualitativa das muitas propriedades relativas à morfologia, cultivo, nutrição, bioquímica, metabolismo, ácidos nucleicos, patogenicidade e ecologia, os quais são pré-requisitos para a identificação e base da sistemática desse grupo de organismos.

De acordo com Leite (2011), a caracterização fenotípica está ligada aos resultados de testes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, permitindo uma descrição inicial dos microrganismos em estudo possibilitando agrupar os isolados por semelhança entre seus fenótipos.

A caracterização das estirpes de rizóbio é realizada utilizando o meio Yeast Mannitol Agar (YMA) com azul de bromotimol, com pH ideal entre 6,8 a 7,0, os isolados podem ser cultivados também em meio YMA vermelho congo. As colônias de estirpes de rizóbio são diferenciadas com base no tempo de crescimento: rápidas (crescimento em até três dias), intermediárias (entre quatro a cinco dias) e lentas (tem pouco crescimento em seis dias e crescimento moderado em nove dias) e muito lentas (crescem a partir de dez dias) (Martins et al., 1997).

Em relação à caracterização utilizando técnicas moleculares, os maiores avanços estão sendo obtidos pela comparação das sequências de nucleotídeos do DNA, em especial a região que codifica o 16S rRNA, sendo que esse processo é de suma importância pois isso permite a caracterização dos rizóbios, uma vez que o 16S rRNA é um gene altamente conservado entre as bactérias e tem sido utilizado como ferramenta de rotina em laboratório (Mosqueira et al., 2013)

2.7 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE FIXADORAS DE N EM FEIJOEIRO

Um passo importante para o estudo sobre FBN é a avaliação da eficiência dessas bactérias em condições de campo, testadas em diferentes ambientes. Para que a FBN possa suprir todas as necessidades das plantas, precisa que esse processo seja eficiente, buscando as condições ideais para que aconteçam, estirpes de bactérias mais

eficientes e competitivas e genótipos de plantas que respondam ao microssimbionte é que definido como a escolha adequada dos parceiros simbióticos (Araújo & Hungria, 1994).

A seleção de estirpes mais eficientes para maximizar a FBN tem sido alvo de várias pesquisas, é preciso buscar no processo de seleção estirpes eficientes que possa otimizar o potencial da FBN, é preciso levar em conta além da eficiência da estirpe, características como habilidade de competir com estirpes nativas, habilidade de sobreviver e se multiplicar no solo mesmo na ausência do hospedeiro, formação de nódulos sob larga faixa de temperatura e umidade nas raízes (Hungria et al., 1997).

Esse processo de seleção de estirpes envolve alguns estágios, no primeiro momento são verificadas as condições ótimas e controladas de temperatura, umidade, luminosidade e nutrientes, a capacidade de nodular e fixar N. Outro passo é o ensaio em casa de vegetação, com vasos de Leonard esterilizado com areia e vermiculita. Após o ensaio em casa de vegetação, as estirpes selecionadas serão testadas em vasos contendo solo e só depois deverão ser levadas a campo. É necessário ao longo dos ensaios irem selecionando as estirpes mais eficientes para leva-las a campo (Moreira & Siqueira, 2006).

Testando a eficiência de novos isolados em condições contraladas, Cardoso (2014), verificou que oito isolados de rizóbio apresentaram alta eficiência simbiótica, produzindo grande área foliar e massa seca da parte aérea, apresentando desempenho semelhante aos da estirpe padrão SEMIA 4077.

Várias pesquisas veem sendo desenvolvidas com a finalidade de avaliar essa eficiência em condições de campo e assim potencializar esse processo. Em pesquisa de campo realizada por Pereira et al. (2008), com o objetivo de avaliar a eficiência agrônômica de novos isolados de rizóbio em simbiose com o feijoeiro, quando comparado à estirpe recomendada para a produção de inoculante comercial, verificaram que os novos isolados proporcionaram produção semelhante à testemunha com N e a inoculação com a estirpe referência a SEMIA 4077.

Os mesmos autores destacam a importância de investir em pesquisas para selecionar novas estirpes, que sejam capazes de fixar quantidades elevadas de N, quando em simbiose com feijoeiro, ressaltam ainda que estirpes selecionadas em laboratório e casa de vegetação às vezes não alcançam o máximo potencial de fixação no campo, isso pode ocorrer devido vários fatores como a competição com a população nativa e estabelecida e das condições dos ambientes locais.

Existe uma significativa evolução no que diz respeito aos estudos sobre a simbiose do feijoeiro, porém é necessário continuar investigando mais sobre os diversos aspectos da simbiose de feijoeiro com o *Rhizobium tropici*. É necessária também a identificação de novas estirpes mais eficientes e competitivas que possam ser empregadas na produção de inoculantes (Araujo & Hungria, 1994).

Hungria et al. (2013) afirmam que a resposta do feijoeiro em condições de campo está intimamente ligada as condições do solo, do histórico de cultivo da área e de fatores bióticos e abióticos. Resalta ainda que os fatores mais limitantes ao sucesso da inoculação a campo estão a presença de estirpes nativas em solos brasileiros, a susceptibilidade do feijoeiro ao estresse hídrico e a variabilidade de resposta das diferentes cultivares à inoculação.

2.8 PRODUÇÃO DE FEIJOEIRO-COMUM EM PEQUENAS PROPRIEDADES

O conceito de agricultura familiar é estabelecido pela Lei nº 11.326 de 24 de julho de 2006, de acordo com a classificação, pode ser definido como: “agricultores familiares são aqueles praticam atividades no meio rural, que não detenha área maior do que 4 módulos fiscais, tenha o trabalho como base da exploração da unidade produtiva, tenha renda familiar predominantemente originadas das atividades econômicas vinculadas a sua propriedade.

A agricultura familiar é responsável por gerar mais de 80% da ocupação no setor rural e responde no Brasil por sete de cada dez empregos no campo e por cerca de 40% da produção agrícola, sendo que a maior parte dos alimentos que abastecem a mesa dos brasileiros vem das pequenas propriedades. No ano de 2009, aproximadamente 60% dos alimentos que compuseram a cesta alimentar distribuída pela Conab vinha da agricultura familiar (Conab, 2014).

Segundo o censo agropecuário da agricultura familiar (IBGE, 2006), cerca de 70% da produção de feijão no Brasil é proveniente da agricultura familiar, sendo uma produção considerada baixa, sendo que para Grisa (2007) as causas para essa baixa produtividade podem ser várias, como o alto custo de insumos, falta de controle de pragas e doenças, perda da biodiversidade, sistemas de produção inadequados e insustentáveis e o abandono de práticas de cultivo tradicionais associadas à produção da cultura.

Parte dessa produção de feijão fica para a subsistência das famílias agricultoras, e o excedente é comercializado para obtenção de renda. De acordo com Didonet et al. (2009), existe nesse processo uma importância do ponto de vista social, pois a produção de feijão para o autoconsumo representa a segurança alimentar da população brasileira, daí a importância de buscar o aprimoramento de sistemas de produção que sejam cada vez menos dependentes de insumos externos.

A busca pela inserção do produtor familiar de feijão no mercado levou o agricultor a aumentar cada vez mais sua produção para garantir lucro e assim conseguir adquirir insumos para a produção da cultura. Os autores chamam atenção para a necessidade do aprimoramento dos sistemas de produção, para que sejam capazes de serem cada vez mais independentes de insumos externo para a produção (Didonet et al., 2009).

De acordo com Hungria et al. (2013), esse cenário apresentado para a cultura do feijoeiro com baixos rendimentos pode ser alterado com sucesso pelo suprimento adequado de nitrogênio, podendo ser fornecido praticamente através de duas fontes, fertilizantes ou pela FBN.

Ainda para os autores a FBN tem apresentados rendimentos elevados e consistentes em relação aos ganhos de produção para a cultura do feijoeiro-comum, além das vantagens econômicas e ambientais da fixação biológica de N frente ao uso de fertilizantes nitrogenados. Faz-se necessário uma maior divulgação, para os agricultores dos benefícios que podem ser obtidos através da inoculação do feijoeiro.

A adoção da inoculação de feijoeiro em larga escala, pode trazer mudanças significativas para o cenário nacional, com incrementos expressivos nos rendimentos da cultura, assim como a redução dos custos de produção, com isso aumentando a margem de lucro dos produtores (Hungria et al., 2013).

Para Reis Junior et al. (2011), várias pesquisas que veem sendo realizadas no Brasil têm mostrado respostas significativas à inoculação do feijoeiro em condições de campo, porém o nível de adoção dessa tecnologia, especialmente entre os agricultores familiares, ainda é muito baixo.

É possível encontrar na literatura ensaios em condições de campo realizados em áreas de pequenos agricultores, como foi o caso do trabalho realizado por Mendes et al. (2007) em assentamento de reforma agrária no município de Unaí, MG, na safra de 2006/2007, foram testados a inoculação do feijoeiro em 12 lotes dos produtores, foi possível observar que na média, em relação ao controle não inoculado, houve aumentos de

209 kg/ha⁻¹ para a cultivar Requite, do grupo de feijão carioca. O custo do adubo nitrogenado na safra de 2006/2007 foi de R\$90,00, enquanto o custo do inoculante foi de R\$6,00.

De acordo com Reis Junior et al. (2011), essa diferença de preços é muito significativa para os pequenos agricultores, pois em alguns casos o ganho com a inoculação pode até ser menor que o ganho obtido com o adubo nitrogenado, porém como o inoculante custa menos, o risco associado a seu uso também é menor, levando em consideração que podem ocorrer quebras de produção por fatores adversos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1- ISOLADOS AVALIADOS E BACTÉRIAS UTILIZADAS

Os 17 isolados avaliados em ensaios de campo neste trabalho foram obtidos a partir do cultivo de 11 diferentes genótipos silvestres de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), utilizados como plantas-isca e cultivados em amostras de solo oriundas dos estados de GO, MG e PR. Os nódulos foram coletados e isolados em placas de Petri contendo meio Yeast Mannitol Agar (YMA) (Sampaio, 2013). Mais detalhes sobre a origem dos isolados avaliados nesse trabalho são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação e dados de origem dos isolados bacterianos obtidos de nódulos de feijoeiro-comum utilizados nos estudos de avaliação agrônômica em condições de campo.

Isolado	Genótipo do Feijão	Estado	Cidade	Fazenda de Coleta
PCG4A2	G12912	PR	Prudentópolis	Campi
PCG2A5	G23490	PR	Prudentópolis	Campi
ALSG5A4	G23475	PR	Araucária	Lagoa Suja
JPrG8A3	G12904	GO	Jussara	Primavera
UnPaG8A1	G12904	MG	Unaí	Paris
UbALG7A7	G23460	MG	Uberlândia	Água Limpa
NVSG7A7	G23460	GO	Nova Veneza	Souza
JPrG8A7	G12904	GO	Jussara	Primavera
JPrG10A6	PHA VUL 8141	GO	Jussara	Primavera
UnPaG6A8	G12858	MG	Unai	Paris
NVSG2A2	G23490	GO	Nova Veneza	Souza
JPrG1A1	G23499A	GO	Jussara	Primavera
UnPaG8A12	G12904	MG	Unaí	Paris
UbALG3A5	G23500A	MG	Uberlândia	Água Limpa
JPrG6A8	G12858	GO	Jussara	Primavera
JPrG11A7	PHA VUL 8122	PR	Araucária	Lagoa Suja
JPrG10A1	PHA VUL 8141	GO	Jussara	Primavera

Fonte: Sampaio (2013).

Juntamente com os isolados foram utilizadas como referência nos ensaios de campo as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088, registradas no Ministério da Agricultura para serem utilizadas como inoculante comercial da cultura do feijoeiro-comum (Tabela 2).

Tabela 2. Estirpes padrão utilizadas como referência nos ensaios de avaliação agronômica de novos isolados de rizóbio em condições de campo.

Espécie	Estirpe	Sinonímia	Origem	Referência
<i>R. tropici</i>	CIAT 899	SEMIA 4077	Colômbia	Martínez-Romero et al., 1991
<i>R. tropici</i>	PRF 81	SEMIA 4080	Paraná, Brasil	Hungria et al., 2000
<i>R. tropici</i>	H12	SEMIA 4088	Distrito Federal, Brasil	Mostasso et al., 2002

Os isolados foram obtidos e caracterizados morfológicamente quanto ao uso de diferentes fontes de carbono (Sampaio, 2013), além da caracterização quanto à tolerância a diferentes níveis de salinidades e temperaturas (Cardoso, 2014).

A caracterização morfológica dos isolados e das estirpes-padrão foi realizada com base nas características da colônia: velocidade de crescimento (rápido- um dia, normal- dois dias ou lento- três dias), pH (ácido, alcalino ou neutro), tamanho (1-2 ou >2 mm), aparência (heterogêneo ou homogêneo), borda (inteira ou irregular), forma (circular ou irregular), elevação (elevado ou plano), cor (abóbora, amarela, branca ou creme); e da massa celular: transparência (opaco ou translúcido), quantidade (muito pouco, pouco, médio, muito ou muitíssimo), elasticidade (pouca, média ou muita), consistência do muco (aquoso, butírico, floculoso, leitoso ou seco) (Anexo A).

Para a caracterização quanto ao uso de fontes de carbono foram utilizadas sacarose, glicose, ácido málico, ácido maléico, ácido nicotínico, inositol, sorbitol, arabinose, frutose e glicerol (Anexo B).

Já para a caracterização quanto à tolerância a diferentes níveis de salinidades e diferentes temperaturas os isolados e as estirpes-padrão foram repicados em placas de Petri contendo meio YMA acrescido de 0%, 1%, 2%, 4% e 6% de NaCl e colocados para crescer em BOD nas temperaturas de 28°C, 33°C, 38°C, 43°C e 48°C (Anexo C).

3.2 PREPARO DO INOCULANTE

Os inoculantes foram preparados para cada um dos 17 isolados e para as três estirpes-padrão, sendo preparados no Laboratório de Microbiologia do solo da Embrapa Arroz e Feijão. As bactérias foram manuseadas em câmara de fluxo laminar limpa com álcool 70%, sendo repicadas em placas de Petri contendo meio de cultura YMA sólido (Figura 1). A descrição do preparo do meio de cultura segundo Döbereiner et al. (1999) encontra-se no Anexo D.



Figura 1. Preparo do Meio YMA sólido e das placas de Petri.

As placas foram devidamente identificadas com seus respectivos isolados e incubadas em estufa BOD (28°C; 5 dias). Após o crescimento e certificação da pureza, as estirpes padrão e isolados foram repicados para frascos erlenmeyer contendo 150 mL de meio de cultura YMA líquido e colocados para incubar sob agitação (28°C; 3 d; 150 RPM).

Após esse período a suspensão de células foi transferida para tubos de centrífuga estéreis e centrifugados (13.000 g; 10 min, 4°C). Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensionado em 50 mL de água destilada autoclavada para lavagem, sendo passado por mais um ciclo de centrifugação (13.000 g; 10 min, 4°C). O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensionado em 50 mL de água destilada autoclavada (Figura 2).



Figura 2. Tubos de centrifuga estéreis e centrifuga.

Dessa suspensão de células foi retirada uma alíquota de 100 μL e colocada em tudo eppendorf de 1,5 mL contendo 900 μL de água para a determinação da densidade ótica em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 545 nm.

O cálculo da concentração de células na suspensão foi realizado utilizando a seguinte fórmula:

$$Ci = \left(\frac{\text{Valor da D.O}}{\text{Diluição}} \right) 1 \times 10^8$$

Em que:

Ci = concentração inicial de células na suspensão, expressa em células mL^{-1} ;

Valor da D.O = valor da leitura realizada em 545 nm;

Diluição = diluição da suspensão de células efetuada para determinação da D. O;

1×10^8 = número de células por mL em uma D.O de 1.

A concentração final (Cf) de células no inoculante foi ajustada para $3,4 \times 10^9$ células mL^{-1} , pelo uso da seguinte fórmula:

$$Vi = \left(\frac{Cf \times Vf}{Ci} \right)$$

Onde:

Vi = volume da suspensão de células a ser utilizado, em mL;

Cf = concentração final de células desejada no inoculante;

Vf = volume final de inoculante, em mL;

Ci = concentração inicial de células na suspensão, expressa em células mL⁻¹.

A partir da suspensão de células ajustada para $3,4 \times 10^9$ células mL⁻¹, foi preparado o inoculante turfoso usando turfa esterilizada em autoclave. Em saco plástico contendo 175 g de turfa foram injetados 75 mL da suspensão de células (Figura 3) de forma que a concentração fosse de 1×10^9 células g⁻¹ de inoculante.



Figura 3. Preparo do inoculante.

3.3 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA SOB CONDIÇÕES DE CAMPO

Foram realizados dois experimentos de campo, o primeiro na fazenda Palmeiras, Assentamento Canudos localizado no município de Guapó-GO e o segundo foi instalado na área experimental da Embrapa Arroz e Feijão, localizada no município de Santo Antônio de Goiás-GO, no período de maio a agosto de 2014.

O ensaio de campo realizado em Guapó foi conduzido na propriedade do Sr. Gilmar Rodrigues Moreira, localizado no P.A Canudos, a aproximadamente 20 km da cidade de Guapó e 60 km da capital do Estado, Goiânia, tendo como coordenadas geográficas: 16° 52' 52,69"S e 49° 42' 12,56"W e altitude de 573 m (Figura 4).

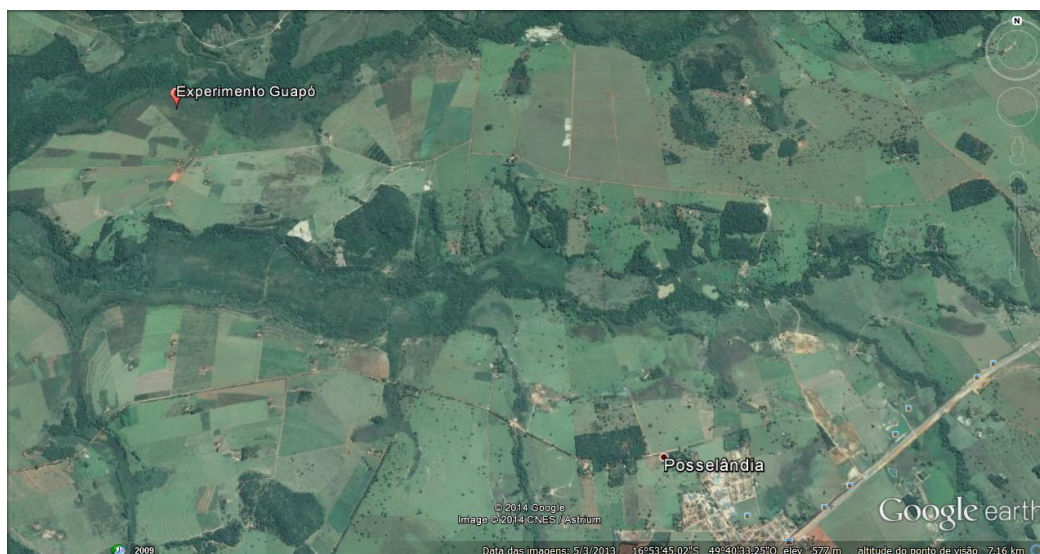


Figura 4. Localização da área onde foi instalado o experimento no município de Guapó GO.

A área onde foi instalado o experimento teve como safra anterior a cultura do milho e anterior ao milho era destinada a pastagem. O clima da região conforme classificação de Köppen, é Aw, tropical, semi-úmido, com média em torno de 24°C, e o relevo é suavemente ondulado. O regime pluvial é bem definido, com período chuvoso de outubro a março. O solo é classificado como Latossolo Vermelho, apresentando argila = 267 g kg⁻¹; areia = 487 g kg⁻¹ e silte = 246 g kg⁻¹. As características químicas do solo antes da instalação do experimento estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados das análises dos atributos químicos do solo de 0-20 cm, das áreas dos dois experimentos antes da instalação do experimento.

Local	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	P	K	Cu	Zn	Fe	Mn	M.O
	H ₂ O	mmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³						g kg ⁻¹
Guapó	5,6	18	11	1	18	3,2	81	1,7	2,1	33,15	48,1	30,69
Embrapa	6,1	18	14	0	9	12,1	109	1	2,6	20,55	9,2	38,30

O segundo ensaio foi conduzido na área experimental da Embrapa arroz e feijão, fazenda Capivara, na área do pivô II, localizado no município de Santo Antônio de Goiás, com a latitude de 16° 28' 00" S, longitude de 49° 17' 00" W e altitude de 823 m (Figura 5).



Figura 5. Localização da área onde foi instalado o experimento na Embrapa Arroz e Feijão, no município de Santo Antônio de Goiás-GO.

O clima da região conforme a classificação de Köppen é Aw, tropical de savana, megatérmico, o regime pluvial é bem definido, com período chuvoso de outubro a abril e seco de maio a setembro. O solo predominante é o Latossolo Vermelho-Escuro, apresentando argila = 349 g kg^{-1} ; areia = 440 g kg^{-1} e silte = 211 g kg^{-1} . As características químicas do solo antes da instalação do experimento estão apresentadas na Tabela 3.

3.4 TRATAMENTOS E IMPLANTAÇÃO DOS ENSAIOS

Em cada local foram avaliados um total de 22 tratamentos, sendo estes constituídos de: 17 isolados de rizóbio (Tabela 1), três estirpes-padrão (Tabela 2), uma testemunha absoluta (sem adubação e sem inoculação) e um tratamento nitrogenado (80 kg ha^{-1} de N). O solo do experimento de Guapó foi preparado com uma aração e duas gradagens leves, já em Santo Antônio de Goiás o ensaio foi implantado em sistema de semeadura direta. Em ambos os locais foi usada a cultivar Pérola de feijoeiro-comum em uma densidade de 15 sementes por metro, após a inoculação das sementes com seus respectivos tratamentos.

As sementes foram selecionadas e desinfestadas superficialmente utilizando álcool 70% de modo que todas as sementes ficassem imersas. As sementes foram agitadas suavemente por 30 segundos e em seguida o álcool foi descartado e acrescentou-se hipoclorito de sódio (2%), seguida de agitação por 3 minutos e descarte do hipoclorito de

sódio. Em seguida as sementes foram lavadas sucessivamente por dez vezes utilizando-se água destilada autoclavada.

Antes do plantio foi realizada a inoculação das sementes, utilizando o inoculante turfoso. A dosagem utilizada foi na proporção de 500 g de inoculante para 50 kg de sementes. Foi preparada uma solução açucarada com sete colheres de açúcar cristal em 1l de água, a solução é utilizada com o objetivo de aumentar a aderência do inoculante às sementes, na proporção de 300ml para 50kg de sementes. Utilizando um saco plástico para fazer a inoculação, as sementes foram colocadas neste e depois misturou-se aos poucos essa solução nas sementes e após adicionou o inoculante, misturando bem até todas as sementes ficarem cobertas (Figura 6).



Figura 6. Momento da inoculação das sementes, com seus respectivos tratamentos.

As parcelas foram constituídas por oito linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas em 0,45 m, totalizando uma área de 12,6 m². O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições (Figuras 7 e 8).

Todos os tratamentos, incluindo as testemunhas, nos dois locais avaliados, receberam adubação fosfatada e potássica, usando 400 kg ha⁻¹ da formulação 0-20-20. Além desta adubação, a testemunha nitrogenada recebeu 80 kg ha⁻¹ de N, fonte uréia, parcelados em duas vezes: 20 kg ha⁻¹ de N aplicados na semeadura e 60 kg ha⁻¹ 32 dias após a emergência.



Figura 7. Visão geral da área onde foi instalado no experimento para avaliação agronômica da eficiência simbiótica dos novos isolados de rizóbio no município de Guapó-GO.



Figura 8. Visão geral da área onde foi instalado no experimento para avaliação agronômica da eficiência simbiótica dos novos isolados de rizóbio no município de Santo Antônio de Goiás-GO.

3.5 COLETAS DAS PLANTAS

A avaliação de crescimento da cultura e de nodulação foi realizada na época do florescimento, fase R6. Foram coletadas três plantas de cada parcela para avaliação da nodulação (número e massa seca de nódulos), do crescimento (massa seca de raiz, massa

seca da parte aérea e área foliar) e do teor de nutrientes na parte aérea (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn).

Para a determinação da nodulação as raízes foram lavadas em água corrente, secas em papel toalha, os nódulos foram destacados para realizar a contagem e avaliação do número de nódulos (NN) (Figura 9).



Figura 9. Visão geral do momento da lavagem das raízes para avaliação do NN.

Após contados, os nódulos foram colocados para secar em estufa (65°C; 72 h) e pesados para determinação da massa seca de nódulos (MSN).

A parte aérea foi separada em sacos de papel e identificados (Figura 10), as folhas levadas para determinação da área foliar (AF) em medidor de área foliar LI-COR modelo 3100 (LI-COR, 1996). Em seguida a parte aérea e raiz foram colocadas para secar em estufa (65°C; 72 h) e pesados para determinar a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR).

Após pesagem da parte aérea esse material foi moído em moinho tipo Willey para a análise de Nitrogênio total (N-Total) da parte aérea pelo método de Kjeldahl. A análise foi realizada a partir do extrato obtido de 100 mg de massa seca com solução digestora de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e posterior destilação com hidróxido de sódio (NaOH), titulando com H_2SO_4 . A partir desse material também foram determinados os teores de macro e micronutrientes da parte aérea, de acordo com Embrapa (2009).



Figura 10. Coleta em campo da área foliar e raízes.

Por ocasião da maturação fisiológica foram coletadas dez plantas de cada parcela para determinação dos componentes de rendimentos, sendo eles: número de vagens (NV- $\text{n}^\circ \text{ planta}^{-1}$), número de grãos (NG- $\text{n}^\circ \text{ vagem}^{-1}$) e massa de 100 grãos (M100G) e determinação da produção de grãos (PG), sendo coletada uma área útil de $10,6 \text{ m}^2$ de cada parcela e expressa em kg ha^{-1} . As plantas foram cortadas e deixadas para secar em pleno sol. Após secar as mesmas foram submetidas à trilha mecânica (Figura 11), os grãos foram pesados e a umidade corrigida a 13%.



Figura 11. Momento do corte das plantas de feijoeiro e trilha mecânica.

A partir dos dados de PG foi calculada a eficiência relativa de produção de grãos (ERPG) do feijoeiro-comum inoculado com diferentes isolados de rizóbio, em

relação a cada um dos tratamentos diferentes daqueles usados como controle. A ERPG foi calculada segundo a equação:

$$ERPG = \left[\left(\frac{PGI}{PGTC} \right) * 100 \right] - 100$$

Em que: PGI= produção de grãos de cada isolado e PGTC= produção de grãos nos tratamentos a serem comparados (T0, TN, SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088).

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando observada significância do “F”, as médias foram comparadas pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade usando o software SISVAR (Ferreira, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Avaliação da eficiência agronômica de isolados de rizóbio em condições de campo

A análise de variância revelou efeito significativo ($p < 0,05$) do local (L) sobre 89% das variáveis avaliadas, não sendo observado efeito significativo apenas sobre a massa de 100 grãos (M100G) e sobre o teor de cobre (Cu) nos tecidos das plantas, indicando um forte efeito do local de condução dos ensaios sobre a eficiência agronômica dos isolados avaliados (Tabela 4).

Também foi observado um forte efeito dos isolados avaliados sobre 79% dos parâmetros avaliados, não sendo observado efeito significativo somente sobre a massa seca de nódulos (MSN), estande (E), M100G e teor de ferro (Fe) nos tecidos das plantas (Tabela 4).

Já a interação local e fonte de N (LxN) apresentou efeito significativo em 53% dos parâmetros avaliados, sendo estes: número de nódulos (NN), MSN, massa seca de raiz (MSR), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), número de vagens (NV), número de grãos (NG), produção de grãos (PG), teor de N (N-Total) e teor de potássio (K) nos tecidos das plantas (Tabela 4).

Tabela 4. Valores e significância do teste *F* para os efeitos de Local (L), Fonte de N (N) e suas interações (L x N) sobre o número de nódulos (NN- n° planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN- mg planta⁻¹), massa seca da raiz (MSR- g planta⁻¹), estande (E- plantas m⁻¹), área foliar (AF- cm² planta⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA- g planta⁻¹), número de vagem (NV- n° planta⁻¹), número de grãos (NG- n° planta⁻¹), massa seca de 100 grãos (MS100G- g), produção de grãos (PG- kg ha⁻¹), nitrogênio da parte aérea (N-Total- g planta⁻¹), fósforo (P- g planta⁻¹), potássio (K- g planta⁻¹), cálcio (Ca- g planta⁻¹), magnésio (Mg- g planta⁻¹), cobre (Cu- mg planta⁻¹), ferro (Fe- mg planta⁻¹), manganês (Mn- mg planta⁻¹) e zinco (Zn- mg planta⁻¹) de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados de rizóbio.

Fonte de Variação	GL	NN	MSN	MSR	E	AF	MSPA	NV	NG	MS100G	PG
Local (L)	1	8,36**	12,27**	4 6,26 **	80,90**	87,41**	68,49 **	79,11**	109,93**	0,82 ^{ns}	1501,35**
Fonte de N (N)	21	1,64*	1,09 ^{ns}	3,00 **	1,00 ^{ns}	2,64 **	5,92**	3,59**	2,78**	1,30 ^{ns}	3,35**
L X N	21	2,2 **	1,96*	2,16 **	1,28 ^{ns}	1,876*	2,27**	3,02**	2,76**	0,92 ^{ns}	1,98*
CV%		46,51	82,84	28,26	8,97	26,63	24,72	20,28	22,90	8,41	17,00
Fonte de Variação	GL	N-Total	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn	
Local (L)	1	54,51**	94,57**	235,70 **	21,76**	28,40**	2,22 ^{ns}	15,14**	227,19**	46,16**	
Fonte de N (N)	21	6,79**	7,91**	6,85 **	6,04**	6,51 **	5,21**	1,20 ^{ns}	3,91**	8,05**	
L X N	21	1,87 *	1,58 ^{ns}	2,66**	0,97 ^{ns}	1,13 ^{ns}	1,12 ^{ns}	0,97 ^{ns}	1,51 ^{ns}	1,60 ^{ns}	
CV%		26,75	26,83	28,87	29,22	27,14	32,80	85,47	38,57	26,06	

* Significativo (p < 0.05). ** Significativo (p < 0.01). ^{ns} Não Significativo

Na Tabela 5 são apresentados os dados comparativos dos locais para os parâmetros de nodulação, crescimento de plantas, componentes de rendimento e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados de rizóbio. Verificou-se na comparação entre locais que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para todos os parâmetros avaliados, exceto para a MS100G, sendo que os maiores valores dos parâmetros foram observados no experimento conduzido em Santo Antônio de Goiás (Tabela 5).

Essas diferenças podem estar ligadas à forma distinta de manejo adotada nos dois locais, sendo que o ensaio de Santo Antônio de Goiás foi realizado sob sistema de semeadura direta e no experimento de Guapó foi utilizado o preparo convencional do solo. Esses resultados corroboram com os de Rebeschini 2012, onde foram observados rendimentos superiores em sistemas de plantio direto. Romanini Junior et al. (2007) observaram, em experimentos de campo em sistema de plantio direto, que os tratamentos com inoculação apresentaram produtividades de 20,15% e 13,85% superior ao tratamento com ausência de inoculação.

Adiciona-se a isso a disponibilidade de infraestrutura especializada no cultivo do feijoeiro-comum e às melhores condições do solo em Santo Antônio de Goiás, conforme observa-se na Tabela 3. A soma desses fatores resultou em valor de PG de $3.034,76 \text{ kg ha}^{-1}$, aproximadamente três vezes superior àquela observada em Guapó, cuja principal característica é uma propriedade familiar sem especialização na cultura.

Hungria et al. (2013), consideram que a baixa disponibilidade de tecnologias pelo agricultor e o cultivo da cultura do feijoeiro em áreas marginais estejam entre os principais fatores para que a média de produção nacional da cultura seja tão baixa.

Tabela 5. Comparação entre locais para atributos da nodulação: número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN); desenvolvimento de plantas: massa seca da raiz (MSR), estande (E), área foliar (AF) e massa seca da parte aérea (MSPA) e componentes de rendimento: número de vagens (NV), número de Grãos (NG), massa seca de 100 grãos (MS100G) e produção de grãos (PG) de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados.

Local	NN	MSN	MSR	E	AF	MSPA	NV	NG	MS100G	PG
	nº planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	plantas m ⁻¹	cm ² planta ⁻¹	g planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
Guapó	227,42 b	0,34 b	2,77 b	10,88 b	30,60 b	31,57 b	13,88 b	63,69 b	23,97 a	1020,68 b
Embrapa	278,73 a	0,53 a	3,71 a	12,28 a	44,73 a	43,06 a	18,24 a	91,84 a	24,25 a	3034,76 a

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott (p<0,05)

Na Tabela 6 são apresentados os valores médios verificados no ensaio de Guapó para os parâmetros de nodulação, crescimento de plantas, componentes de rendimento e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados. Verificou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para NN MSPA, NV, NG e PG (Tabela 6).

Para NN observou-se que cerca de 65% dos isolados (NVSG2A2, UnPaG8A12, JPrG10A1, JPrG8A7, UnPaG6A8, UbALG3A5, NVSG7A7, JPrG8A3, JPrG6A8, ALSG5A4, PCG4A2) apresentaram desempenho iguais aos verificados para estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e superiores ao TN. Os demais isolados apresentaram valores iguais ao tratamento nitrogenado e à estirpe SEMIA 4080 (Tabela 6).

Os valores de NN verificados no tratamento T0 indicam a existência de elevado número de estirpes nativas de rizóbio capazes de estabelecer associação simbiótica com o feijoeiro-comum.

Observou-se que o TN apresentou tendência de redução do número de nódulos em relação aos demais tratamentos. Isso possivelmente está relacionado ao fato de que o uso de N-mineral provoca redução da nodulação das plantas, uma vez que na presença desse nutriente a planta inibe a nodulação. Pelegrin et al. (2009), constataram que os tratamentos que receberam doses de N apresentaram uma tendência de diminuição da nodulação, avaliada em função do número e matéria seca de nódulos. Resultados similares foram encontrados por Peres et al. (1994), quando observaram em experimentos de campo, em solos do Cerrado, a redução da nodulação em função da aplicação de N-mineral (Tabela 6).

Também foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre a MSPA. Os isolados JPrG1A1, JPrG8A7, JPrG10A6, UbALG3A5, UbALG7A7, JPrG8A3 e JPrG6A8 apresentaram valores de MSPA superiores aos observados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080, e iguais aos observados para a SEMIA 4088 e para o TN (Tabela 6). Em experimentos realizados por Oliveira (2013), observou-se que a nodulação (NN e MSN) variou em decorrência dos locais de estudos, evidenciando a influência do ambiente no estabelecimento da simbiose. Em outro estudo, Gonçalves et al. (2008) verificaram, em experimento no estado do Mato Grosso do Sul, que 32% dos novos isolados avaliados apresentaram maior NN que as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088. Contudo, essa informação deve ser avaliada com cautela, uma vez que um elevado número de nódulos, porém de tamanho reduzido, pode resultar em menor eficiência da FBN.

Tabela 6. Valores médios de número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da raiz (MSR), estande (E), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), número de vagem (NV), número de Grãos (NG) massa seca de 100 grãos (MS100G) e produção de grãos (PG) de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Guapó.

Tratamentos	NN	MSN	MSR	E	AF	MSPA	NV	NG	MS100G	PG
	nº planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	plantas m ⁻¹	cm ² planta ⁻¹	g planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
TN	111,00 b	0,16 a	3,17 a	11,75 a	2975,06 a	44,40 a	16,75 a	78,33 a	24,15 a	766,65 b
TO	124,00 b	0,22 a	2,55 a	11,00 a	2993,04 a	17,77 b	12,00 b	48,63 b	24,45 a	617,52 b
SEMIA 4077	316,25 a	0,36 a	2,35 a	11,25 a	2981,52 a	22,48 b	10,75 b	48,63 b	23,64 a	897,35 b
SEMIA 4088	426,50 a	0,46 a	2,65 a	11,25 a	2898,97 a	40,87 a	13,75 a	56,06 b	23,83 a	974,65 b
SEMIA 4080	119,26 b	0,06 a	2,80 a	11,75 a	2602,04 a	22,71 b	08,25 b	36,70 b	23,59 a	1302,33 a
ALSG5A4	326,00 a	0,44 a	2,51 a	10,25 a	3217,52 a	29,20 b	11,75 b	54,60 b	24,44 a	1222,68 a
JPrG10A1	323,75 a	0,34 a	2,80 a	10,50 a	2855,69 a	25,96 b	14,75 a	64,96 a	23,06 a	916,85 b
JPrG8A7	308,00 a	0,53 a	2,57 a	10,50 a	3066,99 a	33,95 a	15,00 a	71,40 a	24,07 a	858,83 b
JPrG10A6	255,75 b	0,36 a	2,52 a	11,00 a	3483,56 a	45,15 a	15,00 a	65,30 a	22,97 a	1093,09 a
JPrG11A7	222,25 b	0,20 a	2,66 a	10,25 a	2930,45 a	27,04 b	13,50 a	56,03 b	23,20 a	1229,10 b
JPrG8A3	314,25 a	0,50 a	3,38 a	11,25 a	3576,41 a	33,94 a	13,75 a	65,92 a	26,15 a	1134,09 a
JPrG6A8	304,25 a	0,24 a	3,02 a	10,50 a	3364,45 a	41,95 a	17,00 a	80,33 a	23,50 a	1007,17 b
JPrG1A1	193,25 b	0,33 a	2,28 a	10,75 a	3478,53 a	34,73 a	13,75 a	67,90 a	25,55 a	1325,47 a
NVSG2A2	294,00 a	0,62 a	3,01 a	11,00 a	2289,68 a	26,40 b	11,00 b	44,42 b	23,97 a	1077,50 a
NVSG7A7	407,50 a	0,42 a	2,36 a	11,50 a	4384,79 a	30,91 b	17,00 a	79,36 a	24,01 a	1175,65 a
PCG2A5	206,00 b	0,23 a	2,46 a	11,00 a	2895,43 a	27,26 b	14,25 a	65,30 a	22,94 a	997,51 b
PCG4A2	434,75 a	0,37 a	2,49 a	10,75 a	2717,64 a	30,97 b	16,75 a	78,33 a	24,15 a	909,61 b
UnPaG8A12	288,50 a	0,29 a	3,09 a	10,26 a	2681,06 a	29,16 b	12,00 b	58,86 b	25,21 a	1201,28 a
UbALG3A5	390,25 a	0,40 a	3,32 a	10,75 a	3776,70 a	38,02 a	15,00 a	71,73 a	24,59 a	1182,31 a
UbALG7A7	256,00 b	0,34 a	3,46 a	10,25 a	3874,50 a	52,87 a	14,50 a	63,46 a	21,09 a	736,82 b
UnPaG6A8	353,25 a	0,37 a	3,17 a	11,00 a	2231,17 a	24,00 b	17,00 a	90,46 a	22,95 a	740,10 b
UnPaG8A1	157,25 b	0,18 a	2,34 a	10,75 a	2032,07 a	14,46 b	11,75 b	60,06 b	25,81 a	1088,01 a

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott (p<0,05).

Mesmo não apresentando diferenças significativas dentro de cada local, os valores médios observados para o estande (E) de plantas estão dentro da faixa recomendada de população ideal para o feijoeiro-comum. É possível que a inoculação da cultura com bactérias fixadoras de N não seja um fator determinante para o estabelecimento da população de plantas, ao contrário de outros fatores, como: reservas da semente, barreira formada pela camada de solo, umidade do solo e presença de patógenos e pragas de solo nas primeiras fases de estabelecimento da cultura (Kaneko et al., 2010).

Contudo, para a AF e MSPA foram observadas diferenças significativas, sendo que alguns isolados proporcionaram valores de AF e MSPA semelhantes ao TN e superiores às estirpes SEMIA 4077 e 4080 (Tabela 6), resultados semelhantes aos encontrados por Gonçalves et al. (2008), os quais constataram que 52% dos novos isolados avaliados em ensaio em casa de vegetação no estado do Mato Grosso do Sul, mostraram maior eficiência em relação à produção de MSPA quando comparados as estirpes de *Rhizobium tropici*, SEMIA 4077 e SEMIA 4080. Resultados encontrados por Ferreira et al. (2000) comparando a inoculação de sementes de feijão com cinco estirpes de rizóbio e o uso da adubação mineral com nitrogênio, mostrou que não houve diferença significativa para MSPA entre os tratamentos. Segundo os autores esses resultados dão um indicativo que a simbiose feijoeiro-rizóbio foi capaz de fixar N atmosférico e suprir as necessidades das plantas, proporcionando desenvolvimento semelhantes àquelas que receberam N-mineral.

Para a avaliação do NV foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) (Tabela 6). No experimento de Guapó os isolados JPrG1A1, JPrG10A1, PCG2A5, JPrG8A7, UnPaG6A8, JPrG10A6, UbALG3A5, NSVG7A7, UbALG7A7, JPrG11A7, JPrG8A3, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores de NV iguais aos encontrados para a estirpe padrão SEMIA4088 e para o TN; porém, com valores superiores aos encontrados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080.

Barros et al. (2013) verificaram diferenças significativas para fonte de N em relação ao NV, sendo que o maior número de vagens por planta foi obtido no tratamento inoculado e adubado com N mineral.

De forma semelhante ao NV, o NG também foi influenciado pelos isolados de rizóbio dentro de cada local. Os isolados JPrG1A1, JPrG10A1, PCG2A5, JPrG8A7, UnPaG6A8, JPrG10A6, UbALG3A5, NVSG7A7, UbALG7A7, JPrG8A3, JPrG6A8 e

PCG4A2 quando testados no município de Guapó apresentaram maiores que os apresentados pelas estirpes padrão, porém iguais ao tratamento com N mineral (Tabela 6).

A inoculação com as estirpes de rizóbio promoveu ganhos significativos em relação a PG. Esses ganhos foram, em média, da ordem de 700 kg ha⁻¹ em relação ao tratamento testemunha absoluta. Os aumentos nos rendimentos de grãos em função da inoculação foram superiores, inclusive aos obtidos com a adubação nitrogenada. Os isolados ALSG5A4, JPrG8A1, JPrG10A6, JPrG11A7, JPrG8A3, NVSG2A2, NVSG7A7, UbALG3A5, UnPaG8A12 e UnPaG8A1 apresentaram valores iguais aos verificados para a SEMIA 4080 e superiores ao TN. Os demais isolados proporcionaram uma PG igual à verificada para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e para o TN.

Verifica-se nas Tabelas 6 e 7 que a maioria dos tratamentos, nos dois experimentos, em relação ao rendimento de grãos foi superior à média nacional, que é de 989 Kg ha⁻¹ (Conab, 2014), sendo que os isolados JPrG10A1, JPrG8A3, JPrG6A8, JPrG10A6, NVSG7A7, UnPaG8A1, PCG2A5, UbALG7A7 e NVSG2A2, em Santo Antônio de Goiás chegaram a produzir de 3 a 3,5 vezes mais que a média nacional.

Em pesquisa desenvolvida por Brito et al. (2011), no estado do Mato Grosso do Sul, não foram observadas diferenças significativas para produtividade do feijoeiro entre a inoculação com rizóbio e a adubação nitrogenada; contudo, Hungria et al. (2000), estudando a eficiência de novos isolados de rizóbio, obtiveram produção de grãos variando de 750 a 3.519 kg ha⁻¹, o que proporcionou rendimentos de grãos semelhantes ao da estirpe SEMIA 4077 e ao da testemunha com nitrogênio mineral. Já Mostasso et al. (2001), obtiveram rendimentos de grãos superior a 2.000 kg ha⁻¹.

Peres et al. (1994) observaram em solos de Cerrado e sem irrigação, ganhos em relação à produtividade de grãos de feijão da Cv. Pérola, obtidos com inoculação de rizóbio, de 63 a 290 kg ha⁻¹ em relação às testemunhas não inoculadas. Em Minas Gerais, Ferreira et al. (2009), testando a eficiência de estirpes de rizóbio verificaram que os tratamentos inoculados promoveram rendimentos de grãos semelhante ao da testemunha com 80 Kg ha⁻¹ de N, resultados esses que corroboram com os resultados encontrados neste trabalho.

Na Tabela 7 são apresentados os valores médios verificados no ensaio de Santo Antônio de Goiás para os parâmetros de nodulação, crescimento de plantas, componentes de rendimento e produção de grãos de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados. Verificou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para NSN,

MSR, AF, MSPA, NV, NG e PG, não verificando diferenças significativas apenas para NN, E e MS100G (Tabela 7).

Ao contrário do observado para o NN, para a MSN foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos no experimento conduzido em Santo Antônio de Goiás, sendo que a estirpe padrão SEMIA 4080 apresentou maior valor de MSN em relação aos demais tratamentos (Tabela 7).

Quanto à MSR constatou-se que o TN apresentou o maior valor de MSR e, portanto, os isolados avaliados apresentaram valores iguais aos verificados para as estirpes comerciais. Resultados similares foram verificados por Barros et al. (2013), quando em experimento de campo para avaliar a eficiência de estirpes de rizóbio, não conseguiram verificar efeitos significativos para MSR entre os tratamentos.

Para os resultados da AF foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação à fonte de N no experimento de Santo Antônio de Goiás, sendo que o TN apresentou maior valor de AF. Contudo, os isolados PCG2A5, JPrG8A7 UnPaG6A8, UbALG3A5, NVSG7A7 e UbALG7A7 apresentaram melhor desempenho do que as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 (Tabela 7).

Foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre a MSPA, sendo que o maior valor de MSPA foi observado para o TN, porém os demais isolados apresentaram valores iguais aos verificados para as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 (Tabela 7).

Para a avaliação do NV foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$), em Santo Antônio de Goiás, sendo o maior valor observado para o TN; porém, os isolados NVSG2A2, UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram resultados semelhantes aos encontrados para as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 (Tabela 7).

No experimento de Santo Antônio de Goiás o maior NG foi observado para o tratamento TN. Contudo, os isolados PCG4A2, JPrG6A8, JPrG11A7 e UnPaG8A12 apresentaram valores semelhantes aos encontrados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 e superiores aos valores observados para a estirpe SEMIA 4088.

Arf et al. (2004) constataram que o NG foi influenciado pelas doses de N, quando aplicados na cobertura, indicando que a planta bem nutrida, pode aumentar o NG.

Tabela 7. Valores médios de número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da raiz (MSR), estande (E), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), número de vagem (NV), número de Grãos (NG) massa seca de 100 grãos (MS100G) e produção de grãos (PG) de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Santo Antônio de Goiás.

Tratamentos	NN	MSN	MSR	E	AF	MSPA	NV	NG	MS100G	PG
	nº planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	plantas m ⁻¹	cm ² planta ⁻¹	g planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	nº planta ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
TN	110,25 a	0,24 b	7,49 a	11,75 a	7358,17 a	79,41 a	30,25 a	146,20 a	22,36 a	2536,38 b
TO	340,25 a	0,51 b	3,03 b	13,00 a	3363,57 c	37,37 b	21,25 b	101,30 b	21,84 a	2071,96 c
SEMIA 4077	181,00 a	0,32 b	2,99 b	13,00 a	4370,45 c	41,96 b	19,75 b	97,73 b	25,19 a	3566,30 a
SEMIA 4088	201,75 a	0,43 b	3,68 b	12,00 a	4513,29 c	41,58 b	19,25 b	84,72 c	24,77 a	3388,40 a
SEMIA 4080	235,25 a	1,66 a	3,34 b	12,25 a	4197,37 c	43,74 b	19,00 b	97,10 b	24,32 a	3381,62 a
ALSG5A4	199,25 a	0,30 b	3,55 b	13,00 a	4241,00 c	36,31 b	14,25 c	79,00 c	24,08 a	2927,15 b
JPrG10A1	239,75 a	0,42 b	3,09 b	13,50 a	3444,95 c	35,79 b	15,25 c	78,80 c	23,55 a	2988,12 b
JPrG8A7	319,25 a	0,56 b	4,44 b	11,25 a	5194,65 b	48,27 b	15,00 c	74,80 c	24,52 a	2834,91 b
JPrG10A6	277,25 a	0,57 b	3,61 b	12,50 a	4355,17 c	40,36 b	18,00 b	91,03 c	26,08 a	3229,48 a
JPrG11A7	183,00 a	0,48 b	3,07 b	11,00 a	3363,57 c	37,37 b	21,25 b	99,57 b	25,12 a	2917,95 b
JPrG8A3	189,00 a	0,34 b	3,14 b	12,25 a	3406,55 c	33,72 b	15,75 c	75,95 c	25,69 a	3061,35 a
JPrG6A8	169,00 a	0,39 b	4,31 b	12,75 a	4123,52 c	46,28 b	20,75 b	101,30 b	23,78 a	3097,71 a
JPrG1A1	260,25 a	0,54 b	3,60 b	12,75 a	4477,14 c	37,26 b	18,25 b	92,30 c	25,60 a	2820,60 b
NVSG2A2	244,25 a	0,62 b	3,29 b	12,25 a	4198,73 c	43,44 b	17,57 b	86,40 c	24,75 a	3438,40 a
NVSG7A7	229,74 a	0,45 b	4,04 b	12,00 a	5005,08 b	41,63 b	18,00 b	82,33 c	23,65 a	3194,06 a
PCG2A5	251,75 a	0,52 b	4,35 b	11,75 a	5197,60 b	46,69 b	17,00 c	87,70 c	23,92 a	3342,88 a
PCG4A2	199,00 a	0,44 b	3,13 b	11,75 a	4250,90 c	42,01 b	19,00 b	111,60 b	24,16 a	2944,74 b
UnPaG8A12	136,75 a	0,31 b	3,14 b	12,00 a	3763,20 c	38,04 b	18,00 b	108,13 b	24,33 a	2775,60 b
UbALG3A5	196,25 a	0,46 b	3,56 b	12,50 a	5254,17 b	42,37 b	13,50 c	69,00 c	24,53 a	2784,70 b
UbALG7A7	371,00 a	0,81 b	4,42 b	13,00 a	5386,73 b	51,95 b	16,50 c	86,06 c	23,96 a	3359,17 a
UnPaG6A8	236,25 a	0,53 b	3,33 b	11,50 a	4838,65 b	40,46 b	15,25 c	78,36 c	23,09 a	2803,51 b
UnPaG8A1	233,00 a	0,69 b	3,05 b	12,50 a	4202,42 c	41,44 b	18,50 b	90,36 c	24,14 a	3289,80 a

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott (p<0,05).

Não foram observadas diferenças significativas para a MS100G em relação aos isolados dentro de cada local (Tabelas 6 e 7). Resultados semelhantes foram encontrados por Pelegrin et al. (2009) e Kaneko et al. (2010). Mesmo não sendo encontradas diferenças marcantes, os valores de MS100G encontrados neste trabalho estão entre 21,09g e 26,15 g, valores próximos aos 27 g que é característico para a cultivar pérola e dos 24 g, valor tido como característico de feijões carioca (Costa & Vieira, 2000).

A inoculação com as estirpes de rizóbio promoveu ganhos significativos em relação à PG. Esses ganhos foram em média da ordem de 1366,44 kg ha⁻¹ em relação ao tratamento testemunha absoluta. Os aumentos nos rendimentos de grãos em função da inoculação foram superiores aos obtidos com a adubação nitrogenada e iguais aos valores encontrados para as estirpes comerciais. Os isolados JPrG10A6, JPrG8A3, JPrG6A8, NVSG2A2, NVSG7A7, PCG2A5, UbALG7A7 e UnPaG8A, apresentaram valores iguais aos encontrados para as estirpes padrão SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 e valores de PG superiores em relação ao TN mineral (Tabela 7).

Pelegrin et al. (2009) verificaram que o uso da inoculação de rizóbio acrescida da adubação com 20 kg de N ha⁻¹ no plantio, apresentou incrementos de produtividade superiores aos do tratamento com 20 kg ha⁻¹ de N. Esses resultados dá um indicativo de que é possível o cultivo de feijoeiro-comum sem a necessidade de aplicação de adubos nitrogenados ou a diminuição das doses de N-mineral. Segundo Barros et al. (2013), a inoculação de rizóbio no plantio de feijoeiro-comum pode substituir a adubação nitrogenada com 20 kg ha⁻¹ de N na semeadura, sem perda de produtividade.

4.2 TEORES DE MACRO E MICRONUTRIENTES DA PARTE AÉREA DE FEIJOEIRO-COMUM INOCULADO COM DIFERENTES ISOLADOS DE RIZÓBIO

Na Tabela 8 são apresentados os dados comparativos em relação aos locais, para os teores de macro e micronutrientes da parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados. Verificou-se na comparação entre locais que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para os nutrientes avaliados, exceto para Cu, sendo que para N, P, K, Mg e Zn os maiores valores foram observados no experimento conduzido em Santo Antônio de Goiás e para Ca, Fe e Mn os maiores valores foram observados em Guapó (Tabela 8).

Tabela 8. Comparação entre locais para os teores de macro e micronutrientes: nitrogênio (N-Total), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) da parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados.

Local	N-Total	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹
Guapó	1,04 b	0,10 b	0,59 b	0,61 a	0,14 b	0,44 a	46,07 a	4,74 a	1,46 b
Embrapa	1,41 a	0,15 a	1,19 a	0,50 b	0,17 a	0,41 a	27,60 b	1,85 b	1,91 a

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula e na linha seguidos de letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott (p<0,05).

Os valores médios dos ensaios conduzidos em Guapó, para os teores de macro e micronutrientes da parte aérea do feijoeiro-comum inoculado com diferentes isolados de rizóbio são apresentados na Tabela 9. Constatou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para todos os teores dos nutrientes na parte aérea.

Os isolados UnPaG8A1, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, JPrG10A6, UbALG3A5, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores iguais aos verificados para o TN e superiores às estirpes padrão. Por outro lado os isolados NVSG2A2, PCG2A5, JPrG8A7, UbALG7A7 e ALSG5A4 apresentaram valores iguais aos observados para as estirpes padrão (Tabela 9).

O teor de N na parte aérea do feijoeiro-comum pode ser um indicativo de quão eficiente foi essa absorção, tanto do N-mineral quanto da FBN. Araújo et al. (2007), observaram em seus trabalhos, maior concentração de N na parte aérea do feijoeiro-comum no tratamento inoculado em relação a testemunha sem inoculação e adubação com N-mineral. O isolado JPrG10A6 que apresentou maior teor de N-Total nos dois experimentos avaliados, também foi um dos isolados que apresentou maior produtividade de grãos, mostrando que o teor de N-Total na parte aérea está intimamente ligado ao desempenho produtivo da cultura. Ainda, que o teor de N-Total acumulado está acima do nível crítico de N para a cultura que é de 30 g Kg^{-1} como afirma Malavolta et al. (1997).

Em experimento conduzido com o objetivo de selecionar rizóbios obtidos de diversas regiões do estado do Mato Grosso do Sul, Gonçalves et al. (2008) constataram que 20% dos isolados avaliados apresentaram valores de N-Total na parte aérea das plantas de feijoeiro-comum superiores à inoculação com as estirpes padrão SEMIA 4077 e SEMIA 4088.

Leal & Prado (2008) constaram, em experimento de casa de vegetação, que o não uso de N reduziu significativamente o desenvolvimento das plantas, afetando o número de folhas, altura da planta, o diâmetro do caule e a área foliar, ocorrendo a diminuição da produção de matéria seca das folhas, do caule e raízes. Os autores afirmaram que esses resultados confirmam que o N é um nutriente importante para a cultura e que, na sua ausência, é prejudicial ao desenvolvimento da planta.

Os teores de P e K encontrados nesse experimento estão próximo do mínimo adequado para o desenvolvimento da cultura que é de 0,3% para P e 25 para K (Trani et al., citado por Pessoa et al., 1996).

Tabela 9. Teores médios de macro e micronutrientes: nitrogênio (N-Total), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Guapó.

Tratamentos	N-Total g planta ⁻¹	P g planta ⁻¹	K g planta ⁻¹	Ca g planta ⁻¹	Mg g planta ⁻¹	Cu mg planta ⁻¹	Fe mg planta ⁻¹	Mn mg planta ⁻¹	Zn mg planta ⁻¹
TN	1,39 a	0,13 a	0,80 a	0,80 a	0,18 a	0,56 a	72,37 a	6,09 a	1,98 a
TO	0,92 b	0,09 b	0,57 a	0,54 b	0,13 a	0,41 b	51,98 b	5,03 a	1,46 a
SEMIA 4077	0,85 b	0,08 b	0,43 b	0,52 b	0,12 b	0,34 b	23,50 b	4,03 b	1,17 b
SEMIA 4088	0,91 b	0,10 a	0,64 a	0,67 a	0,15 a	0,46 a	42,55 b	4,71 a	1,52 a
SEMIA 4080	0,60 b	0,06 b	0,34 b	0,36 b	0,08 b	0,26 b	29,56 b	3,30 b	0,93 b
ALSG5A4	0,79 b	0,05 b	0,48 a	0,50 b	0,11 b	0,34 b	32,74 b	3,78 b	1,14 b
JPrG10A1	1,35 a	0,14 a	0,69 a	0,80 a	0,16 a	0,62 a	95,47 a	6,86 a	1,85 a
JPrG8A7	0,91 b	0,10 b	0,40 b	0,39 b	0,08 b	0,27 b	31,88 b	2,93 b	0,92 b
JPrG10A6	1,49 a	0,17 a	0,91 a	0,93 a	0,19 a	0,66 a	44,96 b	7,00 a	2,17 a
JPrG11A7	1,23 a	0,13 a	0,66 a	0,71 a	0,15 a	0,72 a	32,65 b	5,52 a	1,71 a
JPrG8A3	0,84 b	0,07 b	0,48 b	0,44b	0,10 b	0,29 b	21,38 b	3,25 b	1,07 b
JPrG6A8	1,19 a	0,10 a	0,62 a	0,65 a	0,15 a	0,40 b	27,72 b	4,96 a	1,47 a
JPrG1A1	1,28 a	0,13 a	0,74 a	0,74 a	0,17 a	0,50 a	48,96 b	5,71 a	1,75 a
NVSG2A2	0,80 b	0,08 b	0,47 b	0,50 b	0,10 b	0,33 b	45,32 b	3,75 b	1,07 b
NVSG7A7	1,22 a	0,11 a	0,68 a	0,64 a	0,15 a	0,42 b	25,67 b	4,36 b	1,56 a
PCG2A5	0,71 b	0,07 b	0,42 b	0,39 b	0,10 b	0,37 b	49,96 b	3,05 b	1,03 b
PCG4A2	1,24 a	0,12 a	0,73 a	0,71 a	0,17 a	0,52 a	93,62 a	5,76 a	1,84 a
UnPaG8A12	1,16 a	0,14 a	0,72 a	0,79 a	0,16 a	0,57 a	75,35 a	6,83 a	1,76 a
UbALG3A5	1,07 a	0,11 a	0,60 a	0,66 a	0,14 a	0,42 b	36,63 b	4,31 b	1,27 b
UbALG7A7	0,49 b	0,04 b	0,27 b	0,26 b	0,06 b	0,19 b	21,08 b	1,97 b	0,68 b
UnPaG6A8	1,27 a	0,13 a	0,81 a	0,80 a	0,17 a	0,52 a	55,30 b	5,40 a	1,86 a
UnPaG8A1	1,23 a	0,12 a	0,65 a	0,69 a	0,16 a	0,55 a	54,90 b	5,73 a	1,90 a

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$).

Para a avaliação do teor de P foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os isolados no experimento de Guapó. Os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, JPrG10A6, UbALG3A5, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG11A7, UnPaG6A8 JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores iguais aos encontrados para a estirpe padrão SEMIA 4088 e para o TN. Contudo os isolados NVSG2A2, PCG2A5, JPrG8A7, JPrG8A3 e ALSG5A4 apresentaram resultados iguais às estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 e ao T0 (Tabela9).

De acordo com Graham & Rosas (1974) e Araújo & Teixeira (2000), o P cumpre um papel importante para a FBN, uma vez que o suprimento limitado de P retarda o desenvolvimento da nodulação no feijoeiro-comum, pois esse nutriente atua diretamente sobre a iniciação, crescimento e funcionamento dos nódulos.

Em experimento realizado por Araújo et al. (2002), com o objetivo de avaliar os efeitos do teor de P na semente, no crescimento e na nodulação do feijoeiro-comum em estágio vegetativo, mostraram que o alto teor de P nas sementes aumentou o número de nódulos e que o acúmulo de N na parte aérea foi superior nas plantas originadas de semente com alto teor de P. Os autores concluíram que sementes com alto teor de P obtido via adubação foliar podem aumentar o crescimento, a nodulação e o acúmulo de N no feijoeiro-comum em estádios iniciais de crescimento, particularmente sob baixas doses de P aplicado ao solo.

Leal & Prado (2008) verificaram que os atributos que indicam o crescimento vegetativo do feijoeiro-comum são significativamente afetados pela omissão de fósforo, no qual o tratamento que recebeu a omissão de P o teor foliar foi de $1,2 \text{ g kg}^{-1}$, já o que recebeu P foi de $3,9 \text{ g kg}^{-1}$. Podemos fazer a relação desses resultados com os resultados encontrados neste trabalho, uma vez que a maioria dos tratamentos que obtiveram maior teor de P na parte aérea foram os que tiveram resultados superiores para MSPA.

Com relação ao teor de K, os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, JPrG10A6, UbALG3A5, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG6A8, ALSG5A4 e PCG4A2 apresentaram valores iguais aos encontrados para o TN e T0 e para a SEMIA 4088. Contudo, os isolados NVSG2A2, PCG2A5, UbALG7A7 e JPrG8A3 apresentaram resultados iguais às estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 (Tabela 9). Leal & Padro (2008) verificaram que o Potássio está entre os três principais nutrientes que afetam o desenvolvimento vegetativo do feijoeiro-comum.

Os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, JPrG10A6, UbALG3A5, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores de Ca iguais aos encontrados para a estirpe SEMIA 4088 e para o TN. Contudo, os isolados NVSG2A2, PCG2A5, JPrG8A7, UbALG7A7, JPrG8A3 e ALSG5A4 apresentaram valores iguais aos verificados para as estirpes SEMIAs 4077 e 4080 (Tabela 9). A deficiência de Ca afeta diretamente o desenvolvimento da planta de feijoeiro-comum (Leal & Prado, 2008).

Com relação à avaliação de teor de Mg, verificou-se no experimento de Guapó que os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, JPrG10A6, UbALG3A5, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A apresentaram valores iguais aos encontrados para a estirpe SEMIA 4088 e para os tratamentos TN e T0. Contudo, os demais isolados apresentaram valores iguais aos verificados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 (Tabela 9). Leal & Padro (2008), verificaram que a deficiência de Mg resulta na diminuição da matéria seca das folhas e do caule; porém, sem efeito significativo sobre os parâmetros vegetativos de crescimento do feijoeiro-comum.

Com relação à avaliação de teor de Cu, verificou-se que os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, JPrG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, JPrG10A6, JPrG11A7 e PCG4A2 apresentaram valores iguais aos encontrados para o TN e para a SEMIA 4088. Por outro lado, os demais isolados apresentaram valores iguais aos observados para as estirpes padrão SEMIA 4077 e SEMIA 4080 e para o T0 (Tabela 9).

Fageria et al. (2014) constaram que a produção de grãos, massa seca da parte aérea, número de vagens por planta e de grãos por vagens são significativamente influenciados pela aplicação de Cu. Segundo os autores, a média de aumento para a produção de grãos e para massa seca da parte aérea foi de 41% e 20%, respectivamente.

Foram observadas diferenças significativas para o teor de Fe entre os tratamentos, sendo que os isolados UnPaG8A12, JPrG10A1 e PCG4A2 apresentaram valores iguais ao encontrado para o TN. Por outro lado, os demais isolados apresentaram valores iguais aos observados para as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 e para o T0 (Tabela 9).

Com relação aos teores de Mn na parte aérea, verificou-se que os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, JPrG10A6, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores iguais aos encontrados para a estirpe SEMIA

4088 e para os tratamentos TN e T0. Os demais isolados apresentaram valores iguais aos verificados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 (Tabela 9).

De acordo com Lovato et al. (1985), outros fatores além da umidade e temperatura, interferem sobre a eficiência da FBN, um deles é a toxicidade por manganês, assim como deficiências de alguns nutrientes, como o cálcio, fósforo e micronutrientes.

Foram observadas diferenças significativas entre os isolados com relação ao teor de Zn, onde os isolados UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, JPrG10A6, NVSG7A7, JPrG11A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores similares aos encontrados para a estirpe SEMIA 4088 e para os tratamentos TN e T0. Por outro lado os demais isolados apresentaram valores iguais aos observados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 (Tabela 9).

Os valores médios dos ensaios conduzidos em Santo Antônio de Goiás, para os teores de macro e micronutrientes da parte aérea do feijoeiro-comum inoculado com diferentes isolados de rizóbios são apresentados na Tabela 10. Constatou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para os teores dos nutrientes na parte aérea, exceto para ferro e manganês.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para o teor de N-Total, sendo que o isolado JPrG10A6 apresentou valores superiores em relação aos demais tratamentos. Contudo os isolados UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8, UbALG7A7, JPrG11A7, JPrG11A6 e PCG4A2 apresentaram resultados iguais aos encontrados para TN e para as SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e superiores à SEMIA 4080 (Tabela 10).

O isolado JPrG10A6 proporcionou o maior teor de P na parte aérea do feijoeiro-comum. Além disso, os isolados UnPaG8A1 e JPrG10A1 apresentaram maiores valores de P que o tratamento TN e que as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088. Adicionalmente, cerca de 50% dos isolados, sendo eles: NVSG2A2, UnPaG8A12, UnPaG6A8, UbALG3A5, NVSG7A7, UbALG7A7, JPrG11A7 e PCG4A2, apresentaram valores iguais aos valores encontrados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e ao TN, além de apresentarem valores de P maiores que o observado para a estirpe SEMIA 4088 (Tabela 10).

Tabela 10. Teores médios de macro e micronutrientes: nitrogênio (N-Total), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na parte aérea de plantas de feijoeiro-comum inoculadas com diferentes isolados cultivadas em Santo Antônio de Goiás.

Tratamentos	N-Total	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	mg planta ⁻¹
TN	1,62 c	0,17 c	1,27 b	0,58 a	0,22 b	0,54 a	26,50 a	2,78 a	2,61 b
TO	1,45 c	0,17 c	1,22 b	0,50 a	0,18 c	0,46 a	37,10 a	2,00 a	2,03 c
SEMIA 4077	1,42 c	0,15 c	1,12 b	0,54 a	0,17 c	0,41 a	19,71 a	1,61 a	1,88 c
SEMIA 4088	1,47 c	0,14 c	1,31 b	0,59 a	0,18 c	0,45 a	33,51 a	2,00 a	2,10 c
SEMIA 4080	1,13 d	0,11 d	0,90 c	0,37 b	0,13 d	0,30 b	31,39 a	1,91 a	1,43 d
ALSG5A4	1,08 d	0,12 d	0,90 c	0,39 b	0,13 d	0,31 b	23,74 a	1,22 a	1,42 d
JPrG10A1	1,91 b	0,20 b	1,47 b	0,63 a	0,21 b	0,50 a	21,57 a	2,36 a	2,40 b
JPrG8A7	0,90 d	0,06 d	0,87 c	0,34 b	0,11 d	0,30 b	15,49 a	1,23 a	1,27 d
JPrG10A6	2,59 a	0,30 a	2,40 a	0,82 a	0,30 a	0,73 a	38,71 a	2,63 a	3,51 a
JPrG11A7	1,65 c	0,19 c	1,44 b	0,63 a	0,21 b	0,50 a	40,62 a	2,74 a	2,27 b
JPrG8A3	1,03 d	0,12 d	0,81 c	0,35 b	0,12 d	0,29 b	10,06 a	1,34 a	1,38 d
JPrG6A8	1,34 c	0,15 c	1,13 b	0,47 b	0,17 c	0,41 a	20,80 a	1,90 a	1,91 c
JPrG1A1	1,50 c	0,16 c	1,25 b	0,56 a	0,19 c	0,42 a	28,94 a	1,80 a	1,89 c
NVSG2A2	1,59 c	0,16 c	1,18 b	0,55 a	0,18 c	0,42 a	28,84 a	2,11 a	1,95 c
NVSG7A7	1,17 d	0,14 c	1,05 c	0,43 b	0,16 c	0,35 b	35,41 a	1,51 a	1,67 c
PCG2A5	0,62 d	0,06 d	0,54 c	0,26 b	0,08 d	0,19 b	14,81 a	0,94 a	0,81 d
PCG4A2	1,33 c	0,15 c	1,05 c	0,51 a	0,17 c	0,40 a	28,10 a	2,16 a	1,82 c
UnPaG8A12	1,40 c	0,16 c	1,29 b	0,48 b	0,16 c	0,42 a	33,34 a	2,06 a	1,91 c
UbALG3A5	1,17 d	0,14 c	0,99 c	0,43 b	0,14 c	0,31 b	17,63 a	1,57 a	1,60 c
UbALG7A7	1,40 c	0,17c	1,29 b	0,44 b	0,15 c	0,42 a	21,49 a	1,56 a	2,03 c
UnPaG6A8	1,36 c	0,16 c	1,07 c	0,54 a	0,18 c	0,38 b	29,39 a	1,18 a	1,80 c
UnPaG8A1	1,85 b	0,21 b	1,60 b	0,62 a	0,21 b	0,49 a	42,07 a	2,05 a	2,35 b

Valores na coluna seguidos da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$).

Com relação ao teor de K, o maior teor foi observado para o isolado JPrG10A6. Além disso, os isolados NVSG2A2, UnPaG8A12, JPrG1A1, JPrG8A1, JPrG10A1, UbALG7A7, JPrG11A7 e JPrG6A8 apresentaram resultados iguais aos encontrados para o tratamento TN e para as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 (Tabela 10).

Os maiores teores de Ca foram observados para os isolados JPrG10A6, NVSG2A2, JPrG1A1, UnPaG8A1, JPrG10A1, UnPaG6A8 e PCG4A2, apresentando valores iguais aos encontrados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e para o tratamento TN. Por outro lado os isolados UnPaG8A12, PCG2A5, JPrG8A7, UbALG3A5, NVSG7A7, UbALG7A7, JPrG8A3, JPrG6A8 e ALSG5A4 apresentaram resultados iguais aos verificados para a estirpe SEMIA 4080 (Tabela 10).

Já em relação aos teores de Mg, o maior teor de Mg foi observado para os isolados JPrG10A6. Contudo, os isolados UnPaG8A1, JPrG10A1 e JPrG11A7 apresentaram valores iguais aos encontrados para o tratamento TN e superiores aos encontrados para as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088. Além disso, os isolados NVSG2A2, UnPaG8A12, JPrG1A1, UnPaG6A8, UbALG3A5, NVSG7A7, UbALG7A7, JPrG6A8 e PCG4A2 apresentaram valores maiores que a estirpe SEMIA 4080 e iguais aos valores observados para as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e para o tratamento T0 (Tabela 10).

4.3 EFICIÊNCIA RELATIVA DE PRODUÇÃO DE GRÃOS EM FEIJOEIRO-COMUM INOCULADO

A partir dos dados de PG foi determinada a eficiência relativa de produção de grãos (ERPG) de cada tratamento em relação aos tratamentos T0, TN, SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 para os experimentos conduzidos em Guapó e em Santo Antônio de Goiás, sendo esses apresentados na Figura 12.

Observa-se que não foram encontradas diferenças significativas entre os isolados para a ERPG em relação aos tratamentos T0, TN, SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 no experimento conduzido em Santo Antônio de Goiás (Figura 12).

Já para o experimento conduzido em Guapó, a eficiência relativa de produção de grãos em relação à SEMIA 4077 (ERPG : SEMIA 4077) variou cerca de 10% a 58%, significando que o tratamento com menor ERPG (PCG4A2) produziu 10% a mais que o

tratamento com a SEMIA 4077. Dos 17 isolados avaliados, 12 apresentaram ERPG : SEMIA4077 igual às estirpes SEMIA 4080 e SEMIA 4088 e superior aos tratamentos TN e T0. Esses isolados apresentaram ERPG : SEMIA 4088 variando de cerca de 20% a 58%, com destaque para o isolado JPrG1A1, com aproximadamente 58% (Figura 12).

Para a ERPG : SEMIA 4080 todos os tratamentos apresentaram eficiência negativa em relação a estirpe SEMIA 4080, com exceção do isolado JPrG1A1 que apresentou ERPG : SEMIA 4080 de aproximadamente 1% em relação ao tratamento com a SEMIA 4080 (Figura 12).

A ERPG : SEMIA 4088 entre os tratamentos inoculados variou de aproximadamente 5% a 40%, significando que o tratamento com menor ERPG (PCG2A5) produziu cerca de 5% a mais de grãos que o tratamento com a SEMIA 4088, tendo destaque o isolado JPrG1A1 com cerca de 40% de ERPG : SEMIA 4088. Dos 17 isolados avaliados, 12 apresentaram ERPG : SEMIA 4088 igual à estirpe SEMIA 4080 e superior à SEMIA 4077 e aos tratamentos TN e T0 (Figura 12).

A eficiência relativa de produção de grãos em relação à testemunha absoluta (ERPG : T0) variou de 25% a 120%, indicando que o tratamento com menor eficiência (UbALG7A7) produziu 20% a mais que o T0. Um total de 12 isolados, cerca de 70,6% dos isolados avaliados, apresentaram ERPG : T0 igual à estirpe SEMIA 4080 e superior às estirpes SEMIAS 4077 e SEMIA 4088. Esses isolados apresentaram ERPG : T0 variando de cerca de 62% a 120% em relação ao T0, com destaque para o isolado JPrG1A1, com aproximadamente 120%. Por outro lado, os isolados JPrG10A1, JPrG8A7, UnPaG6A8, UbALG7A7 e PCG4A2 apresentaram valores de ERPG : T0 variando de cerca de 20% a 60%, não diferindo significativamente dos tratamentos TN e das SEMIAS 4077 e 4088 (Figura 12).

Os resultados deste trabalho são semelhantes ao encontrados por Hungria et al. (2000) e Soares et al. (2006), nos quais os novos isolados, o tratamento com N-mineral e a estirpe padrão utilizada apresentaram rendimentos de grãos superiores ao tratamento testemunha absoluta.

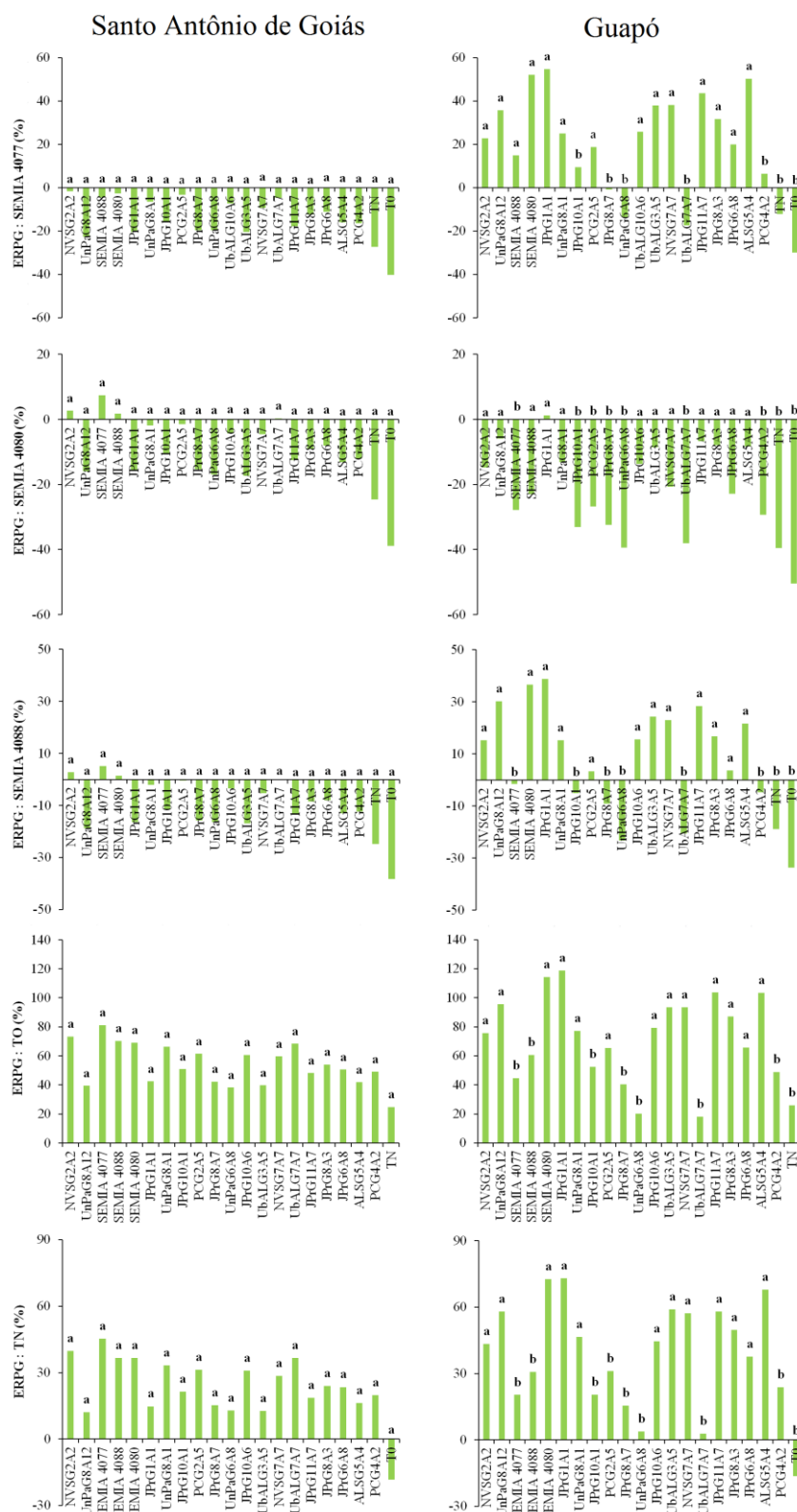


Figura12. Eficiência relativa de produção de grãos em relação aos tratamentos T0 (ERPG : TO), TN (ERPG : TN), SEMIA 4077 (ERPG : SEMIA 4077), SEMIA 4080 (ERPG : SEMIA 4080) e SEMIA 4088 (ERPG : SEMIA 4088) do feijoeiro-comum inoculado com diferentes isolados de rizóbio em Guapó e em Santo Antônio de Goiás. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$).

A ERPG : TN entre os tratamentos inoculados variou de aproximadamente 5% a 70%, significando que o tratamento com menor ERPG (UbALG7A7) produziu 5% a mais que o tratamento nitrogenado (TN). Dos 17 isolados avaliados, 11 apresentaram ERPG : TN igual à estirpe SEMIA 4080 e superior às estirpes SEMIAS 4077 e SEMIA 4088. Esses isolados apresentaram ERPG : TN variando de cerca de 35% a 70% em relação ao TN, com destaque para o isolado JPrG1A1, com aproximadamente 70%. Por outro lado, os isolados JPrG10A1, PCG2A5, JPrG8A7, UnPaG6A8, UbALG7A7 e PCG4A2 apresentaram valores de ERPG : TN variando de cerca de 5% a 30%, não diferindo significativamente dos tratamentos T0 e das SEMIAS 4077 e 4088 (Figura 12).

Nogueira (2005) e Ferreira et al. (2009) observaram em experimentos conduzidos no estado de Minas Gerais, com o objetivo avaliar a resposta do feijoeiro-comum à inoculação com cepas isoladas da região da Amazônia, que o tratamento com a cepa de rizóbio proporcionou rendimento de grão semelhantes a testemunha com nitrogênio mineral.

Soares et al. (2006), observaram em experimentos conduzidos no município de Perdões no estado de Minas Gerais, com o objetivo de avaliar a eficiência agrônômica de estirpes previamente selecionadas de rizóbio em simbiose com o feijoeiro-comum, comparadas à estirpe SEMIA4077, que cerca de 75% das estirpes previamente selecionadas promoveram rendimento de grãos semelhante ao da testemunha, com 70 kg ha⁻¹ de N, e à inoculação com a estirpe de referência SEMIA 4077. Hungria et al. (2000), estudando a eficiência de novos isolados de rizóbio, observaram rendimentos de grãos semelhantes a estirpe de referência SEMIA 4077.

Outro resultado semelhante foi encontrado por Brito et al. (2011), onde verificaram que novas linhagens de feijoeiro-comum do grupo preto, inoculadas com a SEMIA 4077 apresentaram produtividade semelhante àquelas adubadas com 80 Kg N há⁻¹. Foram testadas no estado do Paraná as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4080 sem suplementação de fertilizantes nitrogenados, no qual foram verificados rendimentos de grão de até 3.425 Kg há⁻¹ (Hungria et al., 2000).

Ferreira et al. (2009), observaram em experimentos conduzidos no estado de Minas Gerais, com o objetivo avaliar a resposta do feijoeiro-comum à inoculação com quatro cepas isoladas da região da Amazônia, UFLA 02-100, UFLA 02-127, UFLA 02-86 e UFLA 02-68, comparadas a estirpe SEMIA4077, que o tratamento com a cepa de rizóbio UFLA 02 68 proporcionou maior rendimento de grão em relação aos demais tratamentos e

não diferiu da testemunha com nitrogênio mineral, e diferiu estatisticamente da estirpe SEMIA 4077, mostrando maior eficiência em relação a essa estirpe padrão.

Em ensaio realizado por Cardoso (2014) em casa de vegetação, com o objetivo de avaliar a eficiência simbiótica de isolados de nódulos de feijoeiro-comum, verificou que a SEMIA 4080 foi a estirpe que demonstrou a menor eficiência em relação aos parâmetros avaliados em relação às estirpes padrão, sendo que vários dos novos isolados apresentaram uma maior eficiência em relação à essa estirpe.

Cassini & Franco (1998), coloca uma observação que nem sempre as estirpes testadas em casa de vegetação terão o mesmo desempenho em campo, estando esse ponto inteiramente ligado às condições do ambiente. Ferreira et al. (2013) afirmam que o processo da FBN necessita de condições ideais para expressar sua máxima eficiência. Isso porque esse processo ocorre a partir da interação de dois organismos diferentes (bactéria e a planta), e qualquer fator envolvido que provoque redução no desempenho tanto do macro como do microsimbionte irá provocar redução da eficiência da FBN.

Em experimentos conduzido por Brito et al. (2010), com o objetivo de avaliar a resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação com diferentes estirpes de rizóbio; constataram que os tratamentos com uso de inoculantes apresentaram alta produtividade, sendo até mesmo superior ao tratamento com N mineral com 120 Kg ha⁻¹. Mercadante et al. (2006), em experimentos conduzidos em Dourados no estado do Mato Grosso do Sul, obtiveram respostas positivas para a inoculação com as estirpes padrão, quando estudavam a respostas de quatro cultivares de feijoeiro-comum e diferentes doses de N mineral em comparação à inoculação com as estirpes comerciais.

5 CONCLUSÕES

Cerca de 70% dos isolados apresentaram valores iguais ou superiores em relação às estirpes padrão para NN, MSPA, NV, NG e PG no ensaio de campo conduzido em Guapó.

Os isolados NVSG7A7, PCG2A5, UbALG3A5, UbALG7A7, UnPaG8A1 apresentaram valores iguais ou superiores em relação às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 para MSN, MSR, AF, MSPA e PG no ensaio de campo conduzido em Santo Antônio de Goiás.

Os isolados JPrG10A1, JPrG10A6, JPrG11A7, JPrG6A8, JPrG1A1, PCG4A2, UnPaG8A12, UnPaG6A8 e UnPaG8A1 apresentaram valores iguais ou superiores em relação às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 para N, P, K, Ca, Mg, Cu, Mn e Zn no ensaio de campo conduzido em Guapó.

O isolado JPrG10A6 apresentou valores iguais ou superiores em relação às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 para todos os nutrientes avaliados no ensaio de campo conduzido em Santo Antônio de Goiás.

A inoculação com estirpes de rizóbio promoveu ganhos significativos no rendimento de grãos. Cerca de 70% dos isolados apresentaram eficiência relativa de produção de grãos iguais às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088 em Guapó e, em Santo Antônio de Goiás, todos os isolados apresentaram a mesma eficiência que as estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088.

A inoculação com isolados de rizóbio contribuiu de forma significativa para o aumento de rendimento de grãos no feijoeiro-comum, com resultados semelhantes ao tratamento TN e às estirpes SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088, sendo um indicativo de que é possível encontrar isolados mais eficientes no processo da FBN que as estirpes comerciais utilizadas atualmente.

6 REFERÊNCIAS

ALCANTARA, R. M. C.M de. **Fixação biológica de nitrogênio em genótipos ancestrais de feijão- caupi**. 2011.112 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

ARAÚJO, F.F. de; CARMONA, F. G.; TRITAN, C. S.; CRESTE, J. E. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, V. 29, n. 4, p. 535-540, 2007.

ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microrganismo de importância agrícola**. EMBRAPA-SPI, 1994.236p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/199948>. Acessado dia 15 de outubro de 2014.

ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Ontogenetic variations on absorption and utilization of phosphorus in common bean cultivars under biological nitrogen fixation. **Plant Soil**, 225:1-10, 2000.

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

BACKES, R. L.; HEMP, S. A soberania do feijão. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, n. 1, p. 19-21, 2014.

BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.de; MAGALHÃES, W. B.de; MÉDICI, L. O.; PIMENTEL, C. Interação entre inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada de plantio na produtividade do feijoeiro nas épocas da seca e das águas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, V. 34, n. 4, p. 1443-1450, 2013.

BRATTI, A. E.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, C. M.; ZILLI, J. E.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L. de; NEVES, M. C. P. **Levantamento de rizóbios em adubos verdes cultivados em Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 14 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 204). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/81689/1/doc204.pdf> Acesso em: 02 janeiro 2015.

BRITO, R. O.; OTSUBO, A. A.; MERCANTE, F. M.; OSTSUBO, V. H. N. **Inoculação com Rhizobium tropici e adubação nitrogenada em Linhares de feijoeiro do grupo preto**.XXXIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. 2011, MG. Disponível em:

<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/898782/1/Inoculacaobrito.PDF>, Acesso em: 12 de dezembro de 2014

BRITO, L. F. de; PACHECO, R. S.; MOREIRA, L. L.Q; FERREIRA, E. P. de B.; ARAÚJO, A. P.; STRALIOTTO, R. Produção de grãos e de biomassa de duas cultivares de feijoeiro inoculadas com diferentes estirpes de rizóbio. **FertBio**, Guarapari-ES, 2010. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/877634/1/FertBio1356.pdf> Acesso em: 02 de janeiro de 2015.

CARDOSO, A. A. **Caracterização polifásica de isolados bacterianos obtidos de nódulos de feijoeiro-comum**. 2013. 67f. Dissertação (Mestrado em agronomia)- Universidade Federal de Goiás, 2014.

CARVALHO, R. de S. As bactérias dos nódulos das raízes das leguminosas: aula inaugural 1946. **Anais eletrônico da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 3, Piracicaba 1946.

CARVALHO, M. da C. S; NASCENTE, A. S.; FAGERIA, N. K. **Produtividade e balanço de NPK em feijão afetados por níveis de adubação e correção do solo**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br> >Acesso em: 01 de outubro de 2014.

CASSINI, S.T.A.; FRANCO, M.C. Fixação biológica de nitrogênio. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas Gerais**. Viçosa, MG: UFV, 1998. p.153-180.

IBGE. **CENSO AGROPECUÁRIO. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. p. 1-777.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_12_10_08_51_33_boletim_graos_dezembro_2014.pdf. Acesso em: 02 de janeiro de 2015.

CONAB. **Agricultura familiar**. 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1125>. Acesso em: 06 de março de 2015.

COSTA, J. G. C.; VIEIRA, N. R. A. **Qualidade, classificação comercial e manejo pós-colheita**. In: Yokoyama, L. P. e Stone, L. F. Cultura do feijoeiro no Brasil: características da produção. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 51-64, 2000.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; OLIVEIRA, L. A. de; OLIVEIRA, A. N. de. Caracterização fenotípica de rizóbio nativos de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão caupi. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 161-169, 2010.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, G. R. dos; CHAGAS, L. F. B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no cerrado, Gurupi-To. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n.4, p. 709-714, 2010.

DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A.; FERREIRA, E. P. B. **Sistemas de produção orgânico de feijão para agricultores familiares**. Comunicado Técnico 173, Santo Antônio de Goiás, 2009. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/comt_173_000gcqgqwx002wx5ok0rofsmq7piuko6.pdf. Acesso em: 05 de março de 2015.

DÖBEREINER, J.; ANDRADE, V. de O.; BALDANI, V.L.D. **Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 1999. 38p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 110).

DROVAL, A. A.; LIMA, D. P.; HABU, S. **Manual Prático de Microbiologia de Alimentos. Curso de Microbiologia de Alimentos, Manual do Participante**. CEFET/PR – Unidade de Medianeira, 2001.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Silva, F. C. (ed). 2. ed. revisão ampliada - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

EPAGRI. **A cultura do feijão em Santa Catarina**. Florianópolis. In: EPAGRI, 1992.285p.

EVANS, H.J.; BURRIS, R.H. Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years. In: STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J eds. **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992, p. 1-42.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. S.; MELO, L. C. **Resposta de genótipos de feijão à aplicação de cobre**. In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão, 11., 2014, Londrina. Tecnologias para a sustentabilidade da cultura do feijão: anais. Londrina: IAPAR, 2014. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105965/1/184-2.pdf> Acesso em: 07 de janeiro de 2014.

FAGERIA, N. K. Níveis adequados e tóxicos de boro na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 57-62, 2000.

FAGERIA, N. K. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Ambiental**, Campina Grande, v. 2, p. 6-16, 1998.

FAGERIA, N. K.; OLIVEIRA, I. P. de; DUTRA, L. G. **Deficiências nutricionais na cultura do feijoeiro e suas correções**. Goiânia: Embrapa-CNPAF-APA, 1996, 40p.

FERREIRA, E. P. de B.; MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. de C.; ARAÚJO, J. L. S. de; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; ARAÚJO, A. P. Contribuição para melhoria da eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro-comum no Brasil. In: Tópicos em ciência do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**-v. 8 Viçosa, MG, 2013.

FERREIRA, P. A. A, SILVA, M. A.P.; CASSETARI, A.; RUFINI, M.; MOREIRA, F. M. de S.; ANDRADE, M. J. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n.7, p.2210-2212, 2009.

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

FERREIRA, P. A. A. **Eficiência simbiótica de estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijoeiro e sua tolerância a acidez e alumínio “in vitro”**- 50f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Lavras, 2008.

FERREIRA, M. M. R.; ARF, O.; GITTI, D. de C.; FERREIRA, L. H. Z.; SILVA, J. C. da. Reguladores vegetais e nitrogênio em cobertura em feijoeiro de inverno no sistema de plantio direto. **Revista Agrarian**, Dourados, v.6, N.21, p.268-280,2013.

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

GOEDERT, W.J.; OLIVEIRA, S.A. Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F. de; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 991-1017.

GONÇALVES, L. B.; MANDUCA, M. A.; MERCANTE, F. M. **Seleção preliminar de estirpes de rizóbios para inoculação em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2º Seminário de Agroecologia de Mato Grosso do Sul, Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados-MS, 2008. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/66227/1/31297.pdf> Acesso em: 03 de janeiro de 2015.

CHAGAS JUNIOR, A. F. C, Oliveira, L. A. de.; Oliveira, A. N. de. Caracterização fenotípica de rizóbio nativos isolados de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão caupi. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringa, v. 32, n. 1, p. 161-169, 2010

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 3. ed. UFRGS. Porto Alegre, 2005. 653p.

GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C. **Phosphorus fertilization and symbiotic nitrogen fixation in common bean**. 1979. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/71/6/AJ0710060925> Acesso em: 03 de janeiro de 2015.

GRISA, C. “Plantar pro gasto”: a importância do autoconsumo entre famílias de agricultores do Rio Grande do Sul. **Revista de Economia e Sociologia Rural**. V. 46, n. 2, p 481-515. Brasília, 2008.

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

HUGRIA, M., CAMPO, R. J., MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja. 2001. 48 p.(Circular Técnica/Embrapa Soja, ISSN 1516-7860; n.35).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Embrapa Soja, Londrina, PR 2007. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/468512>. Acessado dia 20 de outubro de 2014.

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

Hungria, M. ; M. I. C.; MERCADANTE, F. M. **Tecnologia de fixação biológica de nitrogênio com o feijoeiro: viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas**. Londrina: Embrapa Soja, 2013 (Documentos / Embrapa Soja, n.338).

IAPAR. **O feijão no Paraná**. IAPAR. 1989. 303p.

JUNIOR REIS, F. B .de.; MENDES, I de. C.; REIS, V. M.; HUNGRIA, M. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE. S. R. M de. JUNIOR REIS, F. B dos.(Ed). **Biotecnologia estado da arte e aplicações na agropecuária**. 1. ed. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2011, cap. 9, p. 247-282.

KANEKO, F. H.; ARF, O.; GITTI, D. de C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; BUZETTI, S. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, V. 69, n. 1, p. 125-133, 2010.

KAMPFER, P. Differentiation of *Brevibacterium* species by electrophoretic protein patterns. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 17, p. 533-535, 1995.

LEAL, R. M.; PRADO, R. de M. Desordens nutricionais no feijoeiro por deficiência de macronutrientes, boro e zinco. **Revista Brasileira Agrária**, Recife, v. 3, n. 4, p. 567-580,2008.

LEITE, J. **Caracterização de bactérias nativas de solos do semiárido brasileiro isoladas de nódulos de feijão-caupi**. 2011. 51f. Dissertação (Mestrado em agronomia)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2011.

LEITE, J. R.; MEDINA, J. M. J.; CAMPOS, A. N. R. Isolamento de bactérias fixadoras de nitrogênio para inoculação de espécies leguminosas. **Cadernos de Agroecologia**. V. 8, Nº 2, Porto Alegre, 2013.

- LI-COR. LI 3100. **Area meter instruction manual**, LICOR, Lincoln, NE. 1996.
- LOVATO, P.E.; PEREIRA, J.C.; VIDOR, C. Flutuação populacional de estirpes de *Rhizobium phaseoli* na rizosfera de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 9, p. 211-218, 1985.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.
- MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.; BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio**: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1999. 24 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 91).
- MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de “rizóbio”. **Embrapa, Dez. 1997. 14p. (Embrapa-CNPAB. Comunicado Técnico, 19).**
- MENDES, I de. C.; JUNIOR REIS, F. B.; HUNGRIA, M. 20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio. **1 ed. Planaltina-DF. Embrapa Cerrados, 2010.**
- MENDES, I. C.; REIS JÚNIOR, F. B.; MORAES, C. B.; HUNGRIA, M. **Inoculação do feijoeiro em Unaí, MG**: cartilha para o produtor rural. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 16 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 175).
- MERCADANTE, F. M.; OTSUBO, A. A.; LAMAS, F. M. **Inoculação de *Rhizobium tropici* e aplicação de adubo nitrogenado na cultura do feijoeiro**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DE SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27. Bonito, MS. Fertbio 2006: Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/66206/1/32002.pdf> Acesso em: 06 de janeiro de 2015.
- MESQUITA, F. R.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P DE.; LIMA, R. A. Z.; BARCOSA, A. F. Linhagens de feijão (*phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade proteica. **Ciência e Agrotecnologia**. V. 31, n. 4, Agosto de 2007.
- MOREIRA, J. A. A; STONE, L. F; BIAVA, M. Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa responde. In: **Embrapa Informação Tecnológica.Brasília**, p. 203. 2003. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80319/1/500P-Feijao-ed01-2003.pdf>. Acesso em: 20 maio de 2014.
- MOREIRA, F.M.S., SIQUEIRA, J.O. 2006. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2a ed. UFLA, Lavras, Brasil. 729 p.
- MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F.L.; DIAS, B.G.; VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolous vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, 73, n. 2, 121-132, 2001.
- MOSQUEIRA, C. A.; BARAÚNA, A. C.; HUNGRIA, M.; ZILLI, J. É.; SILVA, K. da. **Caracterização genética de rizóbios capazes de nodular feijão-caupi isolados de solos**

do estado de Roraima. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Florianópolis.:SBCS,2013.

NOGUEIRA, C. de O. G. **Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade das populações nativas que nodulam o feijoeiro-comum em Formiga-MG.** 2005.65f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, 2005.

NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017 p.

OGUNSEITAN, O. Microbial Diversity – Form and Function in Prokaryotes. Blackwell Publishing, **Oxford**, 2005, 292 p.

OLIVEIRA, D. P.; **Adubação nitrogenada, inoculação com estirpes de rizóbio e tratamentos fungicidas de sementes em feijoeiro-comum cv. BRSMG Madrepérola.**2013, 180 f.Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal de Lavras, 2013.

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

PERES, J.R.R.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C.; VARGAS, M. A. T. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 415-420, 1994.

PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J. G. M.; CECON, P. R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, nº 1, p 35-40, 2004.

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

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais.** São Paulo. Editora Nobel. 1999.549p.

REBESCHINI, A. C. **Feijoeiro inoculado com *Rhizobium tropici* associado à aplicação de nitrogênio em cobertura.** 2012.49f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade do Oeste Paulista, 2012.

ROMANINI JUNIOR, A.; ARF, O.; BINOTTI, F. F. da S.; SÁ, E. de; BUZETTI, S.; FERNANDES, F. A. Avaliação da inoculação de rizóbio e adubação nitrogenada no desenvolvimento do feijoeiro, sob sistema plantio direto. **Biosci. J**, v. 23, n4, p.74-82, Uberlândia, 2007.

SAMPAIO, F. B. **Isolados de rizóbios capturados por genótipos silvestres de feijoeiro: obtenção, morfologia e uso de fontes de carbono**. 2013, 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Goiás, 2013.

SILVA, O. F. da.; WANDER, A. E. **O feijão-comum no Brasil passado, presente e futuro**. Santo Antônio de Goiás, 2013. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/89747/1/seriedocumentos-287.pdf>. Acesso em: 30 de outubro de 2014.

SILVA JUNIOR, C. da; SASSON, S. **Biologia- genética, evolução e ecologia**. 7º ed. São Paulo. Editora Saraiva. 2005.480p.

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

SCHNEIDER, C. The câncer prevention properties of beans. **CSA News**. August 2014.

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

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

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. 524p. Planaltina-DF.

VIDEIRA, S.S.; ARAÚJO, J. L. S.; BALDANI, V. L. D. **Metodologia para isolamento e posicionamento taxonômico de bactérias diazotróficas oriundas de plantas não-leguminosas**. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia. 2007. IV. Título. V. Série. Rio de Janeiro.

VARGAS, M., A., T.; MENDES, I., C.; CARVALHO, A., M.; LOBO-BURLE, M.; HUNGRIA, M. **Inoculação de leguminosas e manejo de adubos verdes**. In: SOUZA, D., M., G. & LOBATO, E. (Ed.). Cerrado: correção do solo e adubação. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002, 416p.

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 Amazônica**, v. 39, n. 4, p. 749-758, 2009

7 ANEXOS

Anexo A- Características morfológicas dos isolados de rizóbios de solos de Goiás, Minas Gerais, Paraná e estirpes padrão.

Bactérias	VC	pH	DC	AC	FC	CC	OC	QM	EM	CM
JPrG10A1	Normal	Neutro	>2	Homogênea	Circular	Amarela	Opaca	Pouco	Pouca	Leitoso
JPrG10A6	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Irregular	Amarela	Opaca	Pouco	Pouca	Aquoso
JPrG8A3	Normal	Ácido	>2	Homogênea	Circular	Creme	Opaca	Muito	Pouca	Leitoso
JPrG11A7	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Irregular	Amarela	Opaca	Médio	Média	Aquoso
JPrG1A1	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Irregular	Creme	Opaca	Muito pouco	Pouca	Floculoso
JPrG6A8	Normal	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso
JPrG8A7	Normal	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Muito	Pouca	Leitoso
NVSG7A7	Normal	Ácido	>2	Homogênea	Circular	Creme	Opaca	Pouco	Pouca	Leitoso
NVSG2A2	Normal	Neutro	1-2	Homogênea	Circular	Abóbora	Opaca	Muito pouco	Pouca	Seco
UbALG3A5	Rápida	Ácido	>2	Homogênea	Circular	Creme	Opaca	Médio	Média	Leitoso
UbALG7A7	Normal	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso
UnPaG8A1	Rápida	Ácido	1-2	Homogênea	Circular	Creme	Translúcida	Pouco	Pouca	Aquoso
UnPaG6A8	Normal	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Translúcida	Muito	Pouca	Leitoso
ALSG5A4	Normal	Ácido	1-2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso
UnPaG8A12	Normal	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Creme	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso
PCG2A5	Normal	Ácido	>2	Homogênea	Irregular	Creme	Opaca	Muito	Pouca	Leitoso
PCG4A2	Normal	Ácido	>2	Homogênea	Irregular	Creme	Opaca	Muito	Pouca	Leitoso
SEMIA4077	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Aquoso
SEMIA4080	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso
SEMIA4088	Rápida	Ácido	>2	Heterogênea	Circular	Amarela	Opaca	Médio	Pouca	Leitoso

Fonte: Sampaio (2013).

Nota: VC- velocidade de crescimento; DC- diâmetro da colônia (mm); AC- aspecto da colônia; CC- cor da colônia; OC- óptica da colônia; QM- quantidade de muco; EM- Elasticidade do muco; CM- consistência do muco.

Anexo B- Crescimento em diferentes fontes de carbono dos isolados de rizóbios de solos de Goiás e estirpes padrão.

Bactérias	Fontes de carbono									
	S	G	AM	Ame	NA	I	S	A	F	Gl
JPrG10A1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JPrG10A6	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
JPrG8A7	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
JPrG11A7	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
JPrG1A1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
JPrG6A8	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
JPrG8A3	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
NVSG2A2	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
NVSG7A7	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
UnPaG8A12	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
UnPaG8A1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
UnPaG6A8	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
UbAlG3A5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UbAlG7A7	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
ALSG5A4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PCG2A5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
PCG4A2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
SEMIA4077	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
SEMIA4080	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SEMIA4088	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fonte: Sampaio (2013).

Nota: (+) Crescimento; (-) Ausência de crescimento. (S) sacarose, (G) glicose, (AM) ácido málico, (AMe) ácido maleico, (AN) ácido nicotínico, (I) inositol, (S) sorbitol, (A) arabinose, (F) frutose, (Gl) glicerol.

Anexo C- Avaliação da tolerância à salinidade e temperatura de isolados bacterianos obtida de nódulos de feijoeiro-comum

Bactérias	Temperatura 28°C					Temperatura 33°C					Temperatura 38°C					Temperatura 43°C				Temperatura 48°C			
	Concentrações (% NaCl)					Concentrações (% NaCl)					Concentrações (% NaCl)					Concentrações (% NaCl)				Concentrações (% NaCl)			
	0	1	2	4	6	0	1	2	4	6	0	1	2	4	6	0	1	2	4	0	1	2	4
JPrG11A7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JPrG1A1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
JPrG10A1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
UnPaG8A7	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
JPrG10A6	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
UbALG7A7	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
UnPaG8A1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
UbALG3A5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
JPrG6A8	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ALSG5A4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
SEMIA 4080	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
JPrG8A3	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCG4A2	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
NVSG7A7	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
UnPaG8A12	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
SEMIA 4077	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SEMIA 4088	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NVSG2A2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCG2A5	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
JPrG8A7	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Cardoso (2014).

Nota: (+) presença de crescimento; (-) ausência de crescimento; (na) não avaliado.

Anexo D- Soluções e meios utilizados

Meio de Cultura 79 Básico

Este meio é utilizado para o crescimento de *Rhizobium*, porém se for para crescimento lento usar Manitol como fonte de Carbono. E para crescimento rápido usar Açúcar Cristal como fonte de Carbono.

Material Necessário

Reagentes e soluções

- Ácido Sulfúrico a 5% 4,
- Açúcar Cristal ou Manitol,
- Agar,
- Azul de Bromotimol a 0,5 % em 0,2 N de KOH P/V4,
- Cloreto de Sódio a 10% P/V4,
- Extrato de Levedura5,
- Fosfato de Potássio Dibásico a 10% P/V4,
- Fosfato de Potássio Monobásico a 10% P/V4,
- Hidróxido de Potássio a 10% P/V4,
- Sulfato de Magnésio Heptahidratado a 10% P/V4.

Nota: Os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água deve ser destilada ou desmineralizada.

Equipamentos e vidraria

- Algodão,
- Balão de fundo chato ou erlenmeyer de 1000 ml,
- Erlenmeyer de 125 ml,
- Espátulas,
- Mamadeiras,
- Papel alumínio,
- Pipetas sorológicas (1, 2, 4 e 5 ml),
- Proveta de 1000 ml.

Procedimento

- Adicionar aproximadamente 500 ml de água destilada em um balão de fundo

chato ou erlenmeyer de 1000 ml e adicionar os reagentes abaixo relacionados, na ordem que se apresentam, agitando levemente entre uma adição e outra:

- 10 g de Açúcar Cristal ou Manitol
- 1 ml de solução de Fosfato de Potássio Dibásico
- 4 ml de solução de Fosfato de Potássio Monobásico
- 2 ml de solução de Sulfato de Magnésio Heptahidratado
- 1 ml de solução de Cloreto de Sódio
- 0,4 g Extrato de Levedura ou 100 ml de Extrato Líquido de Levedura⁵
- 5 ml de Solução de Azul de Bromotimol
- Transferir para a proveta e completar o volume a 1000 ml com água destilada,
- Retornar para o balão e ajustar o pH para 6,8-7,0 com solução de KOH a 10% e/ou H₂SO₄ a 5%,
- Adicionar agar, nas seguintes quantidades:
- 1 g por litro para meio semi-sólido:
- Distribuir no erlenmeyer, vedar com rolhas de algodão e cobrir com papel alumínio.
- 15 g por litro para meio sólido:
- Distribuir o meio de cultura nas mamadeiras, vedar com rolhas de algodão e cobrir com papel alumínio
- Autoclavar o material preparado por 30 minutos a 120° C.
- Deixar esfriar e reservar para uso em local adequado.