



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

MARCELO DE SOUSA PINHEIRO

**INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E ESTIRPES DE RIZÓBIOS EM FEIJÃO-
CAUPI**

FORTALEZA

2014

MARCELO DE SOUSA PINHEIRO

INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E ESTIRPES DE RIZÓBIO EM FEIJÃO-CAUPI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Melhoramento Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini

Co-orientadora: Claudia Miranda Martins

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- P721i Pinheiro, Marcelo de Sousa.
2014. Interação entre genótipos e estirpes de rizóbio em feijão-caupi / Marcelo de Sousa Pinheiro. –
39 f. il., color. enc. ; 30 cm.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Fortaleza,
2014.
Área de concentração: Melhoramento Vegetal.
Orientação: Profa. Dra. Cândida Herminia Campos de Magalhães Bertini.
Coorientação: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins.
1. Rizóbio. 2. Simbiose. 3 Melhoramento de cultivos agrícolas. 4. Feijão-caupi. I. Título.

CDD 632

MARCELO DE SOUSA PINHEIRO

INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E ESTIRPES DE RIZÓBIO EM FEIJÃO-CAUPI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Melhoramento Vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.

Co-orientadora: Claudia Miranda Martins.

Aprovada em: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Claudia Miranda Martins (Co-orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Júlio César do Vale Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Raimundo e Aurineide e ao meu irmão Marcílio por sempre terem me dado apoio e muita força.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida e força para superar os entraves da vida acadêmica.

Aos meus pais, pela grande força e apoio para realização deste curso.

A minha família pelo apoio incentivo a conclusão deste curso em especial ao me primo Emanuel Franco, que muito me ajudou quando cheguei nessa cidade para cursar o ensino superior.

A Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de realizar este curso de pós-graduação e estrutura para execução deste trabalho.

A Profa. Dra. Cândida H. C. M. Bertini, (orientadora) que seguiu a minha caminhada acadêmica ao longo deste dois anos, pelo seu grande apoio e disponibilidade de melhorar o trabalho.

A Profa. Dra. Claudia pela sua imensa contribuição como co-orientadora, apoio, incentivo, pelas sugestões de melhorias no trabalho e também paciência durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao prof. Júlio por sua valiosa contribuição para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ervino Bleicher pelo apoio dado durante a execução do trabalho, por ceder espaço para execução dos trabalhos em casa de vegetação.

Ao Dr. Lindbergue Crisóstomo, por permitir a realização de parte das análises em seu laboratório.

Ao Dr. Carlos Taniguchi, Profa Suzana Claudia S. Martins, a Profa. Dra. Érica Freitas pelo apoio.

Ao Cícero que tanto sofreu comigo na montagem dos experimentos, sempre com muita disposição.

Aos ex-colegas do PET pelo companheirismo e apoio.

Ao grande amigo Ronaldo Belem, pelo companheirismo durante toda graduação.

A todos colegas que fazem o LAMAB, pelo apoio e amizade

A Juliani e Fernando pelo apoio.

A Dani pela sua amizade, disposição para ajudar.

“O homem não é nada além daquilo que a educação faz dele”.

Immanuel Kant

RESUMO

O feijão-caupi é uma cultura amplamente produzida nas regiões norte e nordeste do Brasil, e bastante adaptada à condições edafoclimáticas adversas. Entretanto, o feijão-caupi ainda é uma cultura com baixa produtividade, principalmente pelo baixo nível tecnológico empregado. Nesse aspecto a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é uma alternativa viável para o fornecimento de nitrogênio de forma barata, porém é importante selecionar variedades de feijão-caupi mais eficientes e adaptadas ao processo de FBN. Objetivou-se com esse trabalho, testar a capacidade de estirpes de rizóbios nativos de regiões semiáridas, em gerar ganhos na produção do feijão-caupi, capazes de se equiparar a cultura adubada e verificar a existência de interação entre o feijão-caupi e os rizóbios. Foram testadas 21 genótipos obtidos do banco de germoplasma da UFC e quatro estirpes de rizóbios nativas do semiárido obtidas da coleção de culturas do laboratório de microbiologia ambiental da UFC. Foram realizados quatro experimentos em delineamento de blocos ao acaso no esquema fatorial 6X8 sendo seis genótipos de feijão-caupi, oito fontes de nitrogênio e três repetições. As fontes de nitrogênio foram compostas por quatro estirpes nativas mais duas estirpes padrões e a testemunha adubada mais o controle sem inoculação (sem adubo e sem rizóbio). O genótipo CE-930 foi repetido em todos ensaios. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação da UFC e os genótipos semeados em vasos do tipo “Leonard”, com substrato estéril e inerte composto por areia e vermiculita. Após 35 a 40 dias do plantio realizou-se a coleta de dados para análise. Não foi encontrada interação significativa entre os genótipos e as estirpes de rizóbios. Não houve variação de resposta quanto ao nitrogênio total entre nenhum dos genótipos avaliados nos quatro experimentos, todos foram estatisticamente iguais, porém quanto as demais variáveis houveram valores bem diferentes em alguns casos. Quando se analisou as fontes de nitrogênio, nos quatro ensaios todas as estirpes com exceção da LAMAB-8 geraram aumento de produção quase sempre similar a testemunha nitrogenada. Os genótipos de feijão-caupi não influenciaram as respostas das estirpes de rizóbios, não sendo revelada interação entre ambos. As estirpes LAMAB-40, LAMAB-48 e LAMAB-65 expressaram capacidade de fixar nitrogênio de forma equiparada as estirpes já recomendadas para a cultura e quando adubada quimicamente.

Palavras-chave: Estirpes. Simbiose. Melhoramento vegetal.

ABSTRACT

Cowpea is a crop widely produced in the North and Northeast of Brazil, and quite adapted to adverse environmental conditions. However, the cowpea is still a culture with low productivity, mainly by low technological level employee. In this respect Biological Nitrogen Fixation (BNF) is a viable option for the supply of nitrogen on the cheap alternative, but it is important to select cowpea varieties most efficient and adapted to the FBN process. The objective of this work was to test the ability of strains of rhizobia and semiarid regions, generating gains in the production of cowpea, able to match the fertilized crop and verify the existence of interaction between cowpea and rhizobia. 21 genotypes obtained from the germplasm bank of the UFC and four strains of native rhizobia obtained semiarid from the culture collection of the laboratory of environmental microbiology at UFC were tested. Four experiments were conducted in a randomized block design in a factorial 6X8 being six genotypes of cowpea, eight sources of nitrogen and three replications. The nitrogen sources were composed of four native strains plus two standard strains and fertilized witness over the uninoculated control (without fertilizer and without rhizobia). The CE-930 genotype was repeated for all trials. The experiments were conducted in a greenhouse of the UFC and genotypes was sown in pots such as "Leonard", with sterile and inert substrate composed of sand and vermiculite. After 35-40 days of planting was carried out collect data for analysis. No significant interaction was found between genotypes and strains of rhizobia. There was no response variation for total nitrogen between any of the genotypes in the four experiments, all were statistically equal, but as the other variables there were very different values in some cases. When we analyzed the sources of nitrogen in the four tests all strains except LAMAB-8 generated increased production almost always similar nitrogen witness. The genotypes of cowpea did not influence the responses of strains of rhizobia, not being revealed interaction between them. The LAMAB-40, LAMAB-48 and LAMAB-65 strains expressed ability to fix nitrogen assimilated form already strains recommended for culture and when chemically fertilized.

Keywords: Strains. Symbiosis. plant Breeding.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Garrafas PET adaptadas em vasos para plantio do feijão.....	23
Figura 2 – Medição do comprimento da planta com régua graduada.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de acessos utilizados e caracterização agronômica com os dados adotados como critérios na seleção das variedades.....	21
Tabela 2 - Valores médios das variáveis quanto aos genótipos.....	27
Tabela 3 - Valores médios das variáveis quanto as fontes de nitrogênio.....	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral:	13
2.2	Objetivos específicos:.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	Feijão-caupi	14
3.2	O nitrogênio na agricultura.....	16
3.3	Processo de FBN	18
3.4	Melhoramento genético do feijão-caupi	19
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1	Escolha das Estirpes	21
4.2	Genótipos de feijão-caupi	21
4.3	Condução dos ensaios.....	22
4.4	Inoculante	23
4.5	Variáveis analisadas	23
4.6	Coleta de dados.....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÕES	31
	REFERÊNCIAS	32
	APÊNDICE A – RESUMO DO QUADRO DE ANOVA PARA VARIÁVEIS ABORDADAS NOS ENSAIOS	38
	ANEXO A - SOLUÇÃO NUTRITIVA DE NORRIS (VINCENT, 1970).....	39

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-caupi é cultivado nas regiões Norte e principalmente Nordeste, onde tem grande importância como fonte geradora de emprego e renda e constitui-se em um dos principais componentes da alimentação humana dessas regiões. Também revela inegável importância para países da África e Ásia em função do seu alto teor protéico, essencial na nutrição humana (FREIRE FILHO *et al.*, 2005).

É uma cultura que apresenta grande adaptação a condições edafoclimáticas adversas, porém tem baixas produtividades médias. As causas desse baixo rendimento estão relacionadas a problemas edáficos como, chuvas irregulares ou irrigação incorreta em cultivos irrigados, problemas fitossanitários ou sistema de produção de baixo nível tecnológico. Alguns produtores buscam adotar a mecanização em todas as etapas do cultivo para melhorar o sistema produtivo (MATOS FILHO *et al.*, 2009).

O uso da adubação mineral para fornecimento do nitrogênio é um processo de alto custo e pouco acessível a pequenos produtores, além disso é potencialmente mais poluente devido o risco de contaminação do lençol freático com nitrato (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Uma forma alternativa para o fornecimento do nitrogênio as plantas é por meio da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) que contribui de forma significativa para o aporte desse nutriente no solo.

O feijão-caupi é uma leguminosa e como as demais pode se beneficiar da FBN. As bactérias conhecidas genericamente como rizóbios, são capazes de realizar associação simbiótica com espécies leguminosas, e sua contribuição se torna maior em áreas degradadas e com baixa fertilidade (MELLONI *et al.*, 2006).

A adoção da tecnologia da inoculação com estirpes de rizóbios recomendadas tem gerado redução nos custos com adubos nitrogenados, a exemplo da soja, na qual toda adubação nitrogenada foi substituída por inoculantes, resultando em economia anual de cerca de 3 bilhões de dólares (HUNGRIA *et al.*, 2005). Para o feijão-caupi já existem estirpes recomendadas, no entanto, podem apresentar ampla variabilidade de respostas conforme a especificidade da cultivar (SOARES, 2007).

De forma geral, a FBN nas leguminosas se mostra bastante variável dependendo da espécie e sua adoção tem grande potencial para melhorar a nutrição destas por meio do melhoramento genético (ALCÂNTARA *et al.*, 2014). Na Europa, desde a década de 40, são desenvolvidos estudos com várias espécies como, trevo (*Trifolium pratense*), fava (*Vicia*

faba), soja (*Glycine max*), alfafa (*Medicago sativa*) e ervilha (*Pisum sativum*), com o intuito de identificar genótipos mais eficientes na FBN (HERRIDGE; ROSE, 2000).

Em geral os programas de melhoramento vegetal de feijão-caupi costumam focar no caráter precocidade, resistência a pragas e doenças, armazenamento, produtividade e características de grãos (SINGH, *et al.*, 2002). A FBN apresenta um enorme potencial para o feijão-caupi, porém para que haja êxito é preciso que tanto o vegetal quanto a bactéria sejam melhoradas de forma conjunta necessitando mais estudos que abranjam ambos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Identificar pelo menos uma combinação entre estirpes de rizóbios nativos de regiões semiáridas e genótipos de feijão-caupí, com capacidade de gerar ganhos em produtividade iguais ou superiores a cultura adubada.

2.2 Objetivos específicos:

Verificar se há interação entre genótipos de feijão-caupí e estirpes de rizóbios;

Identificar pelo menos uma estirpe de rizóbio com capacidade de fixar nitrogênio de forma eficiente, capaz de gerar ganhos similares a cultura que recebe adubo nitrogenado.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), comumente chamado de feijão-de-corda ou feijão-macassar é originário da África, e foi introduzido no Brasil na segunda metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia (FREIRE FILHO, 1988). Esta espécie é atualmente classificada como dicotyledonea, ordem fabales, família fabaceae, subfamília faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero vigna, secção Catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata* (PADULOSI; NG, 1997; SMARTT, 1990; VERDCOURT, 1970).

Constitui a alimentação básica para as populações de baixa renda do Nordeste brasileiro. A cultura do feijão-caupi é uma das principais fontes de renda e emprego desta região, na qual é cultivada por pequenos produtores para subsistência, mas também por médios e grandes que usam sistema tecnificado (FREIRE FILHO *et al.*, 2007; FROTA *et al.*, 2008). Esta região é uma das maiores consumidoras deste tipo de feijão, porém, apresenta produtividade média de apenas 303 kg ha⁻¹, enquanto que no estado do Ceará na safra de 2012/2013 foi plantada uma área de 348 mil ha e apresentou uma produtividade de 179 kg ha⁻¹. Por outro lado, a região Norte que não tem o consumo tão elevado quanto o Nordeste, teve como produtividade média 792 kg ha⁻¹ (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013).

O mercado é dividido em três segmentos bem definidos, grãos secos, feijão verde (vagem verde ou grão verde debulhado) e sementes, já o mercado de feijão processado industrialmente está em fase inicial (FREIRE FILHO, 2013). Dados disponíveis na FAOSTAT (2014) sobre a produção mundial de feijão-caupi, no ano de 2012, indicam que a cultura atingiu 5,7 milhões de toneladas em 11,3 milhões de ha, destacando-se como maiores produtores a Nigéria, o Niger e Burkina Faso.

O feijão-caupi se destaca como uma cultura altamente adaptada, tolerante aos estresses hídricos, térmicos e salinos (MARTINS *et al.*, 1997). Por isso, tem grande importância socioeconômica para pequenos e médios agricultores (FREIRE FILHO *et al.*, 2005). Exige um mínimo de 300 mm de precipitação, distribuídos regularmente durante o ciclo vegetativo, para que produza satisfatoriamente sem a necessidade de irrigação suplementar (ALMEIDA, 2008).

A faixa ótima de temperatura situa-se entre 20 e 30° C, valores inferiores a 19° C comprometem a produtividade, dando margem ao aumento do ciclo vegetativo e retardando o florescimento. Temperaturas superiores a 35° C também geram prejuízos ao desenvolvimento da cultura, pois provocam aborto espontâneo das flores, e diminuem consideravelmente o número de sementes por vagem, prejudicando a produção final (CAMPOS; SILVA; SILVA, 2010).

A adaptação do feijão-caupi é atribuída a sua alta variabilidade genética, pois possui genes de tolerância a estresses, que lhe conferem ampla adaptação edafoclimática, alto potencial produtivo e alta capacidade de obter nitrogênio em associação a bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (BEZERRA, 1997; XAVIER, 2000).

O feijão-caupi tem ganhado maior importância, pois foi recentemente introduzido em áreas de grandes produtores agrícolas nos Cerrados das regiões Norte, Nordeste, e Centro-Oeste, principalmente em função de sua compatibilidade com o sistema de rotação de cultura e o regime pluviométrico regional (FREIRE FILHO *et al.*, 2011). Nessas áreas, os agricultores introduzem o feijão-caupi na “safrinha”, após a colheita do arroz, no final da estação das chuvas, tanto em lavouras recém-abertas, como em rotações de cultivos bianuais com soja (ZILLI *et al.*, 2006).

O volume de produção saltou de 3.759 toneladas, em 2006, para 104.349 toneladas, em 2009, com uma produtividade média anual, nesse período, de 960 kg ha⁻¹, valor muito superior ao da média nacional, que foi de 369 kg ha⁻¹ (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

Existem vários entraves que limitam o crescimento da área plantada com feijão-caupi, dentre estes pode-se destacar a baixa produtividade, que varia de 300 a 400 kg ha⁻¹. Isso ocorre em razão do baixo nível tecnológico aplicado ao sistema de cultivo. Associado a este fator está a reduzida especificidade na nodulação, fato que implica na necessidade de adoção de tecnologias que proporcionem aumento da produção (MEDEIROS *et al.*, 2007; ZILLI *et al.*, 2008). Segundo Freire Filho *et al.* (2005) a cultura, se bem nutrida, tem potencial para produzir até 6.000 kg ha⁻¹.

Essa leguminosa, por associar-se a bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, entre outros, obtém o nitrogênio por simbiose, um processo fisiológico importante que é explorado para obter aumento no rendimento de grãos de uma maneira ecológica e economicamente sustentável (VESSEY, 2003). No entanto, devido ao fato desta cultura ter baixa especificidade em relação ao microssimbionte, há uma limitação na exploração da FBN, uma vez que as bactérias nativas do solo se encontram em número elevado e apresentam eficiência variável (HARA; OLIVEIRA, 2004).

Como forma de elevar a produtividade desta cultura, baixar os custos de produção e elevar a renda do produtor rural vislumbra-se a possibilidade de exploração da FBN pela adoção da prática de inoculação das sementes com estirpes eficientes de bactéria do grupo rizóbio (ZILLI *et al.*, 2009). Porém, a introdução de inoculantes com rizóbios eficientes é dificultada, pois as estirpes nativas são em geral altamente competitivas mas pouco eficientes na fixação do N₂ (SILVA *et al.*, 2008). Dessa forma, há necessidade de uma seleção voltada tanto para a eficiência na fixação como na capacidade de competir com as estirpes nativas do solo.

Outra grande importância do feijão-caupi é que, por ser uma espécie altamente promíscua (capaz de nodular com diversas estirpes de rizóbios), tem sido muito empregada nos estudos de diversidade de rizóbios como planta isca no isolamento das estirpes e demais testes de eficiência (LAMMEL, 2007; MELLONI *et al.*, 2006; MARTINS *et al.*, 1997; NEVES; RUMJANEK, 1997). Além disso, já existem inoculantes com estirpes de *Bradyrhizobium*, reconhecidas e recomendadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e são elas: UFLA3-84 (SEMIA 6461), BR 3267 (SEMIA 6462), INPA3-11B (SEMIA 6463) e BR 3262 (SEMIA 6464) (ZILLI; XAVIER; RUMJANEK, 2008).

Os resultados obtidos por Zilli *et al.* (2009) com a estirpe BR 3262 demonstraram ganhos significativos em áreas do Cerrado na ordem de 2.300 kg ha⁻¹ em 2005, que resultou em ganhos absolutos de 34% em relação ao controle.

3.2 O nitrogênio na agricultura

Dentre os vários nutrientes necessários ao crescimento das plantas, o nitrogênio é considerado talvez o mais importante, por ser um dos componentes dos aminoácidos e proteínas, além de ter outras funções na planta. É um elemento essencial e está envolvido nas principais reações bioquímicas, por isso sua carência afeta a fotossíntese, o crescimento das raízes, principalmente, o crescimento foliar, o que gera por consequência, a redução do crescimento vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O nitrogênio é o elemento, quantitativamente, mais abundante no planeta. Na atmosfera é responsável por 78% de sua composição, porém há uma escassez desse nutriente em formas disponíveis para as plantas, o que pode ser explicado pela alta estabilidade do N₂

em condições naturais que o torna não disponível a utilização pelas plantas, necessitando haver a transformação para uma forma aproveitável pelos vegetais (FERNANDES, 2006).

Este elemento é o que mais sofre transformações bioquímicas no solo, por isso, sua disponibilidade para as plantas está na dependência da contínua decomposição da matéria orgânica (mineralização do N) e da adubação nitrogenada, sendo o processo de FBN regido por micro-organismos que ocorrem livremente no solo ou em associação com espécies vegetais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Suas formas orgânicas são abundantes no solo, porém poucas estão disponíveis para as plantas, já que as reservas deste nutriente são limitadas na superfície terrestre (NEWTON, 2000). Muitas vezes esse nutriente se encontra em uma forma não mineralizada ou não assimilável pela espécie vegetal, dependendo da ação de micro-organismos decompositores responsáveis pelos processos de transformação (FERNANDES, 2006).

Uma das formas de obtenção do nitrogênio é pelo método industrial, entretanto, mostra baixa eficiência e requer grandes quantidades de combustível fóssil para sua obtenção (PARELLI *et al.*, 2011). Este é conhecido como Processo de Haber-Bosch, implantado em 1913 por Fritz Haber e Carl Bosch, e necessita de grande energia de ativação, utilizando temperaturas em torno de 400 a 600° C com pressões de 100 a 200 atm, alcançando no final a amônia que será usada para obtenção de fertilizantes (NUNES *et al.*, 2003). Porém o custo de obtenção do nitrogênio por este meio é bastante oneroso, mostrando a vantagem da FBN que cujo custo é bem inferior.

Outro problema dos fertilizantes químicos é que eles podem causar contaminação das fontes hídricas subterrâneas por nitratos oriundos dos fertilizantes nitrogenados. O nitrato é o íon de maior ocorrência, na solução do solo, podendo ser facilmente lixiviado. Isso porque apresenta carga negativa e não é adsorvido pelos colóides do solo no qual predominam cargas negativas (PRIMAVESI *et al.*, 2006).

Os maiores problemas em potencial de lixiviação de nitrato estão em áreas de cultivo intensivo, áreas irrigadas e drenadas, além da utilização de várzeas. A exploração intensiva destas áreas com elevadas dosagens de fertilizantes apresenta grandes riscos de desequilíbrio ambiental com poluição por nitrato. Isso ocorre porque o excesso não absorvido pelas plantas é carreado até fontes hídricas subterrâneas (JADOSKI *et al.*, 2010).

Devido este e outros problemas, o uso da interação feijão-caupi e bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, é uma alternativa para substituição total ou parcial do uso de fertilizantes químicos, podendo minimizar os efeitos nocivos causados pelo seu excesso,

além de reduzir os custos de produção e economizar os combustíveis fósseis utilizados na fabricação dos adubos nitrogenados (SOARES *et al.*, 2006).

3.3 Processo de FBN

Os rizóbios são capazes de formar uma associação mutualística com as leguminosas conhecida como FBN, neste processo as bactérias fornecem nitrogênio proveniente da atmosfera para as plantas em uma forma assimilável pelo vegetal em contrapartida a bactéria recebe fotoassimilados importantes a sua sobrevivência. As bactérias formam uma estrutura especializada na raiz da leguminosa conhecida como nódulo, onde captam o N₂ presente no ar e o transmite para a planta em uma forma assimilável. A fixação ocorre porque o complexo enzimático nitrogenase converte o N₂ em amônia (NH₄) e assim disponibiliza nitrogênio para as plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN é estimulada pela ausência ou escassez do nitrogênio no solo, disponível nas espécies fixadoras, e quando há presença de amônia a enzima nitrogenase é inativada (RUDNIK *et al.*, 1997). Em situações onde o ambiente não é perturbado, o processo tem pouco estímulo, pois a ciclagem dos nutrientes garante o suprimento adequado às plantas. Porém em áreas degradadas, com solos pobres e de baixa disponibilidade de nutrientes, a FBN é favorecida (MOREIRA *et al.*, 2010).

A FBN tem obtido maior sucesso com a soja, por causa de sua alta especificidade em relação ao rizóbio, que substitui totalmente a adubação nitrogenada. Isso tem causado uma redução de custo que representou, em 2006, uma economia de cerca U\$ 3,3 bilhões anuais em uma área de 21 milhões de hectares com produção de 57 milhões de toneladas de grãos (MOREIRA, HUISING, BIGNELL, 2010).

Com a adoção da FBN os custos são bem reduzidos em relação ao modelo tradicional de produção. Considerando-se os custos para o produtor, uma dose do inoculante necessária para 50 kg de sementes de feijão-caupi usadas para o plantio de 1 hectare, é gasto em média R\$ 15,00. Isso porque são necessárias três aplicações, cada uma custando R\$ 5,00. Todavia, com a ureia o agricultor gasta em torno de R\$ 155,00 por hectare (JARAMILLO, 2010).

A FBN é reconhecidamente eficiente em feijão-caupi que, quando bem nodulado, pode dispensar outras fontes de N e atingir altos níveis de produtividade, porém para atingir tais metas é preciso selecionar estirpes mais eficientes e adaptadas à região (RUMJANEK *et al.*, 2005; XAVIER *et al.*, 2007). Na seleção de estirpes eficientes são realizadas várias

etapas, como a coleta de nódulos, o cultivo de plantas isca, o isolamento e purificação das culturas bacterianas e a avaliação da eficiência dos isolados (FARIA; FRANCO, 2002). Essa seleção é feita com o objetivo de obter um inoculante que seja competitivo, com capacidade de se estabelecer com rapidez no solo e ter a capacidade de tolerar estresses ambientais como temperatura, salinidade e acidez (SILVA *et al.*, 2002).

Além da seleção das estirpes de rizóbios é importante realizar o mesmo processo em torno das variedades de feijão, isto porque a seleção das melhores combinações de variedades e estirpes pode vir a aumentar a produtividade da cultura nas condições do semiárido nordestino que em geral, tem baixa disponibilidade de N em condições naturais e não costuma receber adubação nitrogenada, dependendo em grande parte do N provido pela FBN das estirpes nativas presentes no solo (VIEIRA *et al.*, 2010). A seleção tanto do macrossimbionte como do microssimbionte para regiões específicas é justificável pela variação de respostas expressas por ambos, isso pode ser reforçado por Marinho *et al.* (2014) que testou diversas estirpes de rizóbios já oficialmente recomendadas para o feijão-caupi em regiões distintas do semiárido e observou diferença de respostas quando o ambiente é mudado. Em um teste feito em Juazeiro, estado da Bahia, os mesmos autores não tiveram diferenças entre as estirpes quanto a MSPA quando testadas em quatro cultivares, porém quando repetido em Petrolina estado de Pernambuco houve variação entre as estirpes.

3.4 Melhoramento genético do feijão-caupi

O melhoramento genético do feijão-caupi no Brasil iniciou na segunda metade do século XVI quando houve a introdução das primeiras cultivares e os agricultores começaram a escolher as cultivares que mais os agradavam para o plantio e consumo (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

Atualmente, as pesquisas com feijão-caupi tem sido voltadas para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas, precoces e adaptadas a condições de estresse abiótico para obtenção de materiais que porporcionem maior produção para o pequeno agricultor, mas também que possa ser cultivado por médios e grandes produtores através do cultivo mecanizado. O feijão-caupi por ter uma grande variabilidade genética apresenta grande potencial de sucesso em um programa de melhoramento (ALCÂNTARA *et al.*, 2014).

Em geral, o melhoramento de espécies como o feijão-caupi se dá principalmente pela seleção de parentais, seguido de hibridação para formação de população base e avanço de

geração em que é feita a seleção de múltiplos caracteres como: rendimento, porte, resistência a pragas e doenças e qualidade de grãos (BERTINI *et al.*, 2010).

Um ponto importante para o sucesso de um programa de melhoramento é ter o acesso, conhecimento, e condições para uso da diversidade disponível em germoplasma local, ferramentas essenciais para ampliação da base genética dos programas de melhoramento. A avaliação do germoplasma também pode resultar em melhor eficiência na identificação de combinações parentais que resultem em populações segregantes com máxima variabilidade para a seleção (SINGH, 2001; FRANCO *et al.*, 2001).

Ao se iniciar um programa de melhoramento é importante considerar a variedade a ser produzida como substituta de alguma variedade que já vem sendo cultivada (ALLARD, 1999), assim se mantém a cultura em constante evolução, permitindo adaptação as novas tecnologias que surjam ao longo do tempo. Outro aspecto importante são os caracteres que formam a arquitetura da planta tais como: hábito de crescimento e comprimento de hipocótilo, dos entrenós, dos ramos principais e secundários e do pedúnculo, que podem resultar em maior ou menor acamamento das plantas, além de permitir a colheita mecanizada ou facilitar a colheita manual (ROCHA *et al.*, 2009).

Além das características ligadas as estirpes, outras ligadas aos genótipos podem resultar em maiores ganhos do sistema. Pesquisas relatam que alguns genótipos de feijão-caupi podem apresentar maior capacidade de nodulação e eficiência na FBN, caso haja o uso de cultivares eficientes ou mesmo a implantação de programas de melhoramento vegetal visando a FBN (XAVIER *et al.*, 2006). Nesse sentido a adequada interação entre os organismos simbiontes é essencial para a eficiência da FBN e por essa razão deveria ser o principal foco nos programas de melhoramento para a espécie (MARINHO *et al.*, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Escolha das Estirpes

Utilizou-se quatro estirpes nativas de rizóbios oriundas do semiárido nordestino, LAMAB-8, LAMAB-40, LAMAB-48 e LAMAB-65. A escolha foi baseada nos resultados obtidos por Pinheiro *et al.* (2014) e, em outros trabalhos ainda não publicados, na qual as estirpes supracitadas apresentaram o melhor desempenho frente a diversos estresses abióticos testados. Além disso, adotaram-se as estirpes BR 3267 (RUMJANEK *et al.*, 2006) obtida do semiárido nordestino e BR 3262 obtida do Sistema Integrado de Produção Agroecológico (SIPA) da Embrapa Agrobiologia/UFRRJ/Pesagro-Rio (ZILLI *et al.*, 2008) como padrões de inoculantes para a comparação dos resultados.

4.2 Genótipos de feijão-caupi

Os genótipos de feijão-caupi foram obtidos do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-caupi (BAGCaupi) da Universidade Federal do Ceará (UFC) (Tabela 1). A escolha destes genótipos baseou-se nos seguintes critérios: porte, priorizaram-se os que apresentassem porte ereto, semi-ereto e semi-enramador; período de floração, super-precoce, precoce e médio, e os maiores valores de massa de 100 sementes e produção de grãos por planta.

Tabela - 1 Características agronômicas dos genótipos utilizados no estudo.

Identificação	Nome do Acesso		Massa (g) (100 sem.)	Rendimento g planta ⁻¹	Ciclo (Dias)	Porte
CE-60	Sel. de CE-126	Linhagem	23,81	46,67	77	Sen
CE-079	S-35	Linhagem	26,24	9,00	78	E
CE-83	Azulão-2	Variedade	24,17	95,63	71	Sen
CE-118	Precoce	Variedade	20,10	54,5	71	Sen
CE-139	TVu 1233	Linhagem	22,44	83,96	69	Sen
CE-143	Sel. de CE-48	Linhagem	21,71	52,00	73	Sen
CE-156	1593	Linhagem	25,01	71,00	80	Sen
CE-186	CE-186	Linhagem	25,42	41,66	75	Sen
CE-517	Tvu 6207	Linhagem	20,00	7,00	54	E
CE-545	Sel. de 107	Linhagem	21,20	41,00	58	Sen
CE-596	Setentão	Variedade	16,90	22,00	71	En
CE-612	Canapun	Variedade	25,98	46,00	68	Sen
CE-627	CNCx 163-18E	Linhagem	22,12	62,00	61	Sen
CE-646	Tracateua	Variedade	52,86	52,86	80	Sen

CE-679	CNCx 284-8E	Linhagem	22,59	60,00	70	Sen
CE-730	CNCx658-35E	Linhagem	20,4	29,52	62	Ser
CE-930	Pingo de Ouro	Variedade	19,75	67,50	88	En
CE-933	BRS Marataoã	Variedade	15,5	12,05	73	Sp
CE-967	TVu 382	Linhagem	8,65	78,33	89	Sen
CE-975	BRS Potengi	Variedade	20,85	55,71	88	Se
CE-976	BRS Xiquexique	Variedade	16,54	49,44	88	En

Legenda: E - Eretto; En - Enramador; Sp - Semi-prostrado; Sen - Semi-enramador.

4.3 Condução dos ensaios

Foram realizados quatro ensaios no período de abril de 2013 à março de 2014 em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFC.

Vinte e um genótipos foram avaliados no decorrer de todos os quatro ensaios mais uma testemunha (CE-930). Em cada ensaio foram avaliadas seis genótipos de feijão-caupi. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 3 repetições em um arranjo fatorial de 6 x 8, correspondendo, respectivamente, aos seis genótipos testados em cada vez e as fontes de nitrogênio, compostas por quatro estirpes selecionadas mais duas estirpes padrões, o tratamento adubado e a testemunha absoluta, livre de nitrogênio e estirpes de rizóbios.

Os tratamentos corresponderam aos genótipos de feijão-caupi que atenderam aos critérios pré-estabelecidos e as estirpes de rizóbios pré-selecionadas de acordo com a caracterização cultural realizada em experimentos anteriores, um tratamento controle isento de inoculante e nitrogênio, e uma testemunha nitrogenada (250 mg de N vaso⁻¹.semana⁻¹, na forma de ureia) isenta de inoculante.

O cultivo foi realizado em vasos de *Leonard* (VINCENT, 1970) adaptados, feitos com o polímero sintético poli (tereftalato de etileno-PET) (Figura 1). Para desinfecção os vasos ficaram imersos em hipoclorito de sódio por 24 horas, posteriormente, foram enxaguados com água para remover o excesso do hipoclorito. Utilizou-se como substrato areia e vermiculita na proporção 2:1 (areia: vermiculita). Ambos foram esterilizados separadamente e, para isso, foram colocados em sacos de pano de dez quilos e autoclavados por uma hora a 121° C. Após serem retirados do autoclave os sacos foram levados para casa de vegetação e permaneceram em repouso e, por fim, foram misturados de acordo com as proporções supracitadas. Os vasos foram preenchidos e semanalmente aplicada a solução nutritiva de *Norris* (VINCENT, 1970). As sementes de feijão-caupi foram lavadas com etanol

à 100% por 30 segundos, desinfestadas com hipoclorito de sódio à 5% por 3 minutos e lavadas com água esterilizada por 10 vezes. A semeadura foi realizada diretamente nos vasos e para isso usou-se três sementes por vaso, sendo que após oito dias deixou-se apenas uma planta por vaso.

Figura 1 - Garrafas PET adaptadas em vasos de Leonard para semeadura de genótipos de feijão-caupi.



Fonte: Marcelo Pinheiro (2014)

4.4 Inoculante

Transferiu-se uma colônia da cultura para caldo extrato de levedura-manitol (YM) e logo em seguida a mesma foi submetida a agitação orbital a 150 RPM, permanecendo até o turvamento do caldo. O procedimento foi repetido para todas as estirpes. A curva de crescimento previamente feita, indicou que após 96 horas de agitação haveria uma concentração mínima na ordem de 10^7 UFC mL⁻¹ no caldo contendo as estirpes. Aplicou-se 3 mL de inóculo em cada vaso oito dias após a semeadura, com exceção das parcelas que não receberam nenhum tipo de inoculante.

4.5 Variáveis analisadas

As variáveis analisadas foram comprimento da parte aérea (CPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de

nódulos (MSN) e nitrogênio total da parte aérea (NT). Os dados foram submetidos a análise de variância, e para isso usou-se o software estatístico Assistat 7.7 versão *beta*, no qual foram realizados os testes de comparação de média pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

4.6 Coleta de dados

O comprimento da parte aérea foi medido a partir da região do colo das plantas até o ponto de inserção da maior folha utilizando-se uma régua de 30cm (Figura 2); a massa seca da parte aérea, raízes, e nódulos foram feitos por secagem em estufa a 80° C por 24h e em seguida, feita a pesagem em balança analítica. Quanto ao nitrogênio, este foi determinado pelo método de Kjeldahl seguindo o protocolo da Embrapa (SILVA, 2009). As amostras foram trituradas e depois pesou-se a quantidade necessária para a análise. Este método baseia-se na decomposição da matéria orgânica através da digestão da amostra a 400° C com ácido sulfúrico concentrado em presença de um catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica. O nitrogênio presente na solução ácida é determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido diluído (NOGUEIRA; SOUZA, 2005).

Figura 2 - Medição do comprimento da planta com régua graduada.



Fonte: Marcelo Pinheiro (2014)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre os genótipos e os inoculantes nos ensaios (Apêndice A), ou seja, a presença de um genótipo ou outro não interferiu na resposta de um mesmo inoculante. Essa resposta está associada ao fato do feijão-caupi ser uma planta promíscua, capaz de se associar a diversas estirpes de rizóbios (GUIMARÃES *et al.*, 2012), entretanto isso tem um efeito negativo quando levado a campo, pois pode haver competição entre estirpes nativas do solo e aquelas inoculadas, impossibilitando que essas últimas se estabeleçam na raiz da planta. Isso ocorre porque, em geral, as estirpes nativas são muito competitivas, mas de baixa eficiência na fixação do nitrogênio.

No primeiro ensaio, o genótipo CE-156 teve o maior CPA, embora isso não resulte em maior acúmulo de MSPA, ainda assim teve o maior NN. Essa relação entre o maior CPA e maior NN se repetiu no segundo e quarto ensaio com os genótipos CE-139 e CE-975. Porém a testemunha, CE-930 teve apenas o quarto maior CPA.

Observou-se diferenças significativas entre os genótipos (Tabela 2) para o fator MSPA. O CE-079 teve a maior média de MSPA com $1,108 \text{ g planta}^{-1}$, porém foi estatisticamente igual a CE-118, 156 e 933, enquanto que a testemunha CE-930, foi apenas o quinto maior com $0,881 \text{ g planta}^{-1}$. Isso representa um incremento de 25,7% sobre a testemunha. Entre todas as variedades testadas o CE-517 avaliado no terceiro ensaio, teve o maior incremento relativo atingindo 36% de aumento da MSPA sobre a testemunha CE-930. Isso provavelmente é consequência de suas características agronômicas, pois a mesma tem porte ereto e ciclo precoce (Tabela 1), o que resulta em rápido crescimento inicial. Porém, tem baixa produtividade. Com valor aproximado de 9 g planta^{-1} , o que é uma característica de plantas de porte ereto. Entretanto, mesmo com baixas produtividades, geralmente genótipos de porte ereto tem essa perda compensada pelo maior adensamento das plantas, o que ocasiona maior densidade populacional. Além do adensamento gerar ganhos, a precocidade permite a realização de até três cultivos por ano, compreendendo os cultivos de sequeiro e irrigado, possibilitando ampliar a produção por longos períodos de seca (FREIRE FILHO *et al.*, 2014).

A variável MSR teve valores muito parecidos no primeiro ensaio onde apenas o CE-646 foi inferior aos demais. No segundo ensaio o genótipo CE-139 teve a maior MSR e também a maior MSPA ao contrário do CE-967 que teve a menor MSR também coincidindo com a menor MSPA. No terceiro ensaio, os genótipos CE-679, CE-60 e CE-627 tiveram as maiores MSR, já no quarto ensaio, o CE-545 foi superior a todos os demais. Isso revela

correlação entre os dois genótipos, e quanto maior a raiz maior será a área explorada e por consequência maior captação de nutrientes.

Não houve diferenças significativas para MSN no primeiro ensaio assim como para o número de nódulos. No segundo ensaio o genótipo CE-139 teve a maior MSN assim como o NN. No terceiro ensaio não houve diferenças entre os genótipos, enquanto que no quarto, o genótipo CE-545 foi o maior, apesar de não ter produzido o maior NN. Isso pode revelar a produção de nódulos maiores que outros genótipos de feijão.

Quanto ao número de nódulos no primeiro ensaio, o genótipo testemunha (CE-930) apresentou o terceiro maior valor com 43,5 nódulos planta⁻¹, no entanto, não se observou diferenças estatísticas entre os tratamentos. Comparando todos os genótipos, o CE-139 avaliado no segundo ensaio, teve o maior incremento sobre a testemunha, produzindo 44,8 nódulos planta⁻¹. Isso equivale a um aumento de 41,3% em relação ao CE-930 que produziu 31,7 nódulos planta⁻¹, porém, do ponto de vista estatístico, eles foram iguais ($0,01 \leq P < 0,05$).

Maiores quantidades de nódulos estão associadas a uma maior densidade bacteriana, podendo servir como indicativo da proporção do número de células presentes e, por conseguinte, da presença de plantas mais competitivas na etapa de estabelecimento nas raízes das hospedeiras (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Em relação ao NT (Tabela 2), o CE-930, avaliado no primeiro ensaio teve a maior média com 37,746 g kg⁻¹ MS (massa seca), porém não diferiu estatisticamente dos demais, diferenças estatísticas só foram observadas no último ensaio onde os genótipos CE-545 e CE-730 foram inferiores aos demais.

No segundo e terceiro ensaio verificou-se que os genótipos que tiveram maior acúmulo de MSPA também foram os que produziram a maior quantidade de nódulos. Isso mostra que a observação do número de nódulos pode ajudar na seleção de genótipos superiores. Porém essa informação por si só não é conclusiva, visto que o nódulo mesmo estando presente na planta pode não estar ativo. Isso pode ser reforçado pelos resultados obtidos por Vieira *et al.* (2010) que testaram seis genótipos de feijão-caupi e observaram que as variedades Sedinha e Azul, apresentaram os maiores valores de MSPA, sendo estatisticamente iguais (1,32 e 1,37 g vaso⁻¹, respectivamente). Estas mesmas variedades tiveram o número de nódulos bem discrepantes, 112 e 68 nódulos vasos⁻¹.

O genótipo CE-139 avaliado no segundo ensaio, mostrou vantagem sobre as demais, pelo fato de ter apresentado as maiores médias para quase todas as variáveis, com exceção do NT. Embora isso seja irrelevante pelo fato de todos os genótipos testados terem

sido similares quanto ao NT. Vale ressaltar que a mesma tem o segundo maior rendimento de produção dentre todas as 21 variedades e produz 83,96 g planta⁻¹. Outro genótipo que merece atenção é o CE-545, testado no quarto ensaio, pois exibiu maior média para MSPA, MSR e MSN, além de que suas médias para os demais caracteres mesmo não sendo os maiores valores ficaram bem próximos aos apresentados pelos demais genótipos.

Nos demais ensaios nenhuma variedade mostrou superioridade a mais que duas variáveis.

Tabela 2 – Valores médios das variáveis quantos aos genótipos de feijão-caupi. Fortaleza-CE, 2014.

1-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
CE-930	16,14 c	0,881 b	0,503 a	0,047 a	43,500 a	37,746 a
CE-933	17,12 b	1,028 a	0,449 a	0,047 a	44,333 a	35,569 a
CE-646	14,83 c	0,846 b	0,339 b	0,029 a	40,333 a	32,955 a
CE-156	19,85 a	1,017 a	0,526 a	0,041 a	47,667 a	30,312 a
CE-118	15,64 c	1,027 a	0,373 b	0,044 a	36,042 a	32,222 a
CE-079	17,50 b	1,108 a	0,556 a	0,042 a	34,375 a	36,247 a
2-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
CE-930	13,72 c	0,790 b	0,303 b	0,026 b	31,708 b	30,300 a
CE-83	13,45 c	0,762 b	0,307 b	0,026 b	34,250 a	31,526 a
CE-143	15,83 b	0,677 c	0,295 b	0,021 b	26,167 b	29,108 a
CE-139	18,02 a	0,978 a	0,354 a	0,034 a	44,833 a	29,680 a
CE-967	14,29 c	0,479 d	0,172 c	0,019 b	23,250 b	31,878 a
CE-596	15,63 b	0,936 a	0,267 b	0,027 b	38,750 a	26,813 a
3-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
CE-930	14,73 c	1,014 b	0,407 b	0,050 a	76,208 a	27,826 a
CE-679	21,29 a	1,272 a	0,458 a	0,048 a	67,458 a	25,889 a
CE-60	17,96 b	1,236 a	0,486 a	0,048 a	74,583 a	23,186 a
CE-517	11,54 d	1,379 a	0,406 b	0,039 a	80,833 a	23,882 a
CE-186	16,40 bc	1,053 b	0,368 b	0,044 a	68,750 a	26,637 a
CE-627	20,26 a	1,292 a	0,443 a	0,063 a	78,167 a	26,073 a
4-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
CE-930	19,44 b	0,904 b	0,394 b	0,041 b	81,625 b	29,459 a
CE-545	22,15 a	1,215 a	0,452 a	0,066 a	97,083 b	26,678 b
CE-976	20,34 b	0,967 b	0,412 b	0,052 b	93,750 b	30,867 a
CE-975	23,82 a	1,119 a	0,362 b	0,054 b	118,500 a	30,654 a
CE-612	23,64 a	1,031 b	0,385 b	0,049 b	68,125 b	32,154 a
CE-730	22,91 a	1,185 a	0,388 b	0,049 b	87,583 b	26,092 b

Legenda: CPA - Comprimento da parte aérea; MSN - Massa seca de nódulos; MSPA - Massa seca da parte aérea; MSR - Massa seca de raiz; e NN - Número de nódulos e nitrogênio total - NT. Médias comparadas pelo teste de Kcott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Nos quatro ensaios, todos as estirpes, com exceção do LAMAB-8 tiveram maiores valores quanto os caracteres analisados, quase sempre em mesmo nível que à testemunha nitrogenada mostrando capacidade de fixar nitrogênio de forma satisfatória (Tabela 3).

Verificou-se que a estirpe BR 3267 produziu as maiores médias quanto o NN nos quatro ensaios realizados, sendo também semelhantes a quase todos as estirpes testadas, com exceção da LAMAB-8 que ficou abaixo das demais. Possivelmente, esta tem baixa capacidade de nodulação e por consequência baixa eficiência simbiótica, como pode-se ver pela sua resposta inferior aos demais inoculantes quanto a outros caracteres. Por outro lado, em outros trabalhos verificou-se grande capacidade de produção de nódulos por parte dessa estirpe (VIEIRA *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2013).

Para o caráter CPA, as diferenças foram mais pronunciadas apenas entre o tratamento nitrogenado e o controle absoluto. Ademais, as estirpes foram semelhantes em todos os ensaios.

Em todos os ensaios as estirpes LAMAB-48, 65, 40 e BR-3267 foram semelhantes entre si para MSPA. No primeiro e segundo ensaio, estas estirpes também foram semelhantes a BR-3262 e ao tratamento nitrogenado. Já no terceiro ensaio a BR-3262 foi inferior, e no quarto, o tratamento nitrogenado foi superior a todos os demais. Zilli *et al.* (2011) realizaram experimentos em feijão-caupi (*cv. BRS Guariba*) com quatro estirpes de rizóbio isoladas de soja e mais os inoculantes BR-3267 e BR-3262. Estes autores verificaram respostas similares, com padrão semelhante ao tratamento nitrogenado, enquanto que duas estirpes de soja tiveram respostas inferiores. Isso mostra a desvantagem em usar estirpes não recomendadas para cultura. Mesmo para o feijão-caupi que é uma espécie de baixa seletividade, ainda pode haver algum nível de especificidade com a bactéria fixadora.

Para o caráter MSR, não houve diferenças estatísticas no primeiro e segundo ensaios, porém no terceiro as estirpes LAMAB-48, 65, 40 e BR-3267 foram semelhantes sendo que no último ensaio o tratamento nitrogenado foi superior a todos os demais tratamentos.

Com relação a MSN a estirpe LAMAB-40 apresentou em todos os ensaios os maiores valores, acompanhado de uma elevada produção de nódulos, já as estirpes LAMAB-48 e LAMAB-65 sempre tiveram valores similares em todos os ensaios.

Quanto ao NT observou-se que as estirpes LAMAB-40, 48 e 65 mais o padrão BR-3267 se mostraram iguais entre si e ao padrão BR-3267, similar ao observado para a MSPA. Entretanto, a testemunha nitrogenada foi superior, e somente no último ensaio foi estatisticamente igual. Isso indica algum potencial e que pode ser testado em condições de campo futuramente para comprovar a real qualidade destes inoculantes.

Considerando todos os caracteres analisados, as estirpes LAMAB-40, LAMAB-48 e LAMAB-65 são semelhantes entre si e entre as estirpes padrões recomendadas como inoculantes para feijão-caupi. Dessa forma, as mesmas apresentam potencial para serem futuramente indicadas como inoculantes do feijão-caupi. Entretanto, é necessário que se realize experimentos de campo a fim de confirmar a real capacidade destas estirpes, visto que no ambiente natural é onde se encontra os fatores adversos que podem impedir o sucesso de um inoculante.

Tabela 3 - Valores médios das variáveis quanto as fontes de nitrogênio. Fortaleza-CE, 2014.

	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
1-ENSAIO						
T-0	15,13 a	0,594 b	0,413 a	0,039 b	13,833 d	20,377 d
T-N	18,48 a	1,002 a	0,507 a	0,003 c	3,556 d	55,297 a
BR-3262	16,50 a	1,021 a	0,432 a	0,039 b	47,056 c	31,994 c
BR-3267	17,50 a	1,145 a	0,538 a	0,063 a	81,833 a	29,429 c
LAMAB-08	16,59 a	0,752 b	0,413 a	0,037 b	9,111 d	28,175 c
LAMAB-40	16,95 a	1,110 a	0,437 a	0,063 a	65,500 b	31,304 c
LAMAB-65	16,82 a	1,057 a	0,436 a	0,044 b	48,056 c	37,321 b
LAMAB-48	16,79 a	1,195 a	0,487 a	0,047 b	59,389 c	39,504 b
2-ENSAIO						
T-0	13,53 b	0,571b	0,273 a	0,0150 c	8,889 d	17,163 c
T-N	16,53 a	0,711 b	0,243 a	0,0001 d	0,056 d	63,864 a
BR-3262	15,69 a	0,860 a	0,296 a	0,0426 a	63,833 a	30,554 b
BR-3267	15,43 a	0,871 a	0,311 a	0,0387 a	74,389 a	24,669 c
LAMAB-08	14,02 b	0,593 b	0,265 a	0,0164 c	7,778 d	21,652 c
LAMAB-40	15,43 a	0,864 a	0,295 a	0,0357 a	48,278 b	23,145 c
LAMAB-65	15,36 a	0,866 a	0,305 a	0,0286 b	23,611 c	25,838 c
LAMAB-48	15,26 a	0,828 a	0,277 a	0,0271 b	38,444 b	32,189 b

Continua...

Tabela 3 - Valores médios das variáveis quantos as fontes de nitrogênio. Fortaleza-CE, 2014.

3-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
T-0	16,16 b	0,964 b	0,403 b	0,044 b	10,167 c	19,538 c
T-N	18,35 a	1,276 a	0,355 b	0,000 c	0,000 c	53,723 a
BR-3262	14,70 b	0,647 c	0,315 b	0,047 b	105,833 b	14,208 d
BR-3267	18,16 a	1,479 a	0,546 a	0,074 a	130,667 a	21,817 b
LAMAB-08	15,40 b	0,881 b	0,392 b	0,038 b	12,667 c	19,300 c
LAMAB-40	18,04 a	1,507 a	0,466 a	0,073 a	112,556 b	23,518 b
LAMAB-65	17,83 a	1,537 a	0,502 a	0,058 b	125,389 a	26,729 b
LAMAB-48	17,63 a	1,374 a	0,446 a	0,055 b	97,389 b	25,824 b

4-ENSAIO						
	CPA (cm pl ⁻¹)	MSPA (g pl ⁻¹)	MSR (g pl ⁻¹)	MSN (g pl ⁻¹)	NN (unid pl ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹ MS)
T-0	15,63 b	0,431 d	0,255 c	0,0014 c	0,333 c	14,136 c
T-N	24,94 a	1,641 a	0,672 a	0,0001 c	0,056 c	38,939 a
BR-3262	24,45 a	1,326 b	0,443 b	0,0889 a	155,333 a	33,465 b
BR-3267	23,58 a	1,150 c	0,386 b	0,0819 b	162,500 a	29,520 b
LAMAB-08	14,92 b	0,379 d	0,250 c	0,0002 c	0,222 c	14,698 c
LAMAB-40	24,17 a	1,249 b	0,416 b	0,0918 a	151,944 a	32,967 b
LAMAB-65	24,30 a	1,244 b	0,391 b	0,0737 b	134,222 b	35,559 a
LAMAB-48	24,40 a	1,141 c	0,380 b	0,0771 b	124,278 b	35,257 a

Legenda: CPA - Comprimento da parte aérea; MSN - Massa seca de nódulos; MSPA - Massa seca da parte aérea; MSR - Massa seca de raiz; e NN - Número de nódulos e nitrogênio total - NT. Médias comparadas pelo teste de Kcott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

6 CONCLUSÕES

Os diferentes genótipos de feijão-caupi não tiveram sua resposta influenciada pelas estirpes testadas.

Os genótipos CE-139 e CE-545 tiveram resposta mais uniforme com médias maiores para quase todo os caracteres avaliados.

As estirpes LAMAB-40, LAMAB-48 e LAMAB-65 tiveram respostas similares aos padrões e ao tratamento nitrogenado, portanto são potenciais candidatas a futuramente serem estirpes recomendadas para o estado do Ceará.

É necessário a realização de experimentos de campo para confirmar a capacidade dos mesmos em fixar nitrogênio de forma satisfatória.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. L. G. *et al.* Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 364-369, julho-setembro, 2010.
- ALCANTARA, R. M. *et al.* Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 1-9, jan-mar, 2014.
- ALLARD, Robert Wayne. **Principles of plant breeding**. John Wiley & Sons, 1999.
- ALMEIDA, A. L. G. **Diagnóstico da fertilidade dos solos cultivados com feijão-caupi e eficiência agronômica de estirpes de rizóbio para o estado do Piauí**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.
- BERTINI, C. H. C. M. Análise multivariada e índice de seleção na identificação de genótipos superiores de feijão-caupi. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2010.
- BEZERRA, A. A. C. **Variabilidade e diversidade genética em caupi (*Vigna unguiculata*, L. Walp.) precoce, de crescimento determinado e porte ereto e semi-ereto**. 1997. 105 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1997.
- CAMPOS, J. H. B. C.; SILVA, M. T. SILVA, V. P. R. Impacto do aquecimento global no cultivo do feijão-caupi, no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 14, n. 4, p. 396-404, 2010.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento, agosto 2013**. Brasília, 2013.
- FAOSTAT. Production. Crops. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E> . Acesso em: 26 jun 2014.
- FARIA, S. M.; FRANCO, A. A. Identificação de bactérias eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies leguminosas arbóreas. Seropédica, **Embrapa Agrobiologia**, 2002. 16 p. (Documentos, 158).
- FRANCO, M. C. *et al.* Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.2, p.381-385, 2001.
- FERNANDES, M. S. (Editor). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. 432 p.
- FERREIRA, L. V. M. *et al.* Biological Nitrogen Fixation in Production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Family Farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**; v. 5, n. 4; 2013.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). O caupi no Brasil. Brasília, DF: IITA: EMBRAPA, 1988. p. 26-46.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519 p.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* Panorama da cultura do feijão-caupi no Brasil. In: WORKSHOP SOBRE A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI EM RORAIMA, 2007. **Anais...** Boa Vista: Embrapa Roraima, 2007. p. 11-14 (Documentos, 4).

FREIRE FILHO F. R. *et al.* Produção, melhoramento genético e potencialidades do feijão-caupi no Brasil. In: REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO, 4., Teresina. 2011. **Palestras...** Teresina. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/897440/1/Producaomelhoramento.pdf>>. 2011. Acesso em: 25 jun 2014.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* Feijão-caupi no Brasil. produção , melhoramento genético e perspectivas. In: VIDAL NETO, F. das C.; CAVALCANTI, J. J. V. (Ed.). Melhoramento genético de plantas no Nordeste. Brasília, DF: **Embrapa**, 2013. p. 85-149, Cap 4.

FREIRE FILHO, F. R. *et al.* **Melhoramento genético de caupi [Vigna unguiculata (L.) Walp.] na região do Nordeste**. p. 1- 34. Disponível em: < <HTTP://www.cpatsa.embrapa.br>>. Acesso em: 02 jun 2014.

FILGUEIRAS, G. C. *et al.* Aspectos socioeconômicos. In: ZILLI, J. E.; VILARINHO, A. A.; ALVES, J. M. A. (Eds.). **A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira**. Boa Vista, RR: Embrapa Roraima, 2009. p.23-58.

FROTA, K. M. G. *et al.* Composição química do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), cultivar BRS Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 407-476, 2008.

GUIMARÃES, A. A. *et al.* Genetic and Symbiotic Diversity of Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Agricultural Soils in the Western Amazon by Using Cowpea as the Trap Plant. **Applied and Environmental Microbiology** v. 78, n. 18, p. 6726–6733 Sep. 2012.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, S. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 2, p. 343-357, 2004.

HERRIDGE, D. F.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2/3, p. 229-248, 2000.

HUNGRIA, M. *et al.* The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment**. Dordrecht: Amsterdam: Springer, 2005. p. 25-42.

JADOSKI, S. O. *et al.* Características da lixiviação de nitrato em áreas de agricultura intensiva. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v.3, n.1, Jan.- Abr. 2010.

JARAMILLO, P. M. D. **Diversidade genética e simbiótica de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de solos sob agrofloresta na Amazônia Ocidental usando o caupi como planta isca.** 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

LAMMEL, R. L. **Diversidade de rizóbios em florestas de Araucária no estado de São Paulo.** 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

MATOS FILHO, C. H. A. *et al.* Potencial produtivo de progêneres de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 348-354, mar-abr, 2009.

MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 1005- 1010, 1997.

MARINHO, R. C. N. *et al.* Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 5, p. 395-402, maio 2014.

MEDEIROS, E. V.; SILVA, K. J. P.; MARTINS, C. M.; BORGES, W. L. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, n. 2, p. 160-168, 2007.

MELLONI, R. *et al.* Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 235-246, 2006.

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

MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. **Manual de Biologia dos Solos Tropicais**. Lavras: UFLA, 2010. 368 p.

MOREIRA, F. M. S. *et al.* Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

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

NEWTON, W. E. Nitrogen fixation in perspective. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G.; NEWTON, W. E. (Eds.). Nitrogen fixation: From molecules to crop productivity. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht. 2000.

NOGUEIRA, Ana Rita de Araújo; SOUZA, Gilberto Batista. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313p.

NUNES, F. S.; RAIMONDI, A. C.; NIEDWIESKI, A. C. Fixação de Nitrogênio: Estrutura, Função e Modelagem Bioinorgânica das Nitrogenases. **Química Nova**, Curitiba, v. 26, n. 6, p. 872-879, 2003.

PARTELLI, F. L. *et al.* Biologic dinitrogen fixation and nutrient cycling in cover crops and their effect on organic Conilon coffee. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 995-1006, jul/set. 2011.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SINGH, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.). Advances in cowpea research. Ibadan: **International Institute of Tropical Agriculture**; Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1997. p. 1-12.

PRIMAVESI, O. *et al.* Lixiviação de nitrato em pastagem de *coastcross* adubada com nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 683-690, 2006.

PINHEIRO *et al.* Isolamento e seleção de estirpes de rizóbios nativas do semiárido tolerantes a estresses ambientais. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 2071-2082, 2014.

HERRIDGE, D. F.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2/3, p. 229-248, 2000.

ROCHA, M. M. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 3, p. 270-275, mar. 2009.

RUDNIK, P. *et al.* Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 831- 841, 1997.

RUMJANEK, N. G. *et al.* A. Fixação biológica de nitrogênio, In: Freire Filho, F. R.; Lima, J. A. A.; Ribeiro, V. Q. (Eds.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 280-335.

RUMJANEK, N. G. *et al.* Feijão-caupi tem nova estirpe de rizóbio, BR 3267, recomendada como inoculante. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. 16 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 15).

SMARTT, J. Grain legumes: evolution and genetic resources. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1990. 333 p

SINGH, S. P. Broadening the genetic base of common beans cultivars: A review. **Crop Science**, Madison, v.41, n.6, p.1659-1675, 2001.

SINGH, B. B. *et al.* Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. M.; TAMO, M. (Ed.). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, 2002. p. 22-40.

SILVA, A. F.; FREITAS, A. D. S; STAMFORD, N. P. Efeito da inoculação da soja (cv

. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1327-1333, 2002.

SILVA, R. P. *et al.* Efetividade de estirpes selecionadas para feijão caupi em solo da região semi-árida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 3, n. 2, p. 105-110, 2008.

SILVA, Fábio César da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SOARES, A. L. L. *et al.* Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG) I – caupi. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 30, p. 795-802, 2006.

SOARES, C. S. **Eficiência de estirpes de rizóbio no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.)** 2007. 92.f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2007.

TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R. *et al.*, 3. ed., Porto Alegre: Aramed, 2004. 719 p.

VINCENT, J. M. **Manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p.

VIEIRA, C. L. *et al.* Inoculação de variedades locais de feijão macassar com estirpes selecionadas de rizóbio. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 11, p. 1170–1175, 2010.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

VERDCOURT, B. Studies in the leguminosae: papilionoideae for the ‘Flora of tropical East Africa’. **Kew Bulletin**, London, v. 24, p. 507-569, 1970.

XAVIER, G. R. **Estudo da ocupação nodular de genótipos de caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) agrupados pela técnica de RAPD**. 2000. 123 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2000.

XAVIER, G.R. *et al.* Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Revista Caatinga**, v.19, n. 1, p.25-33, 2006.

XAVIER, G. R. *et al.* Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição *in vitro*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 4, p. 01-09, 2007.

ZILLI, J. E. *et al.* Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 811-818, maio 2006.

ZILLI, J. E.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. BR 3262: nova estirpe de *Bradyrhizobium* para inoculação de feijão-caupi em Roraima. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2008. 7 p. (Comunicado técnico, 10).

ZILLI, J. E. *et al.* Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 4 p. 749 - 758, 2009.

ZILLI, J. E. *et al.* Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciências Solo**, v. 35, p. 739-742, 2011.

APÊNDICE A – RESUMO DO QUADRO DE ANOVA PARA VARIÁVEIS ABORDADAS NOS ENSAIOS

1° ENSAIO							
QUADRADO MÉDIO							
	GL	CPA	MSPA	MSR	MSN	NN	NT
Blocos	2	42,90 **	0,39 **	0,29 **	0,0105 **	698,81 ns	444,44 *
Genótipos (G)	5	74,68 **	0,24 **	0,18 **	0,0010 ns	627,43 ns	188,24 ns
F. Nitrog. (FN)	7	16,02 *	0,77 **	0,04 ns	0,0064 **	15040,84 **	1919,18 **
Int. (G x FN)	35	3,61 ns	0,06 ns	0,02 ns	0,0007 ns	272,95 ns	68,00 ns
Resíduo	94	6,25	0,07	0,03	0,0010	383,08	101,09
CV (%)		14,84	27,30	35,10	77,2100	47,69	29,42
2° ENSAIO							
QUADRADO MÉDIO							
	GL	CPA	MSPA	MSR	MSN	NN	NT
Blocos	2	21,48 **	0,30 **	0,023 *	0,0014 **	542,84 ns	60,71 ns
Genótipos (G)	5	70,03 **	0,79 **	0,089 **	0,0006 *	1526,04 **	81,21 ns
F. Nitrog. (FN)	7	16,19 **	0,29 **	0,009 ns	0,0037 **	13673,77 **	3803,02 **
Int. (G x FN)	35	4,05 ns	0,04 ns	0,004 ns	0,0002 ns	280,38 ns	161,05 ns
Resíduo	94	3,23	0,05	0,005	0,0002	248,61	115,22
CV (%)		11,87	28,73	26,100	59,5200	47,55	35,92
3° ENSAIO							
QUADRADO MÉDIO							
	GL	CPA	MSPA	MSR	MSN	NN	NT
Blocos	2	24,41 *	0,07 ns	0,003 ns	0,003 *	7873,39 **	12,26 ns
Genótipos (G)	5	313,39 **	0,49 **	0,043 *	0,002 ns	667,02 ns	72,54 ns
F. Nitrog. (FN)	7	35,69 **	2,02 **	0,106 **	0,010 **	57112,57 **	2615,32 **
Int. (G x FN)	35	6,85 ns	0,10 ns	0,013 ns	0,001 ns	687,00 ns	76,80 ns
Resíduo	94	5,38	0,12	0,017	0,001	1066,86	61,05
CV (%)		13,61	28,97	30,18	58,460	43,94	30,54
4° ENSAIO							
QUADRADO MÉDIO							
	GL	CPA	MSPA	MSR	MSN	NN	NT
Blocos	2	29,05 *	0,41 **	0,04 **	0,0011 ns	5032,92 *	157,49 ns
Genótipos (G)	5	77,32 **	0,37 **	0,02 *	0,0016 **	6833,16 **	142,17 *
F. Nitrog. (FN)	7	317,82 **	3,47 **	0,31 **	0,0331 **	104586,85 **	1649 83 **
Int. (G x FN)	35	6,53 ns	0,04 ns	0,01 ns	0,0005 ns	1754,18 ns	66,43 ns
Resíduo	94	8,46	0,04	0,01	0,0004	1288,09	57,54
CV (%)		13,19	18,67	22,94	37,7400	39,39	25,87

ANEXO A - SOLUÇÃO NUTRITIVA DE NORRIS (VINCENT, 1970).

Reagentes: quantidade p/ 1 litro

KCl.....	0,149g
K ₂ HPO ₄	0,1g
KH ₂ PO ₄	0,25g
CaSO ₄ .2H ₂ O.....	0,688g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,493g

Obs: Adicionar na hora de usar a solução:

0,5mL da solução (solução de micronutrientes)

1,0mL da solução (solução de Ferro ferroso em meio ácido)

Solução de micronutrientes (estoque)

Reagentes: quantidade p/ 1 litro

CuSO ₄ .5H ₂ O	0,17g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,44g
MnSO ₄ .2H ₂ O	0,40g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,02g
H ₃ BO ₃	2,86g
Água destilada.....	1000mL

Solução de ferro ferroso em meio ácido

FeSO ₄ .7H ₂ O	5,0g	0,5g
Ácido Cítrico	5,0g	0,5g
Água destilada.....	1000mL	100mL

- a) Para cada de solução de **NORRIS** adicionar os reagentes 1, 2 , 3, e 5 nas quantidades indicadas.
 - b) O $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ deve ser dissolvido isoladamente, só sendo adicionado à solução de **NORRIS** no final.