

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**INTERAÇÃO ENTRE INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA DE PLANTIO, NA PRODUTIVIDADE DO  
FEIJOEIRO COMUM.**

**Rodrigo Luiz Neves Barros**

**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**INTERAÇÃO ENTRE INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA DE PLANTIO, NA PRODUTIVIDADE DO  
FEIJOEIRO COMUM.**

**RODRIGO LUIZ NEVES BARROS**

Sob a Orientação do Professor  
**Carlos Pimentel**

e Co-orientação do Professor  
**Leonardo Oliveira Médici**

Dissertação submetida como Requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de Concentração em Fisiologia da Produção.

Seropédica, RJ  
Fevereiro, 2013

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

**RODRIGO LUIZ NEVES BARROS**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia área de Concentração em Fisiologia da Produção.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM:    /    /    /

---

Carlos Pimentel (Dr.) UFRRJ  
(Orientador)

---

Jerri Édson Zilli (Dr.) CNPAB-EMBRAPA

---

Jorge Jacob Neto (Dr.) UFRRJ

## DEDICATÓRIA

À minha mãe Amanda ao meu pai Áureo e a os meus irmãos Antonio e Fernanda, dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o princípio supremo, a fonte da infinita vida, do amor e do movimento que rege o universo no qual fazemos parte. Por dar oportunidade de usufruir o bem que é viver.

Aos meus pais que sempre me apoiaram e me incentivaram a trilhar pelo caminho do bem.

Ao orientador Carlos Pimentel pela dedicação, contribuindo a cada dia pelo aprimoramento do trabalho.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro UFRRJ, especialmente ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade concedida para a realização do Curso de Mestrado.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudo para realização do Mestrado.

Aos companheiros de laboratório Josimar, Leandro, Otávio e Welliton pela ajuda na condução dos experimentos no campo.

Ao técnico do laboratório Marcos pela condução das análises laboratoriais.

Aos professores do Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Instituto de Agronomia.

Aos meus amigos que sempre estiveram me apoiando nos momentos mais difíceis.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para que eu pudesse concluir essa dissertação.

“Segue teu destino, rega tuas plantas, ama as tuas rosas. O resto é sombra de árvores alheias. Vê de longe a vida. Nunca a interrogues. Ela nada pode dizer-te. A resposta está além dos Deuses.”

Fernando Pessoa

## RESUMO

BARROS, Rodrigo Luiz Neves. **Interação entre inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada de plantio, na produtividade do feijoeiro comum.** 2013. 47p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da interação entre a inoculação com rizóbio e a adubação nitrogenada de semeadura no feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris L.*). O trabalho foi constituído de dois experimentos de campo com a cultivar Carioca, no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, setor de Horticultura, na cidade de Seropédica-Rj, no ano de 2012. O primeiro na época da seca teve três tratamentos: inoculação e adubação nitrogenada (N) na semeadura (20 kg ha<sup>-1</sup> de N), apenas a inoculação na semeadura, e apenas a adubação nitrogenada na semeadura (20 kg ha<sup>-1</sup> de N). No segundo, na época das águas, foi incluído um tratamento adicional, em que não foi adicionado adubo nitrogenado e nem inoculante na semeadura. Aos 25 dias após a semeadura (DAS), como recomendado por Vieira et al. (2008), todos os tratamentos receberam adubação de cobertura com 40 kg ha<sup>-1</sup> de N. No estágio de polinização, avaliou-se a massa seca de parte aérea e raiz, e o número e massa seca de nódulos. Em ambos os ensaios, obteve-se maior massa seca de parte aérea no tratamento adubado e inoculado, sendo o número e massa seca de nódulos similares ao tratamento só inoculado. Na maturação, nas duas épocas, o maior número de vagens por planta, grãos por vagem e produtividade de grãos, foram obtidos no tratamento adubado e inoculado, sendo que os tratamentos só inoculado e só adubado não diferiram significativamente, e o tratamento testemunha manteve-se inferior aos demais em todos os componentes analisados. A produtividade obtida na época das águas foi menor que na época da seca devido as altas temperaturas observadas no estágio de florescimento. Além disto, nos dois experimentos foram realizadas coletas de tecido foliar para determinação do teor de proteínas solúveis, em quatro estádios de desenvolvimento (antes da adubação de cobertura, polinização, florescimento pleno e enchimento das vagens), sendo observados os valores mais elevados no estágio de florescimento pleno. Na época das águas, o tratamento adubado e inoculado foi significativamente superior ao tratamento só inoculado tanto aos 20 DAS quanto no florescimento, em relação ao teor de proteína solúvel no tecido foliar, o que pode estar relacionado à maior atividade fotossintética e maior crescimento, que houve neste tratamento. Portanto, a inoculação de rizóbios na semeadura, pode substituir a adubação nitrogenada com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura sem perda de produtividade. Além disto, a inoculação com rizóbios, acrescida da adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio, não inibiu a nodulação e propiciou acréscimo de produtividade.

**Palavras-chave:** Nodulação, *Phaseolus vulgaris L.*, *Rhizobium*.

## ABSTRACT

BARROS, Rodrigo Luiz Neves. **Interaction between *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization at planting, on yield of common bean.** 2013. 47p. Dissertation (Master Science in Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The aim of this work was to evaluate the effect of the interaction between *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization at sowing in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The study was constituted of two field experiments with the cultivar Carioca, on the campus at the University Federal Rural do Rio de Janeiro, Horticulture sector, in the city of Seropédica-Rj, in the year 2012. The first, in the dry season, had three treatments: inoculation and nitrogen (N) fertilized at sowing (20 kg N ha<sup>-1</sup>), only inoculation at sowing, and only N fertilized at sowing (20 kg N ha<sup>-1</sup>). In the second, in the rainy season, it was included an additional treatment without the use of nitrogen fertilizer at sowing or inoculation. At 25 days after sowing (DAS), as recommended by Vieira (1998), all treatments have received a complementary fertilization with 40 kg ha<sup>-1</sup> N. At the pollination stage, It was evaluated the dry weight of shoot and root, and the number and dry weight of nodules. For both essays, it was obtained a higher dry weight of shoot in the fertilized and inoculated treatment, and the number and dry weight of nodules were similar to the treatment only inoculated. At maturity, in both seasons, the highest number of pods per plant, seeds per pod and grain yield the highest, were obtained in the treatment fertilized and inoculated, and inoculated treatments only and only fertilized did not differ significantly, but treatment of control was lower all components analyzed. The yield obtained in the rainy season was lower than in the dry season because the high temperatures at the flowering stage. In addition, for both experiments, leaf tissue was collected for determination of soluble proteins, in four developmental stages (before fertilization at 25 DAS, pollination, flowering and grain filling), with the highest values observed at the flowering stage. At the rainy season, the fertilized and inoculated treatment had higher leaf soluble protein content than the only inoculated treatment at 20 DAS and at flowering stages, which can increase photosynthetic activity and the higher growth obtained in this treatment. Therefore, the inoculation of rhizobia at sowing can replace nitrogen fertilization with 20 kg N ha<sup>-1</sup> at sowing without loss of productivity. Furthermore, the inoculation with rhizobia, added fertilization with 20 kg N ha<sup>-1</sup> at sowing, did not inhibit nodulation and propitiated increased productivity.

**Keywords:** Nodulation, *Phaseolus vulgaris* L., *Rhizobium*.



## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Número de nódulos planta<sup>-1</sup> (ND P<sup>-1</sup>), massa seca de nódulos planta<sup>-1</sup> (MSN P<sup>-1</sup>), massa seca da parte aérea planta<sup>-1</sup> (MSPA P<sup>-1</sup>) e massa seca de raiz planta<sup>-1</sup> (MSR P<sup>-1</sup>), do feijoeiro comum cultivar carioca, nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca; acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação, na época das águas .....23

**Tabela 2** - Teor de proteína solúvel (mg de proteína solúvel g<sup>-1</sup> de massa fresca foliar) nas folhas do feijoeiro comum cultivar carioca nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca, acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação na época das águas .....25

**Tabela 3** - Número de vagens.planta<sup>-1</sup>, grãos.vagem<sup>-1</sup>; peso de 100 grãos e produtividade de grãos (Kg ha<sup>-1</sup>), do feijoeiro comum cultivar carioca, nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca; acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação, na época das águas.....28

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Processo de infecção celular, adaptado de Taiz; Zeiger, 2009 .....	12
<b>Figura 2:</b> Tipos de nódulos em leguminosas, adaptado de Cordeiro, 2004.....	13

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Objetivo .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Hipóteses.....</b>	<b>3</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 A Cultura do Feijoeiro .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Importância econômica.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 Adubos Nitrogenados .....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Fixação Biológica do Nitrogênio.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.1 Fixação biológica do nitrogênio no feijoeiro .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.3 Interação entre a adubação nitrogenada e a fixação biológica de nitrogênio.....</b>	<b>18</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Caracterização da Área Experimental e do Clima.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Delineamento Experimental, Tratamentos e Manejo Cultural.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Determinações e Análise Estatística.....</b>	<b>22</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>31</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) é a principal leguminosa cultivada diretamente para o consumo humano em todo o mundo (MIKLAS et al., 2006). Sendo considerada a mais importante fonte de proteínas para as populações de baixa renda, na América Latina e também no Sul e Oeste da África (CARDOSO et al., 2012). Seu desenvolvimento econômico pode está limitado em parte, pela grande variabilidade de produtividade da cultura (ALKAMA et al., 2012). Grande parte da produção de feijão comum está concentrada em pequenas propriedades, variando de 1 a 10 ha, geralmente em áreas marginais para a agricultura, com baixo teor de nitrogênio (N) no solo (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003), e sendo cultivado por agricultores pobres em recursos e sem o uso de uma correta fertilização, devido ao alto custo dos fertilizantes (BROUGHTON et al., 2003). Dentro do contexto de agricultura com baixo uso de insumos, destaca-se a necessidade do desenvolvimento de tecnologias de baixo custo capazes de melhorar os níveis de produtividade dos pequenos agricultores para a produção desta leguminosa tão importante para a sua subsistência (GRANGE et al., 2007). Sendo assim, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) segue como uma alternativa para redução do uso dos adubos nitrogenados pelo nitrogênio proveniente da fixação biológica, a um baixo custo (FUSTEC et al., 2010).

Assim como a maioria das leguminosas, o feijão pode se beneficiar da FBN por meio de uma relação simbiótica com rizóbios fixadores de nitrogênio (MULAS et al., 2011; CARDOSO et al., 2012). O suprimento de N em quantidades adequadas por meio da FBN pode aumentar a produtividade da cultura a um baixo custo, visto que um alto conteúdo de N nas folhas significa um possível aumento no crescimento e rendimento, uma vez que mais de 50% do teor de N na folha é a proteína solúvel Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase /oxigenase (Rubisco), enzima responsável pela fixação do CO<sub>2</sub> e síntese de carboidratos, que por sua vez permite acúmulo de matéria seca (LONG et al., 2006). Se as plantas possuem elevado teor de proteínas nas folhas, na fase de florescimento, quando a fotossíntese é máxima, elas têm um alto potencial de rendimento (PIMENTEL et al., 1999a, b).

O nitrogênio é o macronutriente absorvido em maior quantidade pela cultura do feijoeiro e sua disponibilidade tem influência significativa na produtividade (SILVA et

al., 2000). Por isto, o manejo adequado da adubação nitrogenada representa uma das principais dificuldades na cultura do feijoeiro, visto que a aplicação em quantidade insuficiente pode limitar o seu potencial produtivo, mesmo que outros fatores de produção estejam otimizados; e a sua utilização em doses excessivas, além de aumentar o custo econômico, pode promover riscos ao ambiente (SANTOS et al., 2003). Contudo, esta cultura pode obter parte do nitrogênio necessário ao seu crescimento por meio da associação simbiótica com bactérias do grupo rizóbio, que utilizam o N<sub>2</sub> atmosférico, por meio da ação do complexo enzimático nitrogenase, presente nos bacterióides dos nódulos formados (GRAHAN; VANCE, 2000).

O rizóbio, em um sistema de simbiose, utiliza os carboidratos provenientes da fotossíntese da planta hospedeira para sua manutenção e promover o processo de FBN; e por outro lado, a planta se beneficia do nitrogênio fixado pela bactéria (STRALIOTTO, 2002). Assim, a associação do feijoeiro com espécies de bactérias do grupo dos rizóbios, principalmente *Rhizobium tropici*, é uma tecnologia capaz de substituir a adubação nitrogenada, reduzindo o custo de produção em cultivo de subsistência (GRANGE et al., 2007). Por outro lado, o nitrogênio no solo é um nutriente cuja presença ou ausência afeta a simbiose de várias formas (VIEIRA; TSAI; TEXEIRA, 2005). Em excesso, o fertilizante nitrogenado pode causar redução da eficiência simbiótica, porém, quando aplicado em pequenas quantidades, na semeadura da cultura do feijoeiro, permite um aumento no crescimento dos nódulos e maior FBN, sendo que o teor muito baixo de N no solo pode até ser limitante à atividade simbiótica (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003). Contudo, estudos realizados por Voisin et al. (2003) mostraram que a adição de nitrato em solução nutritiva, em doses inibitórias para a FBN da ervilha, diminuiu a massa seca dos nódulos, porém a atividade específica da nitrogenase se manteve.

O estudo sobre a interação nitrogênio mineral e inoculação com rizóbios para o feijoeiro, com doses de nitrogênio normalmente aplicadas (VIEIRA; TSAI; TEXEIRA, 2005), poderá contribuir para o aumento da eficiência de uso de nutrientes e produtividade na cultura.

## **1.2 Objetivo**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da interação entre a inoculação com rizóbio e a adubação nitrogenada de semeadura, na produtividade da cultura do feijoeiro comum, em comparação com plantas apenas inoculadas com o rizóbio ou apenas recebendo adubação de semeadura, nas épocas da seca e das águas. Além disto, avaliou-se o acúmulo de proteínas solúveis totais no tecido foliar em diferentes estádios do desenvolvimento fenológicos nos tratamentos estudados, na época da seca e das águas.

## **1.3 Hipóteses**

- A FBN em feijoeiro é capaz de suprir a demanda de nitrogênio para o desenvolvimento inicial da cultura, garantindo produtividade satisfatória.
- A utilização de 20 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante nitrogenado, no plantio do feijoeiro, não interfere na simbiose com bactérias diazotróficas, mantendo o potencial de FBN na cultura.
- O uso da inoculação das sementes e adubação nitrogenada no plantio promove aumento na produtividade de grãos da cultura.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A Cultura do Feijoeiro

Evidências arqueológicas indicam que o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) foi uma das primeiras plantas cultivadas nas Américas, tendo sua domesticação estimada para 5000 anos a.C., no México e no Peru a cerca de 3000 a.C., pouco antes da domesticação do milho nestas regiões (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

Atualmente, aceita-se que o feijão comum teve dois centros principais de domesticação e um terceiro de menor expressão. O primeiro localiza-se na região central das Américas, principalmente no México, e onde se originou a maioria dos cultivares de grãos pequenos, como o “Carioca”. O segundo localiza-se no sul dos Andes, principalmente no norte da Argentina e no sul do Peru, de onde se originaram os cultivares de sementes grandes, semelhante ao cultivar Jalo. A terceira área de domesticação, provavelmente intermediária entre as duas primeiras, situa-se na Colômbia, o que tem sido possível afirmar depois de vários estudos feitos com a faseolina, a principal proteína de reserva da semente do feijão (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

O feijoeiro é uma planta pertencente à ordem Rosales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae, subtribo phaseolineae, gênero *Phaseolus* L. e espécie *Phaseolus vulgaris* L., originou-se nas Américas, possui cerca de 55 espécies, das quais 5 são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* e *P. polyanthus* G. (SANTOS; GAVILANES, 2006). Entre elas, o feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L., é o mais importante, por ser a espécie mais cultivada, mais antiga e atualmente a mais utilizada nos cinco continentes (ARAÚJO et al., 1996).

O feijoeiro é uma planta herbácea de hábito de crescimento determinado (ereto, terminando em inflorescência) ou indeterminado (nunca termina em inflorescência). A sua reprodução se dá por autofecundação, devido ao mecanismo de cleistogamia, com apenas 5% de fecundação cruzada (CIAT, 1974). O ciclo biológico da planta do feijoeiro é dividido nas fases vegetativa e reprodutiva (FERNÁNDEZ et al., 1985). Estas fases por sua vez, são subdivididas em dez etapas. A fase vegetativa (V) é constituída das etapas V0 a V4 e a reprodutiva (R), das etapas R5 a R9. Quando a semente é colocada em condição de germinar, começa o período vegetativo, que continua até o aparecimento do primeiro botão floral nos cultivares de hábito de

crescimento determinados, ou da primeira inflorescência, nos cultivares de hábito indeterminados (SANTOS; GAVILANES, 2006).

No Brasil os genótipos mais cultivados de feijão comum são do tipo *Phaseolus vulgaris* var. *mexicanus*, com centro de origem no México, grãos pequenos, proteína phaseolina tipo “T” e adaptados a temperaturas mais elevadas (NORMAN et al., 1995). A maioria dos cultivares, utilizadas no Brasil apresenta teores de proteína de 20 a 25% (BORÉN; CARNEIRO, 2006), e sob condições ambientais normais, completam seu ciclo em 70-85 dias (FAGERIA et al., 1991). O feijão tipo carioca, até a década de 1970, possuía um mercado muito restrito no país, mas atualmente é o tipo mais cultivado e consumido no país, apresentando grãos de coloração creme com rajadas marrons, peso de 100 grãos variando de 23 a 25 gramas, hábito de crescimento indeterminado e ciclo de aproximadamente 90 dias (ALMEIDA et al., 1971; RAMALHO; ABREU; CARNEIRO, 2004; RAMALHO; ABREU, 2006).

Embora o feijoeiro comum geralmente não se adapte bem aos trópicos úmidos, ele se desenvolve bem em áreas com chuvas regulares, desde os trópicos até zonas temperadas (SCHOONHOVEN; VOYSEST, 1991), numa faixa de temperatura de 18 a 30 °C, sendo que acima deste limite ocorrem danos à produção, desde queda de flores até o abortamento das vagens, pois os efeitos das altas temperaturas podem ser confundidos com os de deficiência hídrica. Quando há disponibilidade de água, a temperatura elevada provoca abortamento de flores e vagens, além da predominância do crescimento vegetativo em detrimento do crescimento reprodutivo (AIDAR et al., 2002).

Assim como a maioria das leguminosas, o feijão pode se beneficiar da FBN por meio de uma relação simbiótica com rizóbios fixadores de nitrogênio (PINTO; HUNGRIA; MERCANTE, 2007; MULAS et al., 2011; CARDOSO et al., 2012;). Porém a FBN no feijoeiro não é capaz de prover todas as suas exigências, para obtenção de elevada produtividade, sendo necessária a adição de fertilizante nitrogenado, objetivo principalmente a complementação das exigências de nitrogênio pelas plantas que não foram supridas pelo N-inorgânico do solo ou pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico.



### 2.1.2 Importância econômica

O grão de feijão é um importante constituinte na dieta da população brasileira em função de sua proteína rica em aminoácido essencial lisina, porém pobre nos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína, essenciais ao homem (BORÉN; CARNEIRO, 2006). Isto exige uma parceria com cereais, pois estes são pobres em lisina, mais ricos em aminoácidos sulfurados, o que torna a tradicional dieta brasileira, o arroz com feijão complementar em termos de aminoácidos essenciais, sendo considerada por especialistas de excelente valor nutritivo. Além da importância do feijão na alimentação da população brasileira e mundial, a cadeia de produção, beneficiamento e comercialização, gera emprego e renda, principalmente para a classe menos privilegiada (FACHINI et al., 2006).

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão comum, que se constitui no alimento protéico básico na dieta do brasileiro. O consumidor é regionalmente exigente quanto à cor e o tipo de grão, além da qualidade culinária, sendo que, atualmente, cerca de 70% do consumo é de grãos tipo carioca, 20% de grãos do tipo preto e 10% de outros tipos de grãos, produzidos, principalmente, nos Estados das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (DEL; MELO, 2005). O feijão comum, com denominações diferentes, pode ser cultivado em três épocas distintas de semeadura: feijão de 1ª época ou “feijão das águas”, cultivo de primavera-verão; feijão de 2ª época ou “feijão da seca”, cultivo de verão-outono; e o feijão de 3ª época ou “feijão de inverno”, cultivo de outono-inverno. Os cultivos do feijão de 1ª e 2ª épocas correspondem a mais de 80% da produção nacional (KLUTHCOUSKI; AIDAR; THUNG, 2007).

Considerando todos os gêneros e espécies de *Phaseolus*, estatísticas da FAO publicadas em 2010, evidenciaram que a produção mundial de feijão situa-se ao redor de 19,7 milhões de toneladas, ocupando uma área de 25,2 milhões de hectares. A Ásia responde por (42,8%) do consumo mundial, seguido das Américas 37,9%, África (17,2%), Europa (1,9%) e Oceania (0,2%). Os países em desenvolvimento são responsáveis por 86,7% do consumo mundial. Aproximadamente 66% da produção mundial foi proveniente de sete países, sendo o Brasil o maior produtor, responsável por 17% da produção mundial (FAOSTAT, 2010).

O Brasil produziu na safra de 2011/2012, cerca de 2,915 milhões de toneladas de grãos de feijão comum, em uma área 3,261 milhões de hectares, com produtividade média de 894 kg ha<sup>-1</sup>, contudo em áreas irrigadas a produtividade pode alcançar 3000 kg

ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012), existindo cultivares com potencial produtivo acima de 4000 Kg ha<sup>-1</sup> (FILHO et al., 2007).

A produção de feijões no Brasil tem crescido ao longo dos anos, embora quedas de produção em determinados anos (2000, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006 e 2009) tenham ocasionado um desbalanço entre consumo e produção. O déficit foi compensado com importações e uso de estoques que, juntamente com a produção no ano formam o suprimento anual (CONAB, 2010). A safra 2011/2012 foi a menor dos últimos dez anos, ocasionando um quadro de oferta bastante ajustado. O mercado está sendo abastecido com produto dos estoques remanescentes da terceira safra e de uma pequena quantidade importada da Argentina, China e Bolívia (CONAB, 2012).

No estado do Rio de Janeiro, o cultivo e a colheita do feijoeiro se concentram em duas safras. O feijoeiro das águas (1<sup>a</sup> safra) e feijoeiro da seca (2<sup>a</sup> safra). Na safra de 2011/2012, o estado, apresentou uma produção total de 3600 toneladas de feijão em uma área de 3700 ha, com rendimento médio de 969 kg ha<sup>-1</sup>. O feijoeiro de 1<sup>a</sup> safra apresentou uma produção de 1500 toneladas, com rendimento médio de 954 kg ha<sup>-1</sup>, em uma área total de 1600 ha; o feijoeiro de 2<sup>a</sup> safra ocupou uma área de 2100 ha, com uma produção de 2100 toneladas e rendimento médio de 1000 kg ha<sup>-1</sup>. (CONAB, 2012).

O feijoeiro é cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, o feijoeiro comum reveste-se de grande importância econômica e social (EMBRAPA, 2009; YOKOYAMA, 2002). Sendo que, aproximadamente 70% do total de feijão produzido no Brasil é proveniente da agricultura familiar, em plantios realizados principalmente na época “das águas” e “da seca”, com baixa produtividade (IBGE, 2006). Entre os principais fatores limitantes da produtividade da cultura do feijoeiro no País, destacam-se aqueles relacionados ao baixo nível técnico empregado pelos produtores e ao cultivo do feijoeiro em solos de baixa fertilidade, especialmente pobres em N (MERCANTE et al., 1999). A evolução das práticas culturais, aliada ao desenvolvimento de cultivares modernos e à adoção de tecnologias pelos agricultores brasileiros, permitiu expressivo ganho em produtividade, saindo de patamares de 500 kg ha<sup>-1</sup> de média nacional, no final de década de 1970, para 1.000 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2009/2010. Em alguns estados do País, onde se utilizam níveis tecnológicos elevados, a produtividade supera os 2.000 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2011).

## 2.2 Adubos Nitrogenados

As plantas cultivadas têm uma dependência fundamental dos fertilizantes inorgânicos nitrogenados, principalmente na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (ROBERTSON; VITOUSEK, 2009). Em 1930 tínhamos a adição anual de 1,3 milhões de toneladas de fertilizantes nitrogenados ao solo em todo o mundo, passando em 1960 para 10,2 milhões de toneladas e atualmente esse total está em torno de 90 milhões de toneladas (FRINK et al., 1999). Projeções indicam que no ano de 2050 este valor será de 240 milhões de toneladas (TILMAN, 1999).

Entre os fertilizantes nitrogenados sólidos no mercado mundial, a uréia é a fonte mais utilizada, destacando-se pela facilidade de acesso, menor custo por unidade de N (45% de N), elevada solubilidade e compatibilidade para a mistura com outros fertilizantes e defensivos e alta taxa de absorção foliar (MALAVOLTA, 2006). Porém, o N é perdido com muita facilidade por lixiviação (lavagem no perfil do solo), denitrificação (transformação do  $\text{NO}_3^-$  em  $\text{N}_2$  e  $\text{NO}_2^{-2}$ ), volatilização do  $\text{NH}_3$ , e imobilização microbiana (CANTARELLA, 2007; STRALIOTTO et al., 2002; MALAVOLTA, 2006).

Custos flutuantes de energia e matérias primas causam aumentos significativos e incerteza nos custos de fertilizantes agrícolas, com impactos negativos sobre a sustentabilidade agrícola. A utilização de fertilizantes na agricultura pode também contribuir para a poluição ambiental. A síntese de N-fertilizantes contribui significativamente para a produção de gases de efeito estufa (GEE), sendo os fertilizantes nitrogenados a maior fonte de emissões de GEE a partir de agricultura arável (GALLOWAY et al., 2008; SMITH et al., 2008).

O nitrogênio tem grande importância no metabolismo das plantas, sendo cerca de um quarto do gasto energético dos vegetais relacionados com as várias reações envolvidas na redução de nitrato a amônio e a subsequente incorporação às formas orgânicas nas plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2005). O nitrogênio participa de diversos compostos considerados indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas, destacando-se as proteínas e as clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2009). 50% do N foliar está contido na molécula de rubisco, enzima primária para a assimilação de  $\text{CO}_2$  em plantas  $\text{C}_3$  (LONG et al., 2006).

O nitrogênio é muito importante tanto no incremento da produção de grãos, como na elevação do teor proteico (FIDÉLIS et al., 2007). A absorção do nitrogênio, nutriente de alta mobilidade no solo, ocorre tanto na forma de cátion  $\text{NH}_4^+$  como na de

ânion  $\text{NO}_3^-$  (LOBO et al., 2011). A forma amoniacal possui a vantagem de se fixar às partículas coloidais do solo, principalmente às partículas de argila que são carregadas negativamente na periferia. Além disso, esta forma requer menos energia para a assimilação do que o nitrato (ZHOU et al., 2011). Já o nitrogênio nítrico é totalmente solúvel em água, não se fixa nas argilas e é facilmente lixiviado no solo (MALAVOLTA, 2006).

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 ou irrigação (STRALIOTTO et al., 2002). O N perdido nesse processo é altamente poluente e, uma vez carregado para o lençol freático, provoca a contaminação dos aquíferos subterrâneos, rios e lagos. Outras perdas de N aplicado ocorrem nas formas gasosas, que retornam à atmosfera, sobretudo pelos processos de desnitrificação e volatilização (SIQUEIRA et al., 1994; STRALIOTTO et al., 2002). Nesse contexto, o manejo adequado da adubação nitrogenada representa uma das principais dificuldades da cultura do feijoeiro, visto que a aplicação de doses excessivas de N, além de aumentar o custo econômico, pode promover sérios riscos ao ambiente, e a sua utilização em quantidade insuficiente pode limitar o seu potencial produtivo, mesmo que outros fatores de produção sejam otimizados (SANTOS et al., 2003).

Em uma agricultura competitiva e moderna, uma boa produtividade dos cultivos nos solos é indiscutível. Assim uma aplicação específica de nutrientes é requerida por cada cultura e cada tipo de solo, que deve ainda ser adaptada às características climáticas do local de produção (LOUREIRO; NASCIMENTO, 2003).

O nitrogênio é o nutriente mais exigido e exportado pela cultura do feijoeiro (MALAVOLTA, 1980; ANDRADE et al., 2004). Para um rendimento de  $3000 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  há uma exportação de aproximadamente  $100 \text{ kg} \cdot \text{N} \cdot \text{ha}^{-1}$ , podendo a cultura ser caracterizada como empobrecedora do solo, sendo que para uma alta produtividade é necessário uma quantidade de N superior a  $100 \text{ Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  (VIEIRA et al., 2006). Um adequado suprimento desse nutriente está associado à alta atividade fotossintética, a crescimento vegetativo vigoroso e folhas verde-escuras. Sua deficiência provoca pequeno desenvolvimento das plantas, as folhas tornam-se verdes pálidas ou mesmo amarelas e poucas flores desenvolvem-se (VIEIRA, 1998).

### 2.3 Fixação Biológica do Nitrogênio

A incorporação do nitrogênio molecular  $N_2$  encontrado na atmosfera em um composto nitrogenado corresponde à sua fixação, sendo a sua principal forma de introdução nos ecossistemas. Em sentido amplo, podemos considerar descargas elétricas, atividades vulcânicas, fixação industrial e biológica como sendo formas de fixação de nitrogênio, pois ocorre sua incorporação em um composto nitrogenado. Em sentido mais restrito, podemos considerar a fixação do nitrogênio como sendo sua redução para a formação de amônia ( $NH_3$ ) (CORDEIRO, 2004). A fixação biológica de nitrogênio atmosférico é um processo bioquímico natural e essencialmente desenvolvido por bactérias. Constitui um passo crucial do ciclo do nitrogênio e responde, em grande medida, pela manutenção da vida na Terra (LINDEMANN; GLOVER, 2003). As espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas têm sido denominadas coletivamente de rizóbio, sendo a maioria pertencente à família Rhizobiaceae (VANCE, 1998; MOREIRA, 2008). Até a década de 80, os rizóbios eram classificados em uma única família, com dois gêneros e seis espécies. Atualmente, entretanto os rizóbios encontram-se em quatro famílias (Bradyrhizobiaceae, Hyphomicrobiaceae, Phyllobacteriaceae e Rhizobiaceae), 13 gêneros, entre eles: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*; 98 espécies e vários biovares, todos na ordem Rhizobiales (WEIR, 2012). Embora todos os gêneros de rizóbio pertençam à subclasse Alfa-proteobacteria, recentemente, bactérias pertencentes à subclasse Beta-proteobacteria foram identificadas em nódulos de leguminosas (MOULIN, et al., 2002), tais como: *Methylobacterium* (SY, et al., 2001), *Blastobacter* (VAN BERKUN; EARDLY, 2002), *Devosia* (RIVAS et al., 2002), *Ralstonia* (CHEN et al., 2001), *Burkholderia* (CHEN et al., 2003), *Phyllobacterium* (MANTELIN, et al.; 2006), *Cupriavidus* (VANDAMME; COENYE), *Shinella* (LIN et al., 2008) e *Ochrobactrum* (IRMAN, et al, 2010).

Apesar de ser requerido em quantidades significativas pelos seres vivos, na natureza este elemento é encontrado em abundância numa forma quimicamente muito estável, portanto sua pronta assimilação pela maioria dos seres vivos é limitada, requerendo sua transformação para uma forma combinada que facilite sua assimilação (FRANCO; DÖBEREINER, 1994). No processo de fixação, a tripla ligação que existe entre os átomos de nitrogênio é rompida pela nitrogenase, que é um complexo protéico composto por ferro e molibdênio (SPATZAL, et al., 2011), também denominada de

dinitrogenase, produto dos genes *nifD* e *nifK* (EADY,1986). Para cada molécula de  $N_2$  fixado, esse complexo hidrolisa 16 adenosinas trifosfatos (ATP) e transfere elétrons para o sítio catalítico, demandando muita energia. A atividade da nitrogenase é regulada por diversos fatores, tais como, a concentração de oxigênio (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006), a disponibilidade de energia da célula, idade fisiológica, a quantidade de nitrogênio na planta, presença de molibdênio entre outros (REIS et al., 2005). Neste processo, cada molécula de  $N_2$  se liga a três átomos de hidrogênio, utilizando energia despendida pelo ATP, que nos sistemas simbióticos, é formado pela queima dos produtos da fotossíntese. Nos sistemas conhecidos, a fixação biológica do nitrogênio se dá segundo a equação (CORDEIRO, 2004):



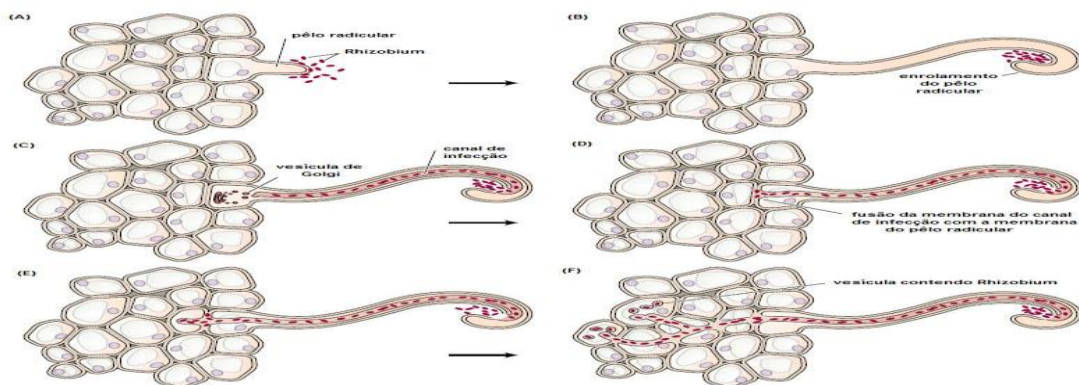
Podemos caracterizar três grupos de bactérias fixadoras de nitrogênio, diazotrofos de vida livre, que fixam  $N_2$  para seu próprio consumo, diazotrofos associativos, que contribuem para o crescimento de plantas sem a formação de estruturas diferenciadas, e os diazotrofos simbióticos, que estabelecem uma íntima relação com a planta hospedeira formando estruturas especializadas denominadas de nódulos onde ocorre a conversão do  $N_2$  em  $NH_3$  (EVANS; BURRIS, 1992).

O rizóbio possui um grande número de genes que controlam vários aspectos da nodulação como especificidade do hospedeiro, infecção e nodulação (KONDOROSI et al., 1989). Esses genes são ativados ou reprimidos desde o início da associação até desenvolvimento pleno do nódulo e pertencem a duas categorias: genes estruturais e genes reguladores, que controlam a expressão dos primeiros. Sendo que os genes estruturais se expressam em baixo nível quando na ausência do hospedeiro (CORDEIRO, 2004).

No estágio inicial de formação dos nódulos há liberação de uma variedade de compostos químicos das células radiculares para o solo facilitando a colonização rizosférica e estimulando o crescimento do rizóbio (HUNGRIA; STACEY, 1997). Os sinais moleculares excretados pelas raízes da planta hospedeira ativam a expressão dos genes de nodulação pelo rizóbio, resultando na produção de fatores Nod (SUGAWARA et al., 2006). Em leguminosas como o feijão-caupi e a soja, os fatores Nod estão envolvidos na resposta da planta hospedeira na, deformação do pêlo radicular, pré-infecção e iniciação dos primórdios nodulares (HUNGRIA; JOSEPH; PHILLIPS, 1991). Dessa forma, o processo de infecção em que o rizóbio entra em contato com as raízes da planta e induz à formação do nódulo reprogramando o desenvolvimento da

célula cortical, é dependente de fatores Nod e resulta no encurvamento do pêlo radicular (Figura 1).

Na segunda etapa, em resposta aos fatores produzidos pela bactéria, o pêlo radicular apresenta um enrolamento anormal, aprisionando o rizóbio apertadamente, fazendo com que as células do rizóbio cresçam dentro dos enrolamentos. Os rizóbios penetram na raiz, pela extremidade do pêlo radicular, através da invaginação da membrana plasmática, ao redor do qual a planta forma uma estrutura chamada de cordão de infecção (figura 1). Ao mesmo tempo, as células do córtex externo, no caso do feijoeiro, começam a se dividir, formando o primórdio do nódulo. Um único pêlo pode ser infectado por muitos rizóbios e, assim, pode conter vários cordões de infecção. Os cordões de infecção penetram nas células dos primórdios nodulares, liberando as bactérias no citoplasma destes primórdios, que são imediatamente envolvidas por uma membrana denominada membrana peribacteroidal. Os primórdios se diferenciam em nódulos e as bactérias se diferenciam em bacteróides (HUNGRIA; STACE, 1997; BROUGHTON; JABBOURI; PERRET, 2000).



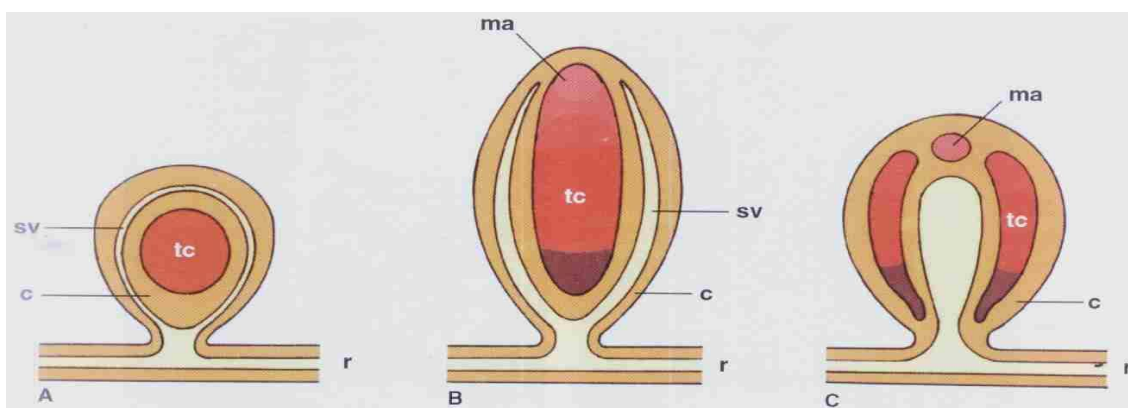
**Figura 1** Processo de infecção celular, adaptado de Taiz; Zeiger, 2009

Os dois processos, infecção e organogênese do nódulo, ocorrem simultaneamente durante a formação do nódulo da raiz. No processo de infecção, os rizóbios que estão ligados aos pêlos radiculares liberam os fatores Nod, que induzem um pronunciado enrolamento das células do pêlo. Os rizóbios ficam inseridos em um pequeno compartimento, formado pelo enrolamento. A parede celular do pêlo radicular também é degradada nessas regiões em resposta aos fatores Nod, permitindo que as células bacterianas acessem diretamente à superfície externa da membrana plasmática (LAZAROWITS; BISSELING, 1997).

A iniciação e formação dos nódulos são controladas em vários níveis, as raízes das plantas excretam vários flavonoides, que são necessários para ativar a expressão de

genes reguladores da nodulação, principalmente as proteínas NodD (PERRET; STAEHELIN; BROUGHTON, 2000). O complexo nodD-flavonoídes interage com uma região promotora conservada (nod box) que está localizada após a maioria dos genes nod no genoma da bactéria. A transcrição acontece e o produto enzimático dos genes nod leva síntese e secreção de fatores Nod (BROUGHTON et al., 2006), que se caracterizam por serem lipo-oligossacarídeos, cuja cadeia é importante para determinar a especificidade do rizóbio ao hospedeiro (DEBELLÉ et al., 2001).

Os nódulos são divididos em dois tipos: determinado e indeterminado. O nódulo determinado (A) ocorre principalmente no feijão e na soja, uma vez formado ele fixa enquanto a simbiose estiver ativa, facilmente notada pela coloração avermelhada da atividade da leg-hemoglobina. Uma vez que a simbiose for interrompida, por vários motivos, este nódulo senesce e se desprende da planta hospedeira. Além desse, há formação de nódulos que são considerados de crescimento indeterminado (B). Outro tipo de nódulo indeterminado é o nódulo de angiospermas não leguminosas (C). Em nódulos indeterminados o centro responsável pela FBN muda conforme um novo tecido é formado e organizado para este fim. São comumente encontrados em espécies arbóreas como os nódulos de Leucena (REIS et al., 2006).



**Figura 2** Tipos de nódulos em leguminosas, adaptado de Cordeiro, 2004.

Nas leguminosas, a fixação de nitrogênio ocorre após a infecção da raiz pela bactéria e o desenvolvimento do nódulo (CORDEIRO, 2004). O nitrogênio reduzido simbioticamente nos nódulos das raízes de leguminosas é assimilado através da incorporação de  $\text{NH}_4^+$  para a posição de amida da glutamina em uma reação que é catalisada pela glutamina sintetase (GS). Subsequentemente, a sintase do glutamato (GOGAT) transfere o grupo amida da glutamina para o alfa-cetoglutarato, produzindo duas moléculas de glutamato (SILVENT et al., 2008).



A energia para a FBN é suprida inicialmente na forma de ácidos dicarboxílicos (principalmente malato e succinato), que são levados aos bacteróides e são derivados da respiração mitocondrial, mas também proporcionam uma fonte de carbono e energia para a atividade do bacteróide e da nitrogenase na conversão do nitrogênio em amônia (GARG; SINGLA, 2004).

Em leguminosas de clima temperado e tropical com nódulos indeterminados, o nitrogênio fixado simbioticamente é transportado a partir dos nódulos para a parte aérea, na forma de amidas (glutamina e asparagina), enquanto que algumas leguminosas tropicais, como feijão caupi (*Vigna unguiculata*), soja (*Glycine max*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*), que produzem nódulos determinados, os ureídeos de exportação dos nódulos são (alantoína e ácido alantóico) (SILVENT et al., 2008).

O molibdênio é um micronutriente que possui efeito marcante na simbiose rizóbio-leguminosa, pois esse elemento é um dos componentes das enzimas nitrato redutase e nitrogenase, este possui atuação direta sobre o processo de fixação biológica do nitrogênio e aproveitamento dos nitratos absorvidos pelas plantas (VIEIRA; NOGUEIRA; ARAUJO, 1992). Assim, uma baixa disponibilidade ou deficiência de Mo pode levar à presença de baixos teores de N em plantas cultivadas sob condição de boa disponibilidade de N no meio, ou que obtenham N por meio da FBN, por problemas nas enzimas participantes na sua assimilação (JASMIM; MONNERAT; ROSA, 2002). Em condições de baixa disponibilidade, o molibdênio é alocado preferencialmente nos nódulos, de forma a manter concentrações adequadas para fixação de N<sub>2</sub> (JACOB NETO; FRANCO, 1989).

Outro elemento que interfere na eficiência da FBN é o O<sub>2</sub>, pois as duas proteínas que compõem a nitrogenase (Ferro proteína e Ferro-Molibidênio proteína) são desnaturadas pelo O<sub>2</sub> (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006). Quando as bactérias estão fixando o nitrogênio atmosférico, a leg-hemoglobina só é sintetizada se a planta e bactéria estiverem em simbiose, e localizarem-se no citoplasma das células infectadas dos nódulos (VERMA; BAL, 1976). O nódulo é uma estrutura que possui, entre outras funções, a de proteger o complexo enzimático da nitrogenase contra o O<sub>2</sub> que a inativa irreversivelmente. O O<sub>2</sub> fica adsorvido à leg-hemoglobina, evitando, assim sua inativação. A leg-hemoglobina tem a importante função de transportar O<sub>2</sub> em taxas suficientes para o metabolismo aeróbio dos bacteróides sem excessos que possam inibir a atividade da nitrogenase (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006).

O elemento cobalto (Co) também é essencial para a fixação simbiótica de nitrogênio (N), fazendo parte da constituição da vitamina B12, necessária para a biossíntese de leghemoglobina. Além disso, participa do metabolismo de carboidratos e das proteínas, através de ativações enzimáticas (MALAVOLTA et al., 1997).

O número, a biomassa e o tamanho dos nódulos são indicadores usuais de nodulação (FERREIRA; CASTRO, 1995) e constituem critérios utilizados para avaliação da simbiose rizóbio-leguminosas, fazendo parte, inclusive, do protocolo para avaliação da eficiência agrônômica de estirpes no Brasil pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE) (XAVIER et al., 2006). Além disso, foi definido um conjunto mínimo de dados para avaliação da FBN, como a massa dos nódulos e da parte aérea e o total de N acumulado pela planta (SOUZA et al., 2008).

### **2.3.1 Fixação biológica do nitrogênio no feijoeiro**

O feijoeiro pode ter sua inoculação e simbiose com os rizóbios limitada por vários fatores, como características próprias da planta, alta susceptibilidade a estresses ambientais, ao ataque de pragas e doenças; características das estirpes do rizóbio, como baixa capacidade competitiva e deficiência no processo de FBN (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003).

Em condições de clima tropical, os principais fatores abióticos que afetam a FBN são: acidez do solo (HUNGRIA; VARGAS, 2000; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003; GRAHAM, et al., 1994), toxidez de alumínio (ALIKIHANI et al., 2006), salinidade e baixa fertilidade do solo (HUNGRIA; VARGAS, 2000), disponibilidade de N mineral (TSAI et al., 1993; PIMENTEL, 2006), deficiência de nutrientes como fósforo e molibdênio (JACOB NETO; FRANCO, 1989; HUNGRIA; VARGAS, 2000), altas temperaturas no solo (HUNGRIA; VARGAS, 1997; RUMJANEK et al., 2005), luminosidade e baixa precipitação pluviométrica (Hungria; Vargas, 2000; PIMENTEL et al., 1990; SILVEIRA et al., 2003; RAMOS et al., 2003), metais pesados (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), tipo de solo, textura e composição (BENIZRI et al., 2001).

Com relação aos fatores bióticos temos: o tipo de inóculo e a via de inoculação (BROCKWELL et al., 1988), a seleção de cultivares apropriados que influencia decisivamente sobre as entradas de nitrogênio nos sistemas agrícolas (WANI et al.,

1995; HARDARSON, et al., 1993), o controle de pragas e doenças que afetam o vigor da planta e o seu potencial de crescimento (ROSALES et al., 2013), competitividade, sobrevivência saprofítica, presença de antagonistas (GRAHAM, 1981). Esses fatores bióticos são determinados pelas interações sinérgicas ou antagônicas com os outros representantes da biota do solo e com o próprio rizóbio, na sobrevivência e competição pela nodulação da planta hospedeira (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999). Outro fator limitante à FBN em feijoeiro é a senescência precoce dos nódulos, ocorrendo um declínio acentuado na atividade da nitrogenase e das enzimas de assimilação do nitrogênio e um incremento na atividade das proteases, que degradam a leg-hemoglobina (HUNGRIA; FRANCO, 1988). Segundo Puppo et al. (2005), a senescência dos nódulos ocorre naturalmente no começo da antese devido à síntese de sinais generalizados na parte aérea ou durante o enchimento dos grãos, com consequente redução da fixação biológica de nitrogênio nesse período que é tão importante para garantir o enchimento dos grãos. Esses fatores em conjunto causam nodulações menores que em outras leguminosas, como a soja e o feijão-caupi (MARTINS et al., 2003; XAVIER et al., 2007), e conseqüentemente, perda da resposta à inoculação, diminuindo a eficiência do feijoeiro em estabelecer uma relação simbiótica com bactérias (GRAHAM, 1981; HARDARSON, 1993). A nodulação mesmo não sendo eficiente para suprir toda a exigência de nitrogênio requerida pelo feijoeiro promove certa redução na utilização da adubação nitrogenada, representando uma economia considerável (ARAÚJO, 1996).

Estudos têm demonstrado que é possível que a cultura do feijoeiro se beneficie, em condições de campo, do processo de FBN, podendo alcançar produtividade acima de 2.500 kg ha<sup>-1</sup> (HUNGRIA et al., 2000). Assim, o conhecimento das características intrínsecas do feijoeiro e da bactéria fixadora de nitrogênio (*Rhizobium*) é de grande importância para o sucesso da inoculação.

Uma das características apresentadas pela cultura do feijoeiro é a alta promiscuidade, ou seja, o feijoeiro é capaz de estabelecer simbiose com um grande número de espécies de rizóbios, inseridos ou nativos, formando nódulos efetivos (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991). Pelo menos, seis espécies de rizóbio são capazes de nodular o feijão e em muitos casos fixar nitrogênio atmosférico, incluindo *R. leguminosarum* *bv. phaseoli* (JORDAN, 1984), *R. tropici* (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991), *R. etli* *bv. Phaseoli* (SEGOVIA et al., 1993), *R. gallicum* (*bv. gallicum* e *bv. phaseoli*), *R. giardinii* (*bv. giardinii* e *bv. phaseoli*) (AMARGER; MACHERETL;

AGUERRE, 1997), *R. sp. OR 191* (EARDLY et al., 1985), *R. mongolense* (VAN BERKUM et al., 1998). Além disso, outros gêneros e espécies foram isolados de nódulos de feijoeiro: *Bradyrhizobium sp.* (HUNGRIA et al., 1993), *Sinorhizobium fredii* (STRALIOTTO et al., 1999; GRANGE; HUNGRIA, 2004), *Sinorhizobium sp.*, *Mesorhizobium plurifarum*, assim como outros isolados que podem representar novas espécies (GRANGE; HUNGRIA, 2004).

O conhecimento do início do processo de nodulação e, conseqüentemente, de FBN torna-se importante, uma vez que no feijoeiro foi constatada, em trabalho realizado com plântulas noduladas, a ocorrência de um período de fome de nitrogênio onde as reservas dos cotilédones terminam antes que o nitrogênio dos nódulos seja transportado, em quantidades adequadas. Este período ocorre geralmente até 15 dias a 20 dias após emergência, podendo ocorrer deficiência de N, decorrente do assincronismo entre o esgotamento de N dos cotilédones e o início da nodulação (HUNGRIA; BARRADAS; WALLSGROVE, 1991).

A falta de resposta à inoculação em leguminosas com estirpes mais eficientes se deve, na maioria dos casos, à existência de uma grande população de estirpes nativas no local do cultivo, sendo estas de baixa eficiência (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003). A diferença encontrada nessa situação, de superioridade das estirpes nativas em relação às estirpes de inoculação, se deve ao fato da população nativa ser maior que a população inoculada e não de uma maior eficiência competitiva das estirpes nativas (BROCKWELL et al., 1988).

Os fatores abióticos do solo influenciam a competitividade das bactérias, podendo afetar tanto a população nativa de rizóbio do solo como as condições para o estabelecimento de novas estirpes. A cultura do feijoeiro apresenta sensibilidade às condições de acidez da maioria dos solos brasileiros (HUNGRIA; VARGAS, 2000). Em consequência dessa acidez, há limitação na disponibilidade de nutrientes e/ou toxidez de Al e Mn (MIGUEL; MOREIRA, 2001). O alumínio solúvel ( $Al^{+3}$ ) ou trocável interfere negativamente na sobrevivência do rizóbio no solo, por meio da sua complexação com determinados componentes celulares, especialmente o DNA, causando inibição do crescimento e morte celular (KARANJA; WOOD, 1993; FLIS; GLENN; DILWORTH, 1991). A faixa de pH do solo ideal para o feijoeiro varia de 5,5 a 6,8, portanto, a calagem é uma prática recomendável para viabilizar o cultivo dessa leguminosa em solos ácidos (BARBOSA FILHO; SILVA, 2000; HUNGRIA; VARGAS, 2000). Nestas condições, de solos ácidos, a microbiota do solo também é afetada, em especial os

microrganismos diazotróficos, pois limitam sua sobrevivência, persistência e multiplicação, com conseqüente redução na FBN (SLATTERY; COVENTRY; SLATTERY, 2001; BALA et al., 2003).

A ocorrência de altas temperaturas no solo é um dos fatores mais limitantes à simbiose rizóbio-leguminosas em condições tropicais, podendo atingir valor superior a 40°C (VARGAS; HUNGRIA, 1997). Altas temperaturas afetam a sobrevivência do rizóbio no solo, o processo de infecção, formação dos nódulos e ainda a atividade de FBN. Além disso, quando se considera o rizóbio no inoculante, afeta a sua sobrevivência no veículo tanto durante o transporte quanto no armazenamento (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999).

No caso do feijoeiro, tanto a planta como o rizóbio são afetados quando em temperaturas superiores à 34°C, sendo que no caso do rizóbio, os plasmídeos que carregam os genes simbióticos podem ser perdidos (STRALIOTTO, RUMJANEK, 1999). No entanto, diferentes espécies e estirpes de rizóbio diferem em sua resistência ou tolerância a altas temperaturas (KARANJA; WOOD, 1988). A dominância das espécies em determinados solos está relacionado a seu pH e temperatura, sendo a espécie *Rhizobium tropici* mais competitiva em solos ácidos, com elevadas temperaturas, predominantes nas nossas condições de clima tropical (VARGAS; GRAHAM, 1989).

Portanto compreender a relação entre os rizóbios e o feijoeiro, e sua real contribuição na fixação biológica de nitrogênio para a cultura do feijão pode ser a chave para melhorar o rendimento dessa cultura (GRANGRE; HUNGRIA, 2004).

### **2.3.3 Interação entre a adubação nitrogenada e a fixação biológica de nitrogênio**

Os fertilizantes nitrogenados são considerados reservas esgotáveis, que necessitam de um elevado consumo de energia na sua fabricação e, portanto, representam um elevado custo para a produção de alimentos, principalmente para os pequenos agricultores (SPECHT et al., 1999). Como a maioria das leguminosas, o feijão comum pode se beneficiar da FBN, por meio da simbiose com rizóbios (PINTO; HUNGRIA; MERCANTE, 2007; MULAS et al., 2011; CARDOSO et al., 2012). A fixação biológica do nitrogênio (FBN) constitui-se em uma valiosa fonte deste nutriente para o feijão comum, tendo sua magnitude influenciada pela disponibilidade de N mineral na solução do solo (BRITO; MURAOKA; SILVA, 2011), geralmente a FBN do

feijoeiro não é tão eficiente quanto à do feijão-caupi (MARTINS et al., 2003; XAVIER et al., 2007) e a da cultura da soja (GRAHAM et al., 2003; MENDES et al., 2008) que podem fixar todo o N necessário para obtenção de altas produtividades.

Na cultura do feijão comum, para a obtenção de rendimentos econômicos, geralmente, é essencial a suplementação nitrogenada, principalmente até que a nodulação esteja plenamente estabelecida (OLIVEIRA et al., 2003). No entanto, é necessária uma dose de N que proporcione bom desenvolvimento da planta, mas que não venha prejudicar a FBN (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003). De acordo com estudos realizados por Araujo et al. (1996); Amane et al. (1999), quando a aplicação do fertilizante nitrogenado foi realizada na época da semeadura ou logo após a emergência, até os 20 dias (V2 - V3), 70% do nitrogênio contido na planta provinha do fertilizante; mas a partir de 60 dias (R6) essa taxa caiu para menos de 40%, de maneira que a planta ao final do ciclo continha bem mais nitrogênio proveniente do solo do que de fertilizante. Baseado nestes resultados, Araujo et al. (1996) recomendam o parcelamento da adubação nitrogenada, devendo-se aplicar 1/3 da dose na semeadura e 2/3 dos 30 aos 45 dias após a semeadura (V4 - R6). Estes mesmos autores ainda relataram que, quando o nitrogênio é aplicado antes ou durante o florescimento, a utilização do fertilizante pelo feijoeiro é maior do que quando aplicado na semeadura. Tal fato pode estar relacionada ao pico de atividade das enzimas Nitrogenase e redutase do nitrato responsáveis, respectivamente, pela fixação biológica do Nitrogênio e pela assimilação do nitrogênio mineral do solo, ocorrem em épocas diferentes no feijoeiro. O pico de atividade da nitrogenase ocorre logo após o início da floração enquanto o pico de atividade da redutase do nitrato ocorre mais tarde, durante a fase de enchimento de grãos (FRANCO et al., 1979). Por isso o feijoeiro é mais beneficiado pela FBN no início do ciclo enquanto que a aplicação de adubos nitrogenados tem maior contribuição na fase de enchimento de grãos. Desta forma seria recomendável sempre inocular o rizóbio e, dependendo da relação custo/benefício, efetuar adubação com fertilizante nitrogenado no início da floração (VIEIRA et al, 2008).

As pesquisas em biotecnologia poderiam fornecer estratégias para melhorar a eficiência da FBN para o feijão, como na seleção de estirpes de rizóbios mais eficientes para a inoculação, de modo que pudessem substituir a adubação nitrogenada, sem redução na produtividade (CARDOSO et al., 2012; GRANGE et al., 2007; MULAS et al., 2011). No entanto, as bactérias fixadoras de N não fornecem a quantidade necessária

deste elemento à cultura do feijoeiro, de modo a assegurar uma alta produtividade, tornando-se necessária uma suplementação de N mineral (VIEIRA et al., 2008).

A associação do feijoeiro com espécies de bactérias do grupo dos rizóbios, principalmente *Rhizobium tropici*, é uma tecnologia capaz de substituir a adubação nitrogenada, reduzindo o custo de produção, principalmente em cultivo de subsistência (GRANGE et al., 2007). Por outro lado, o nitrogênio no solo é um nutriente cuja presença ou ausência afeta a simbiose de várias formas (VIEIRA; TSAI; TEXEIRA, 2005). Em excesso, o fertilizante nitrogenado pode causar redução da eficiência simbiótica, porém, quando aplicado em pequenas quantidades, na semeadura da cultura do feijoeiro, permite um aumento no crescimento dos nódulos e maior FBN, sendo que, por outro lado, o teor muito baixo de N no solo pode até ser limitante à atividade simbiótica (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003).

Em solos ricos em matéria orgânica e nutrientes da região central dos Estados Unidos (EUA), cultivados com soja, onde a inoculação com rizóbio não é feita, estudos mostraram que o aumento contínuo da produtividade da soja ao longo dos anos, com novos cultivares, tem como uma de suas causas, o aumento da capacidade de FBN com rizóbios nativos, mesmo nesses solos ricos em N e matéria orgânica (SPECHT et al., 1999). Além disto, estudos realizados por Voisin et al. (2003), mostraram que a adição de nitrato em solução nutritiva, em doses inibitórias para a FBN da ervilha, diminuiu a massa seca dos nódulos, porém a atividade específica da nitrogenase se manteve. De acordo com Pelegrin et al. (2009), a adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, acrescida de inoculante, com a estirpe de *Rhizobium tropici* CIAT 899, possibilitou a obtenção de rendimento de grãos na cultura de feijoeiro equivalente à aplicação de até 160 kg ha<sup>-1</sup> de N.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Caracterização da Área Experimental e do Clima**

Foram instalados dois experimentos no Campo Experimental do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a 22°45' S, 43°41' W e 40 m de altitude. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen, com verão quente e chuvoso e inverno seco. O primeiro experimento foi instalado no mês de março de 2012, no plantio da seca, em um planossolo, cuja análise química, na

profundidade de 0-20 cm, efetuada de acordo com a descrição da Claessen (1997), revelou: pH em água 5,6; 1,8 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca; 1,3 cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg; 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de Al; 0,9 cmolc dm<sup>-3</sup> de H<sup>+</sup> Al; 77 mg dm<sup>-3</sup> de P disponível; 92 mg dm<sup>-3</sup> de K disponível; 10,1 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica; e 79% de saturação de bases (V). A precipitação total, a evaporação total e a temperatura média da máxima e mínima, durante o experimento, foram de 297,8 mm, 311,50mm, 28°C e 17,93°C, respectivamente. O segundo experimento foi instalado no mês de agosto de 2012, no plantio das águas, em um Argissolo Vermelho Amarelo, cuja análise química na profundidade de 0-20 cm, revelou: pH em água 5,8; 1,5 cmolc dm<sup>-3</sup> de Ca; 1,4 cmolc dm<sup>-3</sup> de Mg; 0,0 cmolc dm<sup>-3</sup> de Al; 0,6 cmolc dm<sup>-3</sup> de H<sup>+</sup> Al; 65 mg dm<sup>-3</sup> de P disponível, 115 mg dm<sup>-3</sup> de K disponível; 10,7g kg<sup>-1</sup> matéria orgânica; e 84% de saturação de bases (V). A precipitação total, a evaporação total e a temperatura média da máxima e mínima, durante o experimento, foram de 331,9 mm, 301,8 mm, 29,46°C e 18,9°C, respectivamente.

### **3.2 Delineamento Experimental, Tratamentos e Manejo Cultural**

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com três tratamentos na época da seca e quatro tratamentos na época das águas, ambos com quatro repetições, utilizando a cultivar de feijoeiro comum Carioca. Cada parcela foi constituída por cinco linhas de 5 m de comprimento por 2m de largura, com espaçamento entre linhas de 0,5 m e 10 m<sup>2</sup> de área total por parcela. Os tratamentos estudados foram: na época da seca, inoculação e adubação nitrogenada no plantio (20 kg ha<sup>-1</sup> de N), apenas a inoculação no plantio, e apenas a adubação nitrogenada no plantio (20 kg ha<sup>-1</sup> de N). Na época das águas foi incluído um tratamento adicional em que não foi adicionado adubo nitrogenado e nem inoculante no plantio. Aos 25 após a semeadura todos os tratamentos receberam adubação de cobertura com 40 kg ha<sup>-1</sup> de N.

O preparo do solo foi constituído por uma aração e duas gradagens leve, seguido pela abertura dos sulcos mecanicamente. Todos os tratamentos, nas duas épocas de plantio, receberam adubação de 30 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 45 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio), aplicados no sulco de plantio, de acordo com os resultados da análise de solo, em concordância com a recomendação e exigência da cultura (OLIVEIRA; ARAÚJO; DUTRA, 1996). A semeadura foi realizada manualmente, obtendo-se um estande final de 12 plantas por metro linear. Nos



tratamentos com inoculação, as sementes foram inoculadas com estirpes de *Rhizobium tropici* (BR322, BR520, BR534), presentes no inoculante comercial obtido na Embrapa Agrobiologia. Após serem inoculadas, as sementes foram secas à sombra e depois semeadas nos sulcos de plantio. Aos 25 dias após a semeadura, realizou-se em todos os tratamentos uma adubação nitrogenada em cobertura, com 40 kg ha<sup>-1</sup> de N (SORATTO; CARVALHO; ARF, 2005), na forma de uréia. Durante o desenvolvimento da cultura foram realizadas capinas manual e irrigação quando necessária.

### **3.3 Determinações e Análise Estatística**

Aos 37 e 40 DAS (para estação seca e chuvosa, respectivamente), no estágio de polinização, ocasião em que as parcelas apresentavam 50% de botões florais (VIEIRA et al., 2008), foram coletadas três plantas ao acaso, por parcela, utilizando-se uma pá reta como auxílio para arranquio das plantas, de modo que as raízes fossem extraídas ao máximo do solo. Os nódulos foram separados das raízes, contados e secos a 65°C, durante 72 horas em estufa de ventilação forçada. A parte aérea e raiz também foram secas em estufa de ventilação forçada, a 65 °C por 72 h, para a determinação da massa seca. Na maturação fisiológica, que ocorreu a 77 e 82 DAS (para estação seca e chuvosa, respectivamente), foram coletadas todas as plantas da linha central de cada parcela, desprezando-se o meio metro final de cada extremidade, para determinação do número de vagens por planta, número de grãos por planta, massa de 100 grãos e produtividade de grãos.

Além disto, nas duas épocas de cultivo foram coletados o folíolo central da folha mais jovem totalmente expandida de três plantas por parcela, para quantificar o teor de proteínas solúveis total no tecido foliar, segundo a metodologia de Bradford (1976), em quatro estádios de desenvolvimento como descrito por Vieira et al.(2008): (antes da adubação de cobertura (20 DAS, época da seca e das águas) , polinização (37 e 42 época da seca e das águas, respectivamente), florescimento pleno (45 e 51 época da seca e das águas, respectivamente) e enchimento das vagens (63 e 67 época da seca e das águas, respectivamente).

Os dados de todas as variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância, e quando detectada significância entre tratamentos, a comparação entre as médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao número nódulos por planta, houve diferença significativa entre os tratamentos, nas duas épocas de cultivos (Tabela 1). O maior valor de número de nódulos foi observado no tratamento inoculado, que foi significativamente superior ao adubado e inoculado, que por sua vez foi superior ao tratamento só adubado, nas duas épocas, sendo que o tratamento só adubado foi semelhante ao tratamento testemunha, na época das águas.

**Tabela 1.** Número de nódulos planta<sup>-1</sup>(NDP<sup>-1</sup>), massa seca de nódulos planta<sup>-1</sup> (MSN P<sup>-1</sup>), massa seca da parte aérea planta<sup>-1</sup> (MSPA P<sup>-1</sup>) e massa seca de raiz planta<sup>-1</sup> (MSR P<sup>-1</sup>), do feijoeiro comum cultivar carioca, nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca; acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação, na época das águas.

Época da seca				
Tratamentos	ND P <sup>-1</sup>	MSN P <sup>-1</sup> (mg)	MSPA P <sup>-1</sup> (g)	MSR P <sup>-1</sup> (g)
Adubado	29c	45,1a	7,413b	0,717a
Inoculado	61,25a	60,8a	6,954b	0,694a
Adubado e inoculado	42,0b	50,6a	9,891a	0,822a
Média	44,08	52,16	8,086	0,744
CV (%)	13,44	17,07	10,42	18,71
Época das águas				
Tratamentos	ND P <sup>-1</sup>	MSN P <sup>-1</sup> (mg)	MSPA P <sup>-1</sup> (g)	MSR P <sup>-1</sup> (g)
Testemunha	23,5c	43,8b	3,342c	0,357b
Adubado	17,8c	60,3a	5,485b	0,585a
Inoculado	75,5a	57,3a	5,695b	0,569a
Adubado e inoculado	38,0b	50,8a	7,481a	0,610a
Média	38,7	53,05	5,501	0,530
CV (%)	11,78	11,24	9,81	17,04

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Quanto à massa de nódulos, não houve diferenças significativas na época da seca, e apenas o tratamento testemunha se diferenciou significativamente dos demais, na época das águas. Isso evidencia que a aplicação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio não inibiu o processo de nodulação da população de rizóbios inoculados, como observado por Hungria; Campo; Mendes (2003); com a aplicação de 15 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio do feijoeiro em campo, ressaltando que com uma dose de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio estes autores observaram redução na nodulação e produtividade. Oliveira; Araújo; Dutra (1996), afirmam que mesmo aplicando 100 kg de N ha<sup>-1</sup> durante o ciclo, ainda haverá uma contribuição da FBN para a nutrição do feijoeiro. Por outro lado, estes resultados referentes à nodulação contradizem alguns encontrados na literatura, relatando que mesmo baixas quantidades de N são capazes de inibir a nodulação em feijoeiro (ROMANINI JUNIOR et al., 2007).

No presente trabalho, pode-se observar que no tratamento que não foi inoculado também houve nodulação, provavelmente devido à presença de estirpes nativas do solo capazes de formar nódulos com o feijoeiro (GRAHAM, 2008; GRANGE; HUNGRIA, 2004; VIEIRA; TSAI; TEXEIRA, 2005) também verificaram a nodulação do feijoeiro não inoculado, devido à presença de população nativa de rizóbios no solo. Contudo, existem diferenças na capacidade de realizar FBN entre as bactérias que estabelecem simbiose com o feijoeiro, assim como entre genótipos de feijoeiro (HAWERROTH; CRESTANI; SANTOS, 2011), que necessitam ser mais bem estudados (GRANGE et al., 2007).

Em relação à produção de massa seca da parte aérea, também foi observada diferença significativa entre os diferentes tratamentos, nas duas épocas de cultivo (Tabela 1). O tratamento adubado e inoculado foi significativamente superior ao tratamento adubado e ao inoculado, que tiveram valores semelhantes entre si nas duas épocas. Já o tratamento testemunha na época das águas foi significativamente inferior aos demais. Portanto, o tratamento inoculado, sem adubação nitrogenada no plantio, permitiu uma produção de massa seca de parte aérea equivalente ao tratamento só adubado. Isto demonstra que a capacidade de fornecimento de N, para o acúmulo de massa, pela inoculação com rizóbio, é comparável ao do adubo nitrogenado no plantio, mas reduzindo o custo de produção. Em geral, as respostas do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação têm sido bastante variáveis (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2003), quanto à produção de massa seca de parte aérea, sendo observados efeitos positivos (CARVALHO et al., 2001) ou sem efeitos significativos (FARINELLI

et al., 2006). Contudo, no presente trabalho, a utilização em conjunto das duas fontes de N, a adubação mineral, com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio e a inoculação com rizóbios, contribuiu para obtenção de maior massa seca de parte aérea, nesse tratamento adubado e inoculado nas duas épocas de cultivo. A massa seca de parte aérea pode ser usada como variável para programas de melhoramento genético que visam aumentar o rendimento do feijoeiro, como sugerido por Graham; Vance (2003). Para massa seca de raiz não foi verificado efeito entre os tratamentos, nas duas épocas de cultivo, o que também foi observado por Valadão et al. (2009). Sendo que apenas o tratamento testemunha foi menor estatisticamente que os demais, na época das águas.

**Tabela 2** - Teor de proteína solúvel (mg de proteína solúvel g<sup>-1</sup> de massa fresca foliar) nas folhas do feijoeiro comum cultivar carioca nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca, acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação na época das águas.

Época da seca				
Tratamentos	Antes da adubação (20 DAS)	Polinização (37 DAS)	Florescimento pleno (45 DAS)	Enchimento de grãos (63 DAS)
Adubado	5,64a	7,97a	12,60ab	2,44b
Inoculado	5,24a	8,02a	10,30b	2,50b
Inoculado e adubado	6,95a	8,95a	13,49a	4,79a
Média	5,94	8,31	12,13	3,24
CV (%)	19,20	9,52	9,85	14,89
Época das águas				
Tratamentos	Antes da adubação (20 DAS)	Polinização (42 DAS)	Florescimento pleno (51 DAS)	Enchimento de grãos (67 DAS)
Testemunha	2,61c	4,47c	4,90c	2,39a
Adubado	3,81ab	6,52a	6,34a	2,91a
Inoculado	3,01bc	5,69b	5,50b	2,86a
Inoculado e adubado	4,38a	6,05ab	6,54a	3,63a
Média	3,45	5,68	5,82	2,95
CV (%)	12,20	3,61	3,02	17,58

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

O teor de proteína solúvel na folha do feijoeiro comum foi avaliado nas duas épocas de cultivo. Na primeira época, que corresponde ao plantio da seca, não houve diferença significativa entre os três tratamentos, na primeira coleta que foi realizada 20 DAS, antes da adubação com 40 kg N ha<sup>-1</sup> (Tabela 2), mostrando que as plantas apenas inoculadas foram capazes de manter um aporte de nitrogênio fixado, via FBN, ou absorvido do solo, semelhante ao tratamento que recebeu apenas adubação com 20 Kg ha<sup>-1</sup> de N em semeadura, indicando que o tratamento inoculado manteve a mesma eficiência da adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura. O mesmo não se repetiu para a época das águas, onde ocorreu diferença entre os tratamentos, sendo o tratamento adubado e inoculado o que apresentou os valores significativamente mais elevados, diferindo do tratamento apenas inoculado.

No cultivo das águas o tratamento que não recebeu adubação e nem inoculação na semeadura (testemunha), apresentou os menores valores para os teores de proteínas solúveis em todos os estádios de desenvolvimento, com exceção do enchimento dos grãos, apesar deste tratamento não ter sido inoculado, ter apresentado nódulos (Tabela 1), provenientes de estirpes nativas capazes de nodular o feijoeiro, porém com baixa capacidade de fixar nitrogênio, como relatado por Hungria; Campo; Mendes (2003). Esta baixa capacidade de promover FBN se correlaciona com a menor massa seca da parte aérea (Tabela 1) e produção de grãos (Tabela 3) neste tratamento, evidenciando a importância do suprimento em nitrogênio, tanto pela adubação nitrogenada em semeadura como pelo nitrogênio fixado via FBN pelas bactérias que foram inoculadas.

Na segunda coleta, que foi realizada no período de polinização, não houve diferença significativa entre os tratamentos na época da seca (aos 37 DAS), na época das águas (aos 42 DAS), assim como na coleta anterior, o tratamento testemunha se manteve inferior aos demais, seguido pelo tratamento apenas inoculado, e o tratamento adubado e inoculado não diferiu do adubado, que foram superiores aos demais.

Na terceira coleta, no florescimento pleno, que ocorreu a 45 e 51 DAS (para estação seca e chuvosa, respectivamente), o tratamento adubado e inoculado foi semelhante ao adubado e significativamente superior ao inoculado. Nesta coleta foram observados os valores mais elevados de proteínas solúveis em relação às demais, provavelmente em decorrência da elevação da taxa fotossintética nesse período, como observado por Pimentel et al., (1999a, b). Na fase de florescimento do feijoeiro comum, a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> é maior que nos outros estádios (PIMENTEL et al., 1999b), ocorrendo aumento no conteúdo foliar de carboidratos, que

são as reservas que sustentarão o crescimento do embrião após a polinização (WESTGATE e BOYER, 1986). Assim os tratamentos com maior teor de proteína solúvel (Tabela 3), terão, portanto, maior conteúdo de Ribulose 1,5 Bifosfato carboxilase /oxigenase (Rubisco), que representa 50% do total dessas proteínas no tecido foliar (LONG et al. , 2006), assim garantindo mais fotoassimilados, primeiro para o crescimento da parte aérea (Tabela 1) e depois para o desenvolvimento do embrião, permitindo uma maior produtividade dos tratamentos (Tabela 3), que apresentaram maior teor de proteína solúvel nesse estágio de desenvolvimento (Tabela 2), como para o tratamento adubado e inoculado (tabela 1 e 3).

Na quarta coleta, no enchimento de grãos, que ocorreu a 63 e 67 DAS (para estação seca e chuvosa, respectivamente), no período seco o tratamento adubado e inoculado foi significativamente superior ao adubado e o inoculado, fato este que esteve diretamente correlacionado a maior produtividade neste tratamento (Tabela 3). Na época das águas não ocorreu efeito entre os tratamentos (Tabela 2). De acordo com Costa et al. (1991), no estágio de enchimento dos grãos ocorre uma aceleração na senescência das folhas, em virtude da rápida mobilização de assimilados para os grãos, com redução no teor de proteína solúvel no tecido foliar, e como observado por Pimentel et al. (1999a, b), ocorre uma redução na fotossíntese nesta fase. Esta se dar por meio da degradação da rubisco, passando a ser predominante o processo de translocação de N das folhas e caule para o de enchimento dos grãos (EICHELMANN et al, 2004). Outro fator que contribui para diminuição no teor de proteína solúvel no tecido foliar é a senescência dos nódulos que ocorre logo após a floração, com consequente redução da FBN no período de enchimento dos grãos (ALCANTARA et al., 2009). Sendo assim a maior produtividade do tratamento adubado e inoculado (Tabela 3), na época da seca, é justificada pela significativamente maior massa seca de parte aérea, provavelmente da folha (gerando maior área foliar) e teor significativamente mais elevado de proteína solúvel durante a fase de enchimento dos grãos. Na época das águas, mesmo não ocorrendo significância entre os tratamentos, o tratamento adubado e inoculado teve maior massa seca de parte aérea (Tabela 1) e teor de proteínas mais elevado, garantindo uma maior produtividade em relação aos demais (Tabela 3).

Os teores de proteínas solúveis totais no tecido foliar não foram comparados estatisticamente entre os diferentes estádios de desenvolvimento da planta, mas tende a

ser maior na fase de florescimento e a cair na fase de enchimento de grãos (Tabela 2), tão importante para garantir a produção.

**Tabela 3** - Número de vagens.planta<sup>-1</sup>, grãos.vagem<sup>-1</sup>; peso de 100 grãos e produtividade de grãos (Kg ha<sup>-1</sup>), do feijoeiro comum cultivar carioca, nos tratamentos adubado com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, inoculado com rizóbio, e inoculado e adubado, na época da seca; acrescido do tratamento sem adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura e sem inoculação, na época das águas.

Época da seca				
Tratamentos	Número de vagem.planta <sup>-1</sup>	Número de grãos.vagem <sup>-1</sup>	Massa (g) de 100 grãos	Produtividade grãos (Kg ha <sup>-1</sup> )
Adubado	9,0b	4,75a	25,257a	2146,45b
Inoculado	8,5b	5,25a	25,050a	2214,35b
Inoculado e adubado	11,75a	5,0a	24,372a	2829,58a
Média	9,75	5,0	24,893	2396,79
CV (%)	13,78	12,10	3,98	9,85
Época das águas				
Tratamentos	Número de vagem.planta <sup>-1</sup>	Número de grãos.vagem <sup>-1</sup>	Massa (g) de 100 grãos	Produtividade grãos (Kg ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	2,25b	3,75a	24,412a	443,14c
Adubado	4,75a	5,0a	24,985a	1277,99b
Inoculado	5,00a	4,3a	25,147a	1159,35b
Inoculado e adubado	6,50a	4,5a	25,193a	1593,91a
Média	4,38	4,3	25,393	1083,40
CV (%)	19,41	13,74	3,00	11,00

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Quanto aos componentes de produção, foi observada diferença significativa no número de vagens por planta, entre os tratamentos (Tabela 3). O maior valor foi obtido no tratamento adubado e inoculado, em relação aos demais tratamentos, na época da seca, e na época das águas apenas o tratamento testemunha foi significativamente inferior aos demais. Os valores mais elevados para o número de vagem por planta estão diretamente relacionados a produtividades mais elevadas, segundo Carbonell et al. (2008), e segundo estes autores este componente de produção é considerado um importante caráter genotípico a ser considerado nos programas de melhoramento, para

obtenção de cultivares mais produtivos. Os valores médios encontrados do número de vagens por planta na época da seca, são semelhantes aos de Crusciol et al. (2007), com a utilização de nitrogênio mineral no plantio, que encontraram valor médio de 9,0 vagens por planta. Segundo esses autores este resultado é justificado pelo fato de que a maior disponibilidade de N para a planta proporciona maior teor de N nas folhas e crescimento tanto de folhas quanto de ramos e, conseqüentemente, maior número de estruturas reprodutivas se desenvolvendo. Nas duas épocas a massa seca da parte aérea (Tabela 1) foi significativamente mais elevada no tratamento adubado e inoculado, que por sua vez, se correlacionou um maior número de vagem por planta somente na época da seca, e com a produtividade, nas duas épocas (Tabela 3). Tal fato pode estar relacionado a uma maior massa seca foliar e possivelmente a um maior número de cloroplastos e fotossíntese por folha, produzindo mais fotoassimilados para o enchimento dos grãos (LONG et al., 2006). Para o número de grãos por vagem, não ocorreu diferenças significativas entre os tratamentos nas duas épocas de cultivo, assim como para a massa de 100 grãos, e os valores encontrados foram semelhantes aos relatados por Andrade et al. (2001); Hawerth; Crestani; Santos, (2011).

A produtividade obtida na época das águas foi menor que na época da seca (Tabela 3), como também observado por Martins et al. (2009) relatando que linhagens semeadas na época da seca tiveram maiores rendimentos comparando com o cultivo das águas. Essa menor produtividade de grãos no cultivo das águas, em relação à da seca, foi provavelmente devida à ocorrência de alguns dias com temperaturas médias altas, superiores a 30 °C, ocorridos no início do mês de outubro, e que coincidiram com o período de floração, no cultivo das águas, causando abortamento de flores que, conseqüentemente, afetou o número de vagens por planta. Sob estas condições de temperaturas do ar, acima de 30 °C, têm sido observadas altas taxas de abortamento de flores e redução de produtividade, segundo Hoffmann Junior et al. (2007); Téran; Singh, (2002). Com relação à produtividade de grãos nas duas épocas, o tratamento adubado e inoculado também foi significativamente superior aos demais (o adubado, o inoculado e o tratamento testemunha que foi incluído na época das águas). A maior produtividade de grãos nas duas épocas de cultivo foi obtida no tratamento adubado e inoculado, que também apresentou o maior número de vagem por planta (Tabela 3) e a maior massa seca da parte aérea (Tabela 1). Além disso, a maior massa seca da parte aérea obtida no tratamento inoculado e adubado, provavelmente ocorreu devido a um maior teor de proteína solúvel na folha (Tabela 2), que está diretamente relacionado ao



aumento da quantidade de Rubisco, e maior atividade fotossintética e crescimento neste tratamento (LONG et al., 2006). Isso demonstra que a aplicação de 20 kg de N ha<sup>-1</sup> na semeadura, juntamente com a inoculação, permitiu um acréscimo de produtividade, corroborando com Hungria; Campo; Mendes (2003) e Pelegrin et al. (2009). Por outro lado, a produtividade do tratamento só inoculado não diferiu do somente adubado (Tabela 3), como já observado por Bellaver; Fagundes (2009). Isso mostra que a inoculação pode substituir a dose de 20 kg de N ha<sup>-1</sup>, em plantio não inoculado, mantendo a mesma produtividade (GRANGE et al., 2007).

## 5 CONCLUSÕES

A inoculação de rizóbios no plantio pode substituir a adubação nitrogenada com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura, sem perda de produtividade, nas condições do estudo.

A adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio, junto com a inoculação, não inibe a nodulação da cultura do feijoeiro, além de propiciar acréscimo de massa seca de parte aérea e rendimento de grãos, nas condições do estudo.

A adubação com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio, junto com a inoculação proporcionou maiores teores de proteínas solúveis no tecido foliar no estágio de florescimento pleno e esteve diretamente relacionado à maior massa seca da parte aérea e produtividade de grãos, nas condições do estudo.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDAR, H.; SILVIA, S.C.; KLUTHCOUSKI, J.; THUNG, M. Sistema de produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais: época de plantio. Santo Antonio de Goiás EMBRAPA, 2002. (circular técnica, 55).
- ALCANTARA, R M. C. M.; ARAÚJO, A. P.; XAVIER, G. R.; ROCHA, M. M.; RUMJANEK, N. G. Relações entre a contribuição da fixação biológica de nitrogênio e a duração do ciclo de diferentes genótipos de cultivos de leguminosas de grãos. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009. 27 p.
- ALIKIHANI, H.A.; SALEH-RASTIN, N.; ANTOUN, H. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. *Plant Soil*, v. 287, p. 35-41, 2006.
- ALKAMA, N.; OUNANE, G.; DREVON J., J. Is genotypic variation of H<sup>+</sup> efflux under P deficiency linked with nodulated-root respiration of N<sub>2</sub> - Fixing common-bean (*Phaseolus vulgaris L.*)? *Journal of Plant Physiology*, v. 169, p. 1084-1089, 2012.
- ALMEIDA, L.D.; LEITÃO FILHO, H.F.; MIYASAKA, S. Características do feijão carioca, um novo cultivar. *Bragantia*, v. 30, p. 33-38, 1971.
- AMANE, M.I.V.; VIEIRA, C.; NOVAIS, R.F.; ARAÚJO, G.A.A. Adubação nitrogenada e molibídica da cultura do feijão na Zona da Mata de Minas Gerais. *Rev. Bras. Cienc. Solo, Viçosa*, v. 23, p. 645-650, 1999.
- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp.nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris L.* nodules. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v. 47, p. 996-1006, 1997.
- ANDRADE, C.A. de B.; PATRONI, S.M.S.; CLEMENTE, E.; SCAPIM, C.A. Produtividade e qualidade nutricional de cultivares de feijão em diferentes adubações. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v. 28, p. 1077-1086, 2004.
- ANDRADE, M. J. B.; LUCCA, P. A.; RESENDE, P. M.; KIKUT, H. Época de colheita em cinco cultivares de feijoeiro e efeitos sobre o rendimento de grãos e seus componentes primários. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v. 25, p. 213-219, 2001.
- ARAÚJO, F.F.; MUNHOZ, R.E.V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro comum inoculadas com estirpes de *Rhizobium*. *Pesq. Agropecu. Bras., Brasília*, v. 31, p. 435-443, 1996.
- ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Eds.). *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba, POTAFOS, 1996. p. 786.
- BALA, A.; MURPHY, P.J.; OSUNDE, A.O.; GILER, K.E. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. *Applied Soil Ecology*, v. 22, p. 211-223, 2003.

BARBOSA FILHO, M. P.; SILVA, O. F. Adubação e calagem para o feijoeiro irrigado em solo de cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, p. 1317-1324, 2000.

BELLAVER, A.; FAGUNDES, R. S. Inoculação com *Rhizobium tropici* e uso do nitrogênio na base e por cobertura na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Cultivando o Saber, Cascavel, v. 2, p. 1-10, 2009.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. Biocont. Sci. Technol. v. 11, p. 557-574, 2001.

BORÉN, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉN, A. (Eds.). Feijão 2ª edição atualizada e ampliada. Viçosa: UFV, p. 13-18, 2006.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, v. 72, p. 248-254, 1976.

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

BROCKWELL, J.; HERRIDGE, D.F.; MORTORPHE, L.J.; ROUGLEY, R.J. Numerical effects of *Rhizobium* population on legumes symbiosis. In: BECK, D.P.; MATERON, L.A, eds. Nitrogen fixation by legumes in Mediterranean agriculture. Aleppo, Syria: ICARDA, p. 179-193, 1988.

BROCKWELL, W.J.; GAULT, R.R.; HERRIDGE, D.F.; MORTHORPE, L.J.; ROUGHLEY, R.J. Studies on alternative means of legume inoculation: Microbial and agronomic appraisals of commercial procedures for inoculating soybeans with *Bradyrhizobium japonicum*. Aust. J. Agric. Res., v. 39, p. 965-972, 1988.

BROUGHTON, W. J.; HAANIN, M.; RELIC, B.; KOPCINSKA, J.; GOLINOWSKI, W.; SIMSEK, S.; OJANEN-REUHS, T.; DEAKKIN, W. J. Flavonoid-inducible modifications to rhamnan o antigens are necessary for *Rhizobium* sp. Strain NGR234-legume symbioses. Journal of Bacteriology, Washington, v.188, p.3654-3663, 2006.

BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPT, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) model food legumes. Plant and Soil, v. 252, p. 55-128, 2003.

BROUGHTON, W.J.; JABBOURI, S.; PERRET, X. Keys to symbiotic harmony. *Journal of Bacteriology*, Washington, v.182, p.5641-5652, 2000.

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

CARBONELL, S.A.M.; CHIORATO, A.F.; ITO, M.F.; PERINA, E.F.; GONCALVES, J.G.R.; SOUZA, P.S.; GALLO, P.B.; TICELLI, M.; COLOMBO, C.A.; AZEVEDO FILHO, J.A. IAC-Alvorada and IAC-Diplomata: new common bean cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 8, p. 163-166, 2008.

CARDOSO, J.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S. Polyphasic approach for the characterization of rhizobial symbionts effective in fixing N<sub>2</sub> with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 93, p. 2035-2049, 2012.

CARVALHO, M. A. C.; ARF, O.; SÁ, M. O.; BUZETTI, S.; SANTOS, N. C. B.; BASSAN, D. A. Z. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 25, p. 617-624, 2001.

CHEN, W M, BONTEMPS, C, VANDAMME, P, BÉNA, G, BOIVIN-MASSON, C. Legume Symbiotic Nitrogen Fixation by  $\beta$ -Proteobacteria is Widespread in Nature. *The Journal of Bacteriology*. v.18, p.7266-7272, 2003.

CHEN, W M, LAEVENS, S, LEE, T M, COENYE, T, DEVOS, P, MERGEAY, M, VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of Mimosa species and sputum of a cystic fibrosis patient. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.51, p.1729-1735, 2001.

CIAT. Bean production Systems. Cali, Colombia, Centro internacional de agricultura Tropical, 1974. p. 112-151.

CLAESSEN, M. E. C. (Org.). *Manual de métodos de análise de solo*. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa/CNPS, 1997. 212 p. (Documentos, 1).

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: grãos: safra 2010/2011: décimo segundo levantamento: setembro/2011. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11\\_09\\_19\\_09\\_49\\_47\\_boletim\\_setembro-2011.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_09_19_09_49_47_boletim_setembro-2011.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2012.

CORDEIRO, L.; In: KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. Rio de Janeiro, RJ. Editora Guanabara Koogan S.A, 2004. Cap. 3, p.76-92.

COSTA, R.C.L.; LOPES, N.F.; OLIVA, M.A. Crescimento, morfologia, partição de assimilados e produção de matéria seca em *Phaseolus vulgaris* L., submetidos a três níveis de nitrogênio e dois regimes hídricos. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v. 26, p. 1453-1465, 1991.

CRUSCIOL, C.A.C.; SORATTO, R.P.; SILVA, L.M.; LEMOS, L.B. Fontes e doses de nitrogênio para o feijoeiro em sucessão a gramíneas no sistema plantio direto. Revista brasileira de Ciências do Solo, v. 31, p. 1545-1552, 2007.

DEBELLÉ, F.; MOULIN, L.; MANGIN, B.; DÉNARIÉ, J.; BOIVIN, C. Nod genes and Nod signals and the evolution of the *Rhizobium* legume symbiosis. Acta Biochimica Polonesa, v. 48, p. 359-365, 2001.

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

EARDLY, B.D.; HANNAWAY, D.B.; BOTTOMLEY, P.J.Characterization of rhizobia from ineffective alfalfa nodules: ability to nodulate bean plants *Phaseolus vulgaris* L. Appl. Environ. Microbiol., v.50, p.1422-1427, 1985.

EADY, R.R. Enzymology in free-living diazotrophs. In: BROUGHTON, W.J.; PUHLER, S. (eds). Nitrogen Fixation. Clarendon Press. v. 4, p. 1-49, 1986.

EICHELMANN, H.; OJA, V.; RASULOV, B.; PADU, E.; BICHELE, I.; PETTAI, H.; MOLS, T.; KASPAROVA, I.; VAPAAVUORI, E.; LAISK, A. Photosynthetic parameter of birch (*Betula pendula* Roth) leaves growing in normal and in CO<sub>2</sub>- and O<sub>3</sub>-enriched environments. Plant Cell Environ. v. 27, p. 479-495, 2004.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Embrapa arroz e feijão. Sistema de cultivo. Cultivares de feijão. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) 2008. Disponível em <<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijão/index/Abertura.htm>>. Acesso em 09 de Out de 2011.

EPSTEIN, E; BLOOM, A. J. Mineral nutrition of plants: principles and perspective. 2° ed. Sunderland, Sinauer Associates, 2005. 400 p.

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.

FACHINI, C.; BARROS, V.L.N.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; ITO, M.A.; CASTRO, J.L. Importância do feijão no agronegócio brasileiro. In: Resumos do 22º Dia de Campo de Feijão. Capão Bonito, 2006. p. 1-7.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. Growth and mineral nutrition of field crops. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1991. 624p.

FAO. Food balance sheets. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/368/DesktopDefault.aspx?PageID=368#ancor>>. Acesso em: 13 Nov. 2013.

FAOSTAT Agricultural statistics database 2007 World Agricultural Information Centre. Disponível em: <<http://apps.fao.org/>>. Acesso em: 09 SET. 2012.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B.; PENARIO, F. G.; EGÉA, M. M.; GASPARATO, M. G. Adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro, em plantio direto e convencional. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, p. 307-312, 2006.

FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPES, M. Etapas de desarrollo en la planta de frijol. In: LÓPES, M.; FERNÁNDEZ, F.; CHOONHOVEN, A. van (eds). Frijol investigación. Cali, PNUD, CIAT, 1985. p. 76.

FERREIRA, E.M.; CASTRO, I.V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. Soil Biol. Biochem., v. 27, p. 177-1183, 1995.

FIDELIS, R.R.; MRANDA, G.V.; SANTOS, I.C.; GALVÃO, J.C.C.; PELUZIO, J.M.; LIMA, S.O. Fontes de Germoplasma de milho para Estresse de Baixo Nitrogênio. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 37, p. 147-153, 2007.

FILHO, D. F.; XAVIER, M. A.; LEMOS, L. B.; FARINELLI, R. Resposta de cultivares de feijoeiro comum à adubação nitrogenada em sistema de plantio direto. Revista Científica, Jaboticabal, v. 35, p. 115-121, 2007.

FLIS, S.E.; GLENN, A.R.; DILWORTH, M.J. The interaction between aluminium and root and root nodule bacteria. Soil. Biol. Biochem. v. 25, p. 403-417, 1993.

FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. Summa Phytopathológica, São Paulo, v. 20, p. 68-74, 1994.

- FRANCO, A.A.; PEREIRA, J.C.; NEYRA, C.A. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant physiology*, v. 63, p. 421-424, 1979.
- FRINK, C.R.; PAUL E. WAGGONER, P.E.; AUSUBEL, J.H. Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v.96, p.1175-1180, 1999.
- FUSTEC, J.; LESUFFLEUR, F.; MAHIEU, S.; CLIQUET, J.B. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 30, p. 57-66, 2010.
- GALLOWAY, J.N.; TOWNSEND, A.R.; ERISMAN, J.W.; BEKUNDA, M.; CAI, Z. FRENEY, J.R.; MARTINELLI, L.A.; SEITZINGER, S.P.; SUTTON, M.A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, v. 320, p. 889-892, 2008.
- GARG, N.; SINGLA R. Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress, *Brazilian J. Plant Physiol.* v. 16, p. 137-146, 2004.
- GEPTS, P. e DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the cammon bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: SCHOONHOVEN, A. VAN e VOYSES, O. (eds.). *Common Beans: Reseach for crop improvement Cali*. C.A.B. International, CIAT. 1991. p. 7-53.
- GRAHAM, P H.; VANCE, C.P. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology*, v. 131, p. 872-877, 2003.
- GRAHAM, P. H. Ecology of the Root-nodule Bactria of Legumes. In: DILWORTH, M.J. JAMES, E.K.; SPRENT, J.I.; NEWTON, W.B.E. *Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses*. Ed. 7. Universidade de Minne Sola, SI Paul, E.U.A. 2008. p. 23-43.
- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a review. *Field Crops Research*, v. 4, p. 93-112, 1981.
- GRAHAM, P.H.; DRAEGER, K.J.; FERREY, M.L.; CONROY, M.J.; HAMMER, B.E.; MARTÍNEZ, E.; AARONS, S. R.; QUINTO, C. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, v. 40, p. 198-207, 1994.
- GRAHAM, P.H.; VANCE, C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research*, Warwick, v. 65, p. 93-106, 2000.
- GRANGE, L.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biology e Biochemistry*, v. 36 p. 1389-1398, 2004.



GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P. H.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) in Brazil. *Soil Biology e Biochemistry*, Brisbane, v. 39, p. 867-876, 2007.

HARDARSON, G. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant Soil*, v. 152, p. 1-17, 1993.

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

HAWERROTH, F. J.; CRESTANI, M.; SANTOS, J. C. P. Desempenho de cultivares de feijoeiro sob inoculação com *Rhizobium* e relação entre os caracteres componentes do rendimento de grãos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, p. 897-908, 2011.

HOFFMANN JUNIOR, L.; RIBEIRO, N. D.; ROSA, S. S.; JOST, E.; POERSCH, N. L.; MEDEIROS, S. L. P. Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, p. 1543-1548, 2007.

HUNGRIA, M., STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biology and Biochemistry*. Oxford, v. 29, p. 819-830, 1997.

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

HUNGRIA, M.; BARRADAS, C.A.; WALLSGROVE, R.M. Nitrogen fixation, assimilation and transport during the initial growth stage of *Phaseolus vulgaris L.* *Journal of Experimental Botany*. Oxford, v. 42, p. 839-844, 1991.

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

HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. Nodule senescence in *Phaseolus vulgaris L.* *Tropical Agriculture*. Trinidad, v. 65, p. 341-346, 1988.

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

HUNGRIA, M.; JOSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. Anthocyanidins and flavonols, major nod gene inducers from seeds of a black-seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Physiology*, v. 97, p. 751-758, 1991.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds.), *Biologia dos Solos dos Cerrados*. EMBRAPA-CPAC, Planaltina/Brazil, 1997. p.189-295.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 65, p. 151-164, 2000.

IBGE. Censo agropecuário 2006: agricultura familiar primeiros resultados. Rio de Janeiro, 2006. 267 p.

IMRAN, A.; HAFEEZ, F.Y.; FRÜHLING, A.; SCHUMANN, P.; MALIK, K.A.; STACKEBRANDT, E. *Ochrobactrum ciceri* sp. nov., isolated from nodules of *Cicerarietinum*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v.60, p. 1548-1553, 2010.

JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. Determinação do nível crítico de Mo nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Turrialba, Costa Rica, v. 39, p. 215-223, 1989.

JASMIM, J.M.; MONNERAT, P.H.; ROSA, R.C.C. Efeito da omissão de N, Ni, Mo, Co e S sobre os teores de N e S em feijoeiro. *Revista brasileira de ciências do Solo*, v. 26, p. 967-975, 2002.

JORDAN, D.C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: Kriegn, N.R., Holt, J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, London, 1984. p. 235-244.

KARANJA, N.K.; WOOD, M. Selecting *Rhizobium phaseoli* stains for use with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya: infectiveness and tolerance of acidity and aluminium. *Plant and Soil*; v. 112, p. 7-13, 1993.

KONDOROSI, E.J.; GYURIS, J.; SCHMIDT, M.; JOHN, E.; DUDA, J.; HOFFMAN, J.; SCHELL, A.; KONDOROSI. Positive and negative control of nod gene expression in *Rhizobium meliloti* is required for optimal nodulation. *EMBO Journal*, Oxford, v: 5; p. 1331-1340, 1989.

KLUTHCOUSKI, J.; AIDAR, H.; THUNG, M. Principais problemas da cultura do feijão no Brasil. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. (Ed.). *Feijão: estratégias de manejo para alta produtividade*. Piracicaba: ESALQ, 2007. p. 53-102.

LAZAROWITZ, S. G., AND BISSELING, T. Plant development from the cellular perspective: Integrating the signal (Cellular Integration of Signaling Pathways in Plant Development, Acquafredda de Maratea, Italy, *Plant Cell.*, v. 9, p. 1884-1900, 1997.

LINDEMANN, W. C.; GLOVER, C. R. Nitrogen fixation by legumes Guide A-129. Cooperative Extension Service College of Agriculture. Home Economics. Mexico:Electronic Distribution, May, 2003.

LOBO, A. K. M.; MARTINS, M DE O.; LIMA NETO, M. C.; BONIFÁCIO, A.; SILVEIRA, J. A. G DA. Compostos nitrogenados e carboidratos em sorgo submetido à salinidade e combinações de nitrato e amônio. Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 42, p. 390-397, 2011.

LONG, S. P.; ZHU, X. Z.; NAIDU, S. L.; ORT, D. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? Plant, Cell and Environment, Malden, v. 29, p. 315-330, 2006.

LOUREIRO, F.E.L.; NASCIMENTO, M. Importância e função dos fertilizantes numa agricultura sustentável. Série estudos e documentos. CETEM / MC. v. 53, p. 75, 2003.

LIN, D.X.; WANG, E.T.; TANG, H.; HAN, T.X.; HE, Y.R.; GUAN S.H.; CHEN, W.X. *Shinella kummerowiae* sp. nov., a symbiotic bacterium isolated from root nodules of the herbal legume *Kummerowia stipulacea*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., v.58, p.1409-1413, 2008.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MALAVOLTA, E.; DAMIÃO FILHO, C.F.; VOLPE, C.A.; MACHADO JR., G.R.; VELHO, L.M.S.; ROSA, P.R.F.; DE LAURENTIZ, S. Deficiências e excessos minerais no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Carioca). Anais da ESALQ, v. 37, p. 701-718, 1980.

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

MANTELIN, S.; FISCHER, L.E, SAUX, M.; ZAKHIA, F.; BÉNA, G.; BONNEAU, S.; JEDER, H.; LAJUDIE, P.; CLEYET-MAREL, J.C. Emended description of the genus *Phyllobacterium* and description of four novel species associated with plant roots: *Phyllobacterium bourgognense* sp. nov., *Phyllobacterium ifriqiyense* sp. nov., *Phyllobacterium leguminum* sp. nov. and *Phyllobacterium brassicacearum* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., v. 56, p. 827-839, 2006.

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

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

MARTINS, M.; FONSECA, L. F.; MELO, L. C.; OLIVERIA, D. R. F.; ALVIN, K. R.; SANTANA, D. G. Avaliação de genótipos de feijoeiro comum do grupo comercial carioca cultivados nas épocas das águas e do inverno em Uberlândia, estado de Minas Gerais. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 31, p. 23-28, 2009.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; HUNGRIA, M.; SOUSA, D.M.G.; CAMPO, R.J. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1053-1060, 2008.

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABOUD, A.C.S.; FRANCO, A.A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. *R. UFRRJ: Seropédica-Rj. Ciências da Vida*, v. 21, p. 127-146, 1999.

MIGUEL, D.L.; MOREIRA, F.M. S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 25, p. 873-883, 2001.

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

MOREIRA, F.M.S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosas. In: Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Eds.), Lavras, UFLA, 2008, p.621-680.

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

MOULIN, L, CHEN, W-M, BÉNA, G, DREYFUS, B, BOIVIN-MASSON, C. Rhizobia: the family is expanding. In: O'BRIAN, M, LAYZELL, D, VESSEY, K, NEWTON, W. Editors. *Nitrogen Fixation: Global Perspectives*. CAB International, 2002. p. 61-65.

MULAS, D.; GARCÍA-FRAILE, P.; CARRO, L.; RAMÍREZ-BAHENA, M.H.; CASQUERO, P.; VELÁZQUEZ, E.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. Distribution and efficiency of *Rhizobium leguminosarum* strains nodulating *Phaseolus vulgaris* L. in Northern Spanish soils: Selection of native strains that replace conventional N fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 43, p. 2283-2293, 2011.

NORMAN, M.J.T.; CRAIG, J. P.; SEARLE, P.G.E. The ecology of tropical food crops. New York^ eNY NY: Cambridge University Press, 1995. p. 185-192.

OLIVEIRA, A.P.; SILVA, V.R.F.; ARRUDA, F.P.; NASCIMENTO, I.S.; ALVES, A.U. Rendimentos de feijão-caupi em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio. Horticultura Brasileira, v. 21, p. 77-80, 2003.

OLIVEIRA, I. P.; ARAÚJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Ed.). Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 169-221.

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

PERRET, X.; STAEHELIN, C.; BROUGHTON, W.J. Molecular basis of symbiotic promiscuity. Microbiology and Molecular Biology Reviews, Washington, v. 64, p.180-201, 2000.

PIMENTEL C, LAFFRAY D, LOUGUET P. Intrinsic water use efficiency at the pollination stage as a parameter for drought tolerance selection in *Phaseolus vulgaris* L. Physiol. Plant., v. 106, p. 184-198, 1999a.

PIMENTEL, C. Efficiency of nutrient use by crops for low input agro-environments. In: Singh, R.P., Shankar, N.; Jaiwal P.K. (eds.). Nitrogen nutrition in plant productivity. Houston: Studium Press, 2006. p. 277-328.

PIMENTEL, C.; HÉBERT, G.; VIEIRA, S.J. Effects of drought on O<sub>2</sub> evolution and stomatal conductance of beans at the pollination stage. Environ. Exp. Bot., v. 42, p. 155-162, 1999b.

PIMENTEL, C.; JACOB NETO, J.; GOI, S.R.; PESSANHA, G.G. Estresse hídrico em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. em simbiose com o *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. Turrialba, San José, v. 40, p. 520-526, 1990.

PINTO, F. G. S.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F. M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N<sub>2</sub> with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Soil Biology & Biochemistry, Oxford, v. 39, p. 1851-1864, 2007.

PUPPO, A.; GROTEN, K.; BASTIAN, F.; CARZANIGA, R.; SOUSSI, M.; MERCEDES LUCAS, M.; ROSARIO DE FELIPE, M.; HARRISON, J.; VANACKER, H.; FOYER, C. H. Legume nodule senescence: roles for redox and hormone signalling in the orchestration of the natural aging process. *New Phytologist*, Oxford, v. 165, p. 683-701, 2005.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. de. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉN, A. (Eds.). *Feijão 2ª edição atualizada e ampliada*. Viçosa: UFV, 2006. p. 415-436.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; CARNEIRO, J.E.S. Cultivares. *Feijão de alta produtividade. Informe Agropecuário*, v. 25, p. 21-32, 2004.

RAMOS, M.L.G.; PARSONS, R.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K. Effect of water stress on nitrogen fixation and nodule structure of common bean. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 38, p. 339-347, 2003.

REIS, V. M. R.; TEIXEIRA, K. Fixação Biológica de Nitrogênio - Estado da Arte. In: AQUINO, A. M.; LINHARES (Eds.), cap. 6, p. 151-180.

RIVAS, R, VELAZQUEZ, E, WILLEMS, A, VIZCAINO, N, SUBBA-RAO, N S, MATEOS, P F, GILIS, M, DAZZO, F B, MARTINEZ-MOLINA E. A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans* (L.f.). *Druce. Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, p. 5217-5222, 2002.

ROBERTSON, G. P.; VITOUSEK, P. M. Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. *Annu Rev Environ Resour.*, v. 34, p. 97-125, 2009.

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

ROSALES, M.A.; CUELLAR-ORTIZ, S.M.; ARRIETA-MONTIEL, M.P.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; COVARRUBIAS, A.A. Physiological traits related to terminal drought resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). *J Sci Food Agric.*, v. 93, p. 324-331, 2013.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: Freire Filho, F. R.; Lima, J. A. de A.; Silva, P. H. S. da; Viana, F. M. P. (Org.). *Feijão-caupi: avanços tecnológicos*, 2005, p. 279-335.

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

SANTOS, J.B.; GAVILANES, M.L. Botânica. In: VIEIRA, C. JÚNIOR, T.J.P.; BOREM, A. Feijão. 2.ed. Viçosa, Minas Gerais: Editora UF, 2006. p. 41-65.

SCHOONHOVEN, A. VAN.; VOYSEST, O. Common beans research for crop improvement. Centro internacional de agricultura tropical. Cali, Colômbia, 1991. P. 1.

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

SILVA, T. R. B. SORATO, R. P.; CHIDI, S. N.; ARF, O.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro de inverno. Cultura Agronômica, Ilha Solteira, v. 9, p. 1-17, 2000.

SILVEIRA, J.A.G.; VIEGAS, R.A.; FIGUEIREDO, M.V.B.; OLIVEIRA, J.T.A.; COSTA, R.C.L. N-compound accumulation and carbohydrate shortage on N<sub>2</sub> fixation in drought-stressed and rewatered cowpea plants. Spanish J. Agric. Res., v. 3, p. 65-76, 2003.

SILVENTE, S.; REDDY, P. M.; KHANDUAL, S.; BLANCO, L.; AFFANTRANGER, X. A.; SANCHEZ, F.; FLORES, M. L. Evidence for sugar signalling in the regulation of asparagine synthetase gene expressed in *Phaseolus vulgaris* L. roots and nodules. Journal of Experimental Botany, v. 59, p. 1279-1294, 2008.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA M. e ARAUJO, R.S. Microrganismos e processos biológicos do solo: Perspectiva ambiental. Santo Antônio de Goiás, Embrapa-CNPAF; Londrina, Embrapa-CNPSO; Brasília, Embrapa-SPI, 1994. p. 47-50. (Documentos, 45).

SLATTERY, J.F.; COVENTRY, D.R.; SLATTERY, W.J. Rhizobial ecology as affected by the soil environment. Australian Journal of Experimental Agriculture, v. 41, p. 289-298, 2001.

SMITH, P.; MARTINO, D.; CAI, Z.; GWARY, D.; JANZEN, H.H.; KUMAR, P.; MCCARL, B.; OGLE, S.; O'MARA, F.; RICE, C.; SCHOLLES, R.J.; SIROTENKO, O.; HOWDEN, M.; MCALLISTER, T.; PAN, G.; ROMANENKOV, V.; SCHNEIDER, U.; TOWPRAYOON, S.; WATTENBACH, M.; SMITH, J.U. Greenhouse gas mitigation in agriculture. Philosophical Transactions of the Royal Society B, v. 363, p. 789-813, 2008.

SORATTO, R. P.; CARVALHO, M. A. C.; ARF, O. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto. Bragantia, Campinas, v. 64, p. 211-218, 2005.

- SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; MACIEL, C.D.; CAMPO, R.J. e ZAIA, D.A.M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 43, p. 83-91, 2008.
- SPATZAL, T.; AKSOYOGLU, M.; ZHANG, L.; ANDRADE, S. L.A.; SCHLEICHER, E.; WEBER, S.; RESS, D.C.; EINSLE, O. Evidence for interstitial carbon in nitrogenase Fe Mo cofactor. *Science*, v. 334, p. 940, 2011.
- SPECHT, J.E., HUME, D.J., KUMUDINI, S.V. Soybean yield potential - a genetic and physiological perspective. *Crop Science*, v. 39, p.1560-1570, 1999.
- STRALIOTTO, R. A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia (CNPAB), 2002. p. 6.
- STRALIOTTO, R.; CUNHA, C.O.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; RUMJANEK, N.G. Diversity of rhizobia nodulating common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) isolated from Brazilian tropical soils. *An. Acad. Bras. Ci.*, v. 71, p.531-543, 1999.
- STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999, 51 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 94).
- STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. e 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.
- SUGAWARA, M.; OKAZAKI, S.; NUKUI, N.; EZURA, H.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Rhizobitoxine modulates plant-microbe interactions by ethylene inhibition. *Biotechnol*, v. 24, p. 382-388, 2006.
- SY, A, GIRAUD, E, JOURAND, P, GARCIA, N, WILLEMS, A, LAJUDIE, P, PRIN, Y, NEYRA, M, GILLIS, M, BOINVIN-MASSON, C, DREYFUS, B. Methylo trophic methylobacterium bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. *The Journal of Bacteriology*, v. 183, p. 214-220, 2001.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Ed Artmed, 2009. 848 p.
- TÉRAN, H.; SINGH, S.P. Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. *Crop Science*, Madison, v. 42, p. 64-70, 2002.
- TILMAN, DAVID. Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 96, p. 5995-6000, 1999.
- TSAI, S.M.; BONETTI, R.; AGBALA, S.M.; ROSSETO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. *Plant Soil*, v. 152, p. 131-138, 1993.



- VALADÃO, F. C. A.; JAKELAITIS, A.; CONUS, L. A.; BORCHARTT, L.; OLIVEIRA, A. A.; VALADÃO JUNIOR, D. D. Inoculação das sementes e adubações nitrogenada e molíbdica do feijoeiro-comum, em Rolim de Moura, RO. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 39, p. 741-748, 2009.
- VAN B. P.; BEYENE, D.; BAO, G.; CAMPBELL, T.A.; EARDLY, B.D. *Rhizobium mongolense* sp. nov. is one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen-fixing symbioses with *Medicago ruthenica*. *Inter. J. Syst. Bacteriol.*, v. 48, p. 13-22, 1998.
- VAN BERKUN, P.; EARDLY, B.D. The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a nitrogen-fixing symbiotic of *Aeschynomene indica*. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 68, p. 1132-1136, 2002.
- VANCE, C. P. Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects. In: SPAINK, H. P. (Ed.) *The Rhizobiaceae*. Kluwer Academic Publishers, 1998. p.509-530.
- VANDAMME, P. COENYE, T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v. 54, p. 2285-2289, 2004.
- VARGAS, A.A.T.; GRAHAM, P.H. Cultivar and pH effects on competition for nodule sites between isolates of *Rhizobium* in beans. *Plant and Soil*. Dordrecht, v. 117, p. 197-200, 1989.
- VERMA, D.P.S.; BALL A.K. Intracellular site of synthesis and localization of leghemoglobin in root nodule. *Proceeding of the national academy of sciences of the USA*, Washigton, v. 73, p. 3843-3847, 1976.
- VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C. et al. (Coord.). *Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas*. Viçosa: UFV, 1998. p. 115-151.
- VIEIRA, C.; NOGUEIRA, A.O.; ARAUJO, G.A.A. Adubação nitrogenada e molíbdica na cultura do feijão. *Rev. Agric.*, v. 67, p. 117-24, 1992.
- VIEIRA, N. M. B.; ANDRADE, M. J. B.; CARVALHO, J. G. C.; ALVES JUNIOR, J.; MORAIS, A. R. Altura de planta e acúmulo de matéria seca do feijoeiro cvs. BRS MG talismã e ouro negro em plantio direto e convencional. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v. 32, p. 1687-1693, 2008.
- VIEIRA, R. F.; TSAI, S. M.; TEXEIRA, M. A. Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em feijoeiro com estirpes nativas de rizóbio, em solo tratado com lodo de esgoto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, p. 1047-1050, 2005.

VOISIN, A. S.; SALON, C.; JEUDY, C.; WAREMBOURG, F. R. Symbiotic N<sub>2</sub> fixation activity in relation to C economy of *Pisum sativum* L. as a function of plant phenology. *Journal of Experimental Botany*, Lancaster, v. 54, p. 2733-2744, 2003.

WANI, S.P.; RUPELA, O.P.; LEE, K.K. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. *Plant Soil*, Dordrecht, v. 174, p. 29-49, 1995.

Weir, B.S. The current taxonomy of rhizobia. NZ Rhizobia website. <http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia> Last updated: 10 April, 2012.

WESTGATE, M.E; BOYER, J.S. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Sci* , v. 26, p. 951-956, 1986.

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

XAVIER, T.F.; ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; CAMPOS, F.L. Ontogenia da nodulação em duas cultivares de feijão caupi. *Ciência Rural*, v. 37, p. 56-564, 2007.

YOKOYAMA, L. P. Aspectos conjunturais da produção de feijão. 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. 249-292.

ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; WANG, X.; CUI, J.; XIA, X.; SHI, K.; YU, J. Effects of nitrogen form on growth, CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence, and photosynthetic electron allocation in cucumber and rice plants. *Journal of Zhejiang University-Science B*, Hangzhou, v. 12, p. 126-134, 2011.