

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola

**FEIJÃO CAUPI SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COMBINADA DE
RIZÓBIO EM SOLO DE CERRADO**

RONDONÓPOLIS, MT
2015

ÉDER RODRIGUES BATISTA
Biólogo

**FEIJÃO CAUPI SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COMBINADA DE
RIZÓBIO EM SOLO DE CERRADO**

Orientador: Prof. Dr. SALOMÃO LIMA GUIMARÃES

Dissertação apresentada ao Instituto de
Ciências Agrárias e Tecnológicas da
Universidade Federal de Mato Grosso,
para obtenção do título de Mestre em
Engenharia Agrícola.

RONDONÓPOLIS, MT
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

R696f Rodrigues Batista, Éder.
Feijão caupi submetido à inoculação combinada de rizóbio em
solo de Cerrado / Éder Rodrigues Batista. -- 2015
94 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Salomão Lima Guimarães.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso,
Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Agrícola, Rondonópolis, 2015.
Inclui bibliografia.

1. Vigna unguiculata. 2. Latossolo. 3. Rhizobium. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE RONDONÓPOLIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Feijão caupi submetido à inoculação combinada de rizóbio em solo de Cerrado

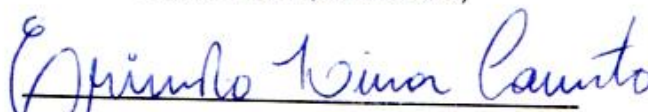
Autor: Éder Rodrigues Batista

Orientador: Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães

Rondonópolis, 17 de dezembro de 2015.

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães
ICAT/UFMT (Orientador)


Prof. Dr. Erineudo de Lima Canuto
IFMT


Dr. Helon Hébano de Freitas Sousa
CAPES/PNPD

“Todos os dias os animais nos prestam diversos serviços de graça. Deveríamos ser gratos a eles. ”

São Francisco de Assis

A Deus, como a bússola de minhas escolhas e,
Aos meus pais, Aparecida e José, que acreditaram em mim desde o início,

Dedico

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus a possibilidade de concretizar este trabalho de Mestrado.

Em seguida, gostaria de agradecer a minha família pelo apoio e amor incondicionais durante o tempo que me dediquei a esta jornada.

Gostaria de manifestar minha gratidão ao professor Dr. Salomão Lima Guimarães, pela amizade e cuidadosa orientação ao longo deste período.

Sou grato à professora Dra. Edna Maria Bonfim-Silva, pelos ensinamentos compartilhados no decorrer do curso.

Agradeço aos demais docentes deste curso pelo tempo e dedicação empreendidos no ensino no decorrer do curso.

Ao professor Dr. Mauro Osvaldo de Medeiros, do Dep. de Ciências Biológicas – ICEN, por todo auxílio e incentivo durante a graduação.

À coordenação do curso de Zootecnia, do Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas - ICAT por ter cedido o espaço do laboratório de Bromatologia para a moagem do material vegetal.

À coordenação do curso de Enfermagem, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais – ICEN, pelo espaço cedido no laboratório de Ciências Básicas para a esterilização dos materiais utilizados neste estudo.

À Universidade Federal de Mato Grosso e ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola pela oportunidade de crescimento acadêmico-profissional e pela concessão deste título.

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

Aos funcionários da UFMT Lucimar, Milene e Simone por toda a contribuição técnica prestada no desenvolver deste trabalho.

A todos os companheiros de curso: Cíntia, Danythielle, Jackinha, Juliana, Luana, Maurício, Nayra, Núbia, e Vanessa pela convivência.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

A todos, muito obrigado!

FEIJÃO CAUPI SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COMBINADA DE RIZÓBIO EM SOLO DE CERRADO

RESUMO: A fixação biológica de nitrogênio representa uma alternativa ao uso de fertilizantes nitrogenados na agricultura. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento e as características produtivas do feijão caupi submetido à inoculação combinada de rizóbio em solo de Cerrado. O experimento foi conduzido no campo experimental pertencente à Universidade Federal de Mato Grosso, campus de Rondonópolis, de dezembro de 2014 a março de 2015. Utilizou-se delineamento em blocos casualizados, com dez tratamentos, que consistiram da inoculação das estirpes MT8, MT15 e MT16, isoladas de feijão caupi, da estirpe BR3267 (recomendada para o feijão caupi), das combinações MT8+MT15, MT8+MT16, MT15+MT16 e MT8+MT15+MT16, de uma testemunha com adubação nitrogenada (70 kg ha⁻¹ de N) e outra sem inoculação e sem a adição de nitrogênio, em três repetições, totalizando trinta parcelas experimentais. A primeira avaliação ocorreu aos 40 dias após a semeadura, em que foram analisadas as variáveis altura de plantas, acúmulo de matéria seca (parte aérea, raízes e total), a eficiência relativa das estirpes, número e massa seca de nódulos e índice de clorofila Falker aos 40 e 60 dias após a semeadura. Após a colheita, realizada aos 70 dias após a semeadura, avaliou-se o número de vagens por planta, número de grãos por vagem, comprimento das vagens, a produtividade de grãos e a concentração de nitrogênio e de proteína bruta nos grãos. Os dados foram submetidos à análise de variância e aos testes de Tukey e contrastes ortogonais pelo teste de F, ambos a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR. A inoculação combinada das estirpes MT8+MT15+MT16 influenciou positivamente o acúmulo de matéria seca na parte aérea, nas raízes e total. De maneira similar, a inoculação combinada das estirpes MT8+MT15 possibilitou obter maior número de vagens por planta. O índice de clorofila Falker aos 60 dias foi influenciado pela inoculação combinada MT8+MT15, assim como pela estirpe MT15 quando inoculada isoladamente. Houve influência das combinações MT8+MT15, MT8+MT16 e MT15+MT16 sobre a produtividade de grãos. As características de desenvolvimento e a produtividade do feijão caupi foram influenciadas pela inoculação combinada de rizóbios.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, Latossolo, *Rhizobium*

COWPEA SUBJECTED TO COMBINED INOCULATION OF RHIZOBIA IN CERRADO SOIL

ABSTRACT: Biological nitrogen fixation is an alternative to the use of nitrogen fertilizers in agriculture. This study aimed to evaluate the development and the productive characteristics of cowpea subjected to combined inoculation rhizobia in Cerrado soil. The experiment was conducted in the experimental field at the Federal University of Mato Grosso, campus Rondonópolis, from December 2014 to March 2015. We used a randomized block design, with ten treatments, that consisted of inoculation of strains MT8, MT15 and MT16, isolated from cowpea, the BR3267 strain (recommended for cowpea), the combinations MT8+MT15, MT8+MT16, MT15+MT16 and MT8+MT15+MT16, a witness with nitrogen fertilization (70 kg N ha⁻¹) and one without inoculation and without the addition of nitrogen, in three repetitions, totaling thirty plots. The first assessment took place 40 days after sowing they were the parameters evaluated: plant height, dry matter accumulation (shoot, root, and total), the relative efficiency of the strains, the number and dry weight of nodules and the Falker chlorophyll index at the 40 and 60 days after sowing. After harvesting, carried out 70 days after sowing, evaluated the number of pods per plant, number of seeds per pod, length of the pods, grain yield, concentration and accumulation of nitrogen in grain and crude protein in the grain. Data was submitted to ANOVA and Tukey tests and orthogonal contrasts by F test, both 5% probability using the statistical program SISVAR. Combined inoculation of the strains MT8+MT15+MT16 influenced positively the shoot dry weight, roots dry weight and total dry weight of cowpea plants. Similarly, combined inoculation MT8+MT15 enabled get as the number of pods per plant. The Falker chlorophyll index at the 60 days was affected by the combined inoculation MT8+MT15, as well as by MT15 strain when inoculated isolated. There was the influence of combinations MT8+MT15, MT8+MT16 and MT15+MT16 on the grain yield. Developmental characteristics and productivity of cowpea were influenced by the combination of rhizobia inoculation.

Keywords: *Vigna unguiculata*, Oxisol, *Rhizobium*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Cultura do feijão caupi	16
2.2 Nitrogênio.....	17
2.3 Rizóbios e a fixação biológica de nitrogênio em leguminosas	20
2.4 Tecnologia de inoculação	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Área de estudo.....	27
3.2 Delineamento experimental e tratamentos utilizados.....	27
3.3 Cultivo bacteriano e inoculação das sementes	28
3.4 Instalação do experimento	28
3.5 Cultivar utilizada.....	29
3.6 Variáveis analisadas	30
3.7 Análise estatística	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Altura de plantas	36
4.2 Índice de clorofila Falker	38
4.3 Acúmulo de matéria seca.....	42
4.3.1 Matéria seca da parte aérea	42
4.3.2 Matéria seca de raízes.....	45
4.3.3 Matéria seca total.....	47
4.4. Eficiência relativa das estirpes	49
4.5 Nodulação	51
4.5.1 Número de nódulos por planta.....	51
4.5.2 Massa seca de nódulos	54
4.6 Componentes de rendimento	55
4.6.1 Número de vagens por planta.....	55
4.6.2 Comprimento das vagens	58
4.6.3 Número de grãos por vagem	61
4.7 Produtividade de grãos	63

4.8 Concentração de nitrogênio e proteína bruta de grãos	65
4.9 Acúmulo de nitrogênio nos grãos.....	67
4.10 Correlação entre variáveis	69
4.11 Análise econômica	72
5. CONCLUSÃO	74
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Modelo esquemático de um nódulo em desenvolvimento. (a) visão geral da formação de um nódulo; (b) liberação de flavonoides pela leguminosa hospedeira e produção de Fator Nod pela célula de rizóbio; (c) invasão do pelo radicular e formação do cordão de infecção; (d) endocitose para o citoplasma das células do córtex radicular e diferenciação em bacteroides; (e) nódulo de crescimento determinado; (f) rizóbios em nódulo de crescimento determinado.22
- Figura 2.** Médias mensais de temperatura mínima, máxima e de precipitação no período de dezembro de 2014 a março de 2015 em Rondonópolis, MT.....27
- Figura 3.** Eficiência relativa das estirpes de rizóbio inoculadas em feijão caupi em solo de Cerrado. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades químicas e granulométricas do solo proveniente da camada de 0,0-0,20 m.	29
Tabela 2. Contrastes ortogonais para valores médios de altura de plantas de feijão caupi, submetido à inoculação de rizóbios em solo de Cerrado.....	36
Tabela 3. Contrastes ortogonais para valores médios de índice Falker aos 40 dias após a semeadura em plantas de feijão caupi, submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.....	38
Tabela 4. Contrastes ortogonais para valores médios de índice Falker aos 60 dias após a semeadura em plantas de feijão caupi, submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.....	40
Tabela 5. Contrastes ortogonais para valores médios de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.	43
Tabela 6. Contrastes ortogonais para valores médios de massa seca de raízes do feijão caupi, submetido à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.	45
Tabela 7. Contrastes ortogonais para valores médios de massa seca total de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.	47
Tabela 8. Contrastes ortogonais para o número médio de nódulos em plantas de feijão caupi inoculadas com estirpes de rizóbio em solo de Cerrado.	51
Tabela 9. Contrastes para valores médios de massa seca de nódulos de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação combinada de rizóbios em área de Cerrado. .	54
Tabela 10. Contrastes ortogonais para o número médio de vagens por planta em feijão caupi inoculado com rizóbios e cultivado em solo de Cerrado.	56
Tabela 11. Contrastes ortogonais para o comprimento médio das vagens de plantas de feijão caupi, submetido à inoculação combinada de rizóbios em solo de Cerrado.	58
Tabela 12. Contrastes para o número médio de grãos por vagem em plantas de feijão caupi submetidas à inoculação combinada de rizóbios em solo de Cerrado...	61
Tabela 13. Produtividade de grãos e acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi, em função da inoculação de estirpes de rizóbio em solo de Cerrado.....	63
Tabela 14. Concentração de nitrogênio e proteína bruta de grãos de feijão caupi inoculado com estirpes de rizóbio em solo de cerrado.....	65
Tabela 15. Acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi, submetido à inoculação combinada de rizóbio em solo de Cerrado.	67

Tabela 16. Coeficientes de correlação entre as variáveis experimentais.71

Tabela 17. Análise econômica da produção de feijão caupi submetido à inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada na região de Rondonópolis-MT, no período de agosto de 2015.....72

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio é o nutriente que mais restringe o crescimento vegetal, limitando, consequentemente, a produção agrícola. Por ser constituinte de moléculas biológicas essenciais à vida, a presença deste nutriente no meio em que as plantas se encontram contribui de maneira significativa para seu adequado desenvolvimento. Contudo, apresenta uma dinâmica complexa no solo, estando sujeito às transformações microbianas que podem fazer com que este nutriente seja removido do sistema solo, constituindo perdas importantes (VLEK et al., 1981; DYNIA et al., 2006).

Atualmente, devido ao custo elevado da adubação nitrogenada e dos impactos ambientais a ela atrelados, tem-se buscado estratégias capazes de garantir os mesmos benefícios, mas que apresentem viabilidade econômica e que causem o mínimo de impacto sobre o meio ambiente.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) tem chamado a atenção de pesquisadores e de produtores rurais como uma forma de disponibilizar este nutriente para as plantas, diminuindo a necessidade de se aplicar fertilizantes nitrogenados nos agroecossistemas.

O feijão caupi é cultivado nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil e participa da alimentação de muitas famílias, além de gerar milhares de empregos anualmente em áreas onde a colheita é manual e há pouca ou nenhuma tecnologia envolvida no processo produtivo (FREIRE FILHO et al., 2011). Essa cultura é capaz de se beneficiar da FBN ao formar simbiose com bactérias do solo denominadas rizóbios, o que permite obter a nutrição nitrogenada adequada para o seu desenvolvimento.

As contribuições da FBN para o feijão caupi são variáveis de região para região, mas de modo geral, este processo pode fornecer mais de 90% do nitrogênio requerido por esta cultura a cada ciclo. Estimativas apontam que o feijão caupi pode fixar anualmente cerca de 30 a 240 kg ha⁻¹ de nitrogênio por meio da simbiose com rizóbios (APPIAH et al., 2015).

A inoculação das sementes com essas bactérias pode ser aplicada como uma estratégia para se elevar a produtividade de grãos em campo, de modo que reduza o custo de produção e o impacto ambiental gerado com o uso de fertilizantes

nitrogenados. Entretanto, a maioria dos inoculantes destinados ao feijão caupi contém uma única estirpe bacteriana, e isso gera limitações quanto à inoculação. Dentre tais limitações está a competição entre as estirpes de rizóbio introduzidas e aquelas estabelecidas no solo pela formação dos nódulos, constituindo uma das razões de fracasso desta prática (THIES et al., 1991a).

Para se contornar este problema, pode-se fazer uso da inoculação combinada, técnica já sugerida para uso em feijão caupi (MARTINS et al., 2003). Esta técnica permite a produção de inoculantes com mais de uma estirpe de rizóbio na formulação. Assim, com o aumento da diversidade desses micro-organismos em um mesmo inoculante, pode-se aumentar as chances de sucesso da inoculação nos agroecossistemas, elevando-se a produtividade de grãos (TRABELSI e MHAMDI, 2013).

Nesse contexto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o desenvolvimento e as características produtivas do feijão caupi, submetido à inoculação combinada de estirpes de rizóbio em solo de Cerrado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do feijão caupi

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) é uma dicotiledônea pertencente à ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, seção *Catjang* e espécie *Vigna unguiculata* (VERDCOURT, 1970; MARECHAL et al., 1978). Sua origem parte da África e foi trazida para a América Latina no século XVI pelos colonizadores espanhóis e portugueses, sendo introduzida no Brasil, no estado da Bahia (NG e MARECHAL, 1985; STEELE e MEHRA, 1989; PADULOSI e NG, 1997).

É uma leguminosa de ciclo curto, com baixa exigência hídrica e de bom desenvolvimento em solos de baixa fertilidade, podendo ser cultivada em quase todos os tipos de solos em razão de sua rusticidade (EHLERS e HALL, 1997; (FREIRE FILHO et al., 2005).

No Brasil também existem vários nomes vulgares para a espécie *Vigna unguiculata*, os quais englobam desde feijão, a outros menos conhecidos e que variam de local para local como feijão macassar, feijão-de-corda, feijão-de-moita dentre outros (FREIRE FILHO et al., 1983).

Essa cultura apresenta ampla distribuição mundial, com área ocupada de 12,5 milhões de hectares, sendo oito milhões localizados na África, além da Ásia, Américas Central e do Sul, e outras pequenas áreas na Oceania e nos sudoestes Europeu e dos Estados Unidos (SINGH et al., 1997). Entre os principais produtores mundiais, destacam-se a Nigéria, o Niger e o Brasil (SINGH et al., 2003).

Das 5,4 milhões de toneladas de feijão caupi produzidas mundialmente, a África é responsável por 5,2 milhões, e nesse continente, 61% é produzido e consumido pela Nigéria, a qual responde por 58% da produção mundial desse grão (FREIRE FILHO et al., 2011; OJIAKO e KAYODE, 2014).

A produção brasileira de feijão caupi foi de 583,1 mil toneladas na safra 2013/14, o que correspondeu a 17% do feijão produzido nesta safra, em que a produtividade média foi de 366 kg ha⁻¹, devendo-se, principalmente, ao baixo nível tecnológico empregado no cultivo desse grão (CONAB, 2014).

O feijão caupi é cultivado, em grande parte, na região Nordeste brasileira, a qual representa cerca de um terço do feijão produzido nacionalmente, e cujos maiores produtores são Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí (FROTA et al., 2008; CASTELLETTI e COSTA, 2013). Nessa região, pelo menos 27,5 milhões de pessoas se alimentam desse grão, com uma média de consumo de 20 kg pessoa⁻¹ ano⁻¹, o qual gera cerca de 2,4 milhões de empregos todos os anos, quando a colheita é realizada manualmente (FREIRE FILHO et al., 2005; 2011).

No Centro-Oeste, o feijão caupi tem despertado o interesse de agricultores que cultivam variedades de porte ereto e compacto, em sistemas tecnificados, tendo maior expressão o estado de Mato Grosso, onde é cultivado em duas épocas, sendo para as variedades de ciclo médio na metade do período chuvoso, e para variedades de ciclo superprecoce, nos dois meses que antecedem o final deste período (FREIRE FILHO et al., 2011).

O feijão caupi tem importância alimentar nas áreas onde é cultivado em todo o mundo (LANGYINTUO et al., 2003). Os grãos apresentam um conteúdo proteico que varia de 18 a 35%, o de carboidratos fica na faixa de 50 a 60%, além de apresentar todos os aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e fibras dietéticas, e cerca de apenas 2% de gorduras (RAGAB et al., 2004; FREIRE FILHO et al., 2005).

Assim, a participação desta cultura no contexto socioeconômico das regiões onde é cultivada demonstra sua importância na alimentação pelo rico conteúdo nutricional, além de participar da geração de empregos e renda em todo o mundo (SEBETHA et al., 2015).

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio compõe cerca de 78% da atmosfera terrestre sob a forma gasosa estável N₂, que o torna indisponível para a maioria dos organismos vivos (GALLOWAY et al., 2004). É considerado um macronutriente essencial devido as importantes funções biológicas que desempenha, uma vez que está presente na composição de aminoácidos, nucleotídeos, coenzimas e em pigmentos como a clorofila (MAATHUIS, 2009).

Dentre as formas de entrada do nitrogênio no solo, destacam-se a fixação biológica, o uso de fertilizantes nitrogenados e a deposição atmosférica (PEOPLES

et al., 1995a). Para tais eventos, as quantidades de nitrogênio que chegam à superfície terrestre anualmente são de aproximadamente 100 a 300 Mg de N biologicamente fixado, 100 Mg de N como fertilizantes nitrogenados e de 3 a 10 Mg de N por meio da deposição atmosférica (FIELDS, 2004).

Em ecossistemas naturais, assim como nos agroecossistemas, a fixação biológica é o principal processo que possibilita ao nitrogênio entrar no sistema solo e é realizada por micro-organismos diazotróficos, assumindo um papel crucial na manutenção da vida nestes ambientes (BOHLOOL et al., 1992; PEOPLES et al., 1995a).

A matéria orgânica detém cerca de 95% do nitrogênio total encontrado no solo, vindo a ocorrer na forma de grupamentos amina ($R-NH_2$), açúcares aminados, ou como o amônio (NH_4^+) fixado nos minerais de argila tipo 2:1, e que é, de modo geral, responsável pela nutrição de plantas e micro-organismos presentes neste habitat (MENGEL, 1996; SCHULTEN e SCHNITZER, 1998).

O nitrogênio possui dinâmica complexa no solo, passando por diversas transformações. Dentre as transformações, a mineralização desse nutriente consiste de sua liberação a partir dos restos orgânicos por meio da atividade dos micro-organismos para obtenção de energia (HANEY et al., 2015).

A fauna telúrica hidrolisa a matéria orgânica, liberando para a solução do solo formas iônicas como nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), as principais formas absorvidas e usadas pelas plantas no metabolismo do crescimento e desenvolvimento (GIANELLO et al., 2000; LI et al., 2013). Este processo desempenha o importante papel ecológico de manutenção da fertilidade dos solos, além de sustentar também o crescimento microbiano (CHEN et al., 1999; JONES et al., 2004; HOULTON e MORFORD, 2015).

Quando os micro-organismos utilizam o nitrogênio mineralizado da matéria orgânica em seu metabolismo, este nutriente torna-se imobilizado, estanto essa imobilização diretamente ligada à relação C:N do solo (SCHULTEN e SCHNITZER, 1998). De acordo com Bengtsson et al. (2003), uma relação C:N de 20 pode ser considerada como favorável para que haja a imobilização do nitrogênio pelos micro-organismos do solo, podendo, com a morte celular, ser remineralizado.

Entretanto, sob determinadas condições, o nitrogênio pode sofrer perdas, tanto gasosas (desnitrificação e volatilização) como na forma de íon (lixiviação). A

desnitrificação promove a passagem dos íons nitrato e nitrito para a atmosfera sob a forma dos gases óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N₂O) ou dinitrogênio (N₂), e é levada a cabo pela ação de micro-organismos (SEITZINGER et al., 2006). Este processo acarreta perdas significativas do nitrogênio do solo e modifica sua disponibilidade para as plantas, o que afeta a produtividade dos ecossistemas tanto naturais como agrícolas (WRAGE et al., 2001; KOOL et al., 2011).

De acordo com Bouwman et al. (2013), estima-se que uma quantidade elevada de nitrogênio é perdida dos solos por desnitrificação, chegando a uma taxa de 142 Mg de N ano⁻¹, justificada pelo uso intensivo de fertilizantes nitrogenados nos agroecossistemas de todo o mundo.

Já a volatilização se caracteriza pela perda do nitrogênio do solo na forma de amônia (NH₃) (FENN e KISSEL, 1973). A volatilização da amônia resulta da variação do pH do solo na faixa entre 7 e 9 (FERGUSON et al., 1984). Esse tipo de perda é frequentemente associada à adubação nitrogenada, sobretudo à ureia, que é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura brasileira devido seu baixo custo por unidade aplicada, alta solubilidade em água e elevado teor de N em sua composição, cerca de 45% (MATTOS JUNIOR et al., 2002; COSTA et al., 2004).

A hidrólise da ureia no solo consome íons H⁺, provocando o aumento do pH do solo próximo ao local da aplicação (MATTOS JUNIOR et al., 2002). O consumo desses íons resulta em maior proporção de nitrogênio amoniacal, o que promove maior perda da amônia por volatilização (DU PLESSIS e KROONTJE, 1964). Por isso, quando o nitrogênio é adicionado ao solo como fertilizante, essas perdas podem afetar sua eficiência, sendo aproveitados menos de 50% do total aplicado (BREDEMEIER e MUNDSTOCK, 2000).

Por outro lado, na lixiviação, o nitrato (NO₃⁻) é levado pelas águas de drenagem para as partes inferiores do perfil do solo (GAINES e GAINES, 1994). Isso se deve basicamente à carga negativa deste íon, que, diferentemente do amônio (NH₄⁺), o impossibilita de interagir com os minerais de argila (KOBAYASHI et al., 1996).

Este processo também pode ser favorecido pela atividade de certos grupos de organismos do solo, os quais ao modificar a estrutura edáfica, aumentam a lixiviação do nitrogênio, sobretudo em agroecossistemas onde são aplicadas quantidades excessivas de fertilizantes nitrogenados (DOMINGUEZ et al., 2004).

As perdas de nitrogênio afetam o crescimento vegetal, o que constitui um dos principais fatores limitantes para a produção agrícola e, além disso, tanto em gramíneas como em leguminosas, é um nutriente que melhora a qualidade e a quantidade da matéria seca produzida e de proteína nos grãos (SANTI et al., 2013; TAIRO e NDAKIDEMI, 2013).

Com isso, o fornecimento deste nutriente às plantas por meio de um sistema que minimize perdas torna-se essencial, pois a absorção desse nutriente contribui para o desenvolvimento das culturas e tem grande impacto sobre sua produtividade em campo (GASTAL e LEMAIRE, 2002; KRAPP, 2015).

2.3 Rizóbios e a fixação biológica de nitrogênio em leguminosas

Rizóbios são bactérias Gram-negativas que não formam endosporos e medem cerca de 0,5 a 0,9 micrômetros de comprimento por 1,2 a 3,0 micrômetros de diâmetro, embora sejam pleiomórficas sob condições diversas. São bactérias quimiorganotróficas de metabolismo aeróbio capazes de crescer sob tensões de O₂ inferiores a 0,01 atm. Apresentam temperatura ótima de crescimento de 25 a 35°C e pH de 5,0 a 8,5, sendo mais satisfatórios meios de cultivo que contenham extratos de levedura ou outros extratos de plantas, sais minerais, e como fonte de açúcar, manitol ou glucose (VINCENT, 1962; JORDAN e ALLEN, 1975).

Os rizóbios foram descobertos por Beijerinck (1888), sendo nomeados inicialmente como *Bacillus radiculula*, os quais foram, posteriormente, renomeados por Frank (1889) como *Rhizobium leguminosarum*. Mais tarde surgiram novos gêneros como *Bradyrhizobium* (JORDAN, 1982), *Azorhizobium* (DREYFUS et al., 1988), *Sinorhizobium* (CHEN et al., 1988) e *Mesorhizobium* (LAJUDIE et al., 1998).

Em função da grande diversidade de espécies a classificação dos rizóbios sofreu algumas mudanças nos últimos anos, e com base em novas análises filogenéticas e polifásicas, houve a descoberta de novos táxons (ZAKHIA e L'AJUDIE, 2001). Atualmente são conhecidas 98 espécies, agrupadas em 14 gêneros, sendo eles *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Devosia*, *Ensifer*, *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Shinella* (BERRADA e FIKRI-BENBRAHIM, 2014).

Essas bactérias formam simbiose com leguminosas, exercendo um importante papel nos agroecossistemas e nos ecossistemas de floresta pelo fornecimento do nitrogênio atmosférico convertido em formas assimiláveis para as plantas, que o utilizam em seu metabolismo (REBAH et al., 2007). O feijão caupi, por exemplo, pode associar-se com pelo menos seis espécies de rizóbio, dentre as quais estão *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium xinjiangensis*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium tropici* (ZILLI et al., 2006) e *Rhizobium leguminosarum* (LEITE et al., 2009) além de outras ainda não identificadas.

O estabelecimento da simbiose depende da troca específica de sinais químicos entre os parceiros, com a síntese e liberação de flavonoides pela planta (DOWNIE, 1994; SUBRAMANIAN et al., 2007). Quando liberadas, essas substâncias atuam na indução de genes bacterianos responsáveis pela síntese de moléculas chamadas fatores Nod (COOPER, 2007), o que permite aos rizóbios reconhecer e invadirem as células do córtex radicular das plantas, e que também são responsáveis pela estreita especificidade simbiótica entre macro e microsimbionte (FAUVART e MICHIELS, 2008; DEAKIN e BROUGHTON, 2009).

A invasão da planta tem início quando os rizóbios são aprisionados entre as paredes celulares do pelo radicular do hospedeiro no momento em que este se encurva e, com isso, ocorre a invaginação da parede celular desses locais, gerando o processo de infecção, o qual dá origem a um canal por onde as bactérias entram no citoplasma das células das raízes, promovendo a formação de um nódulo radicular primordial (GAGE e MARGOLIN, 2000).

Posteriormente, as células bacterianas se diferenciam em um tipo celular denominado de bacteroide (OKE e LONG, 1999). Essa diferenciação decorre de alterações morfológicas envolvendo o alongamento das células e, muitas vezes, sua ramificação em forma de Y, sendo que somente nessas formas são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (GEURTS e BISSELING, 2002; KERESZT et al., 2011).

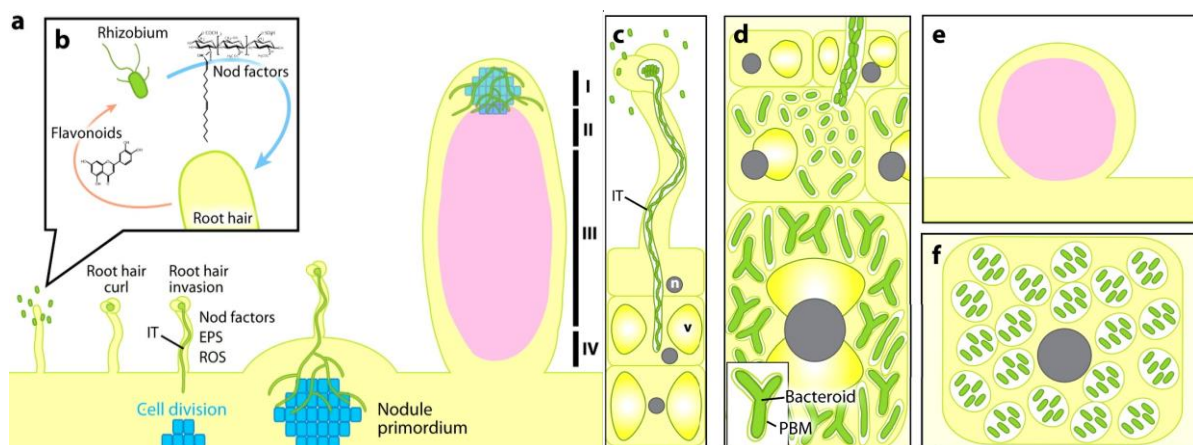


Figura 1. Modelo esquemático de um nódulo em desenvolvimento. (a) visão geral da formação de um nódulo; (b) liberação de flavonoides pela leguminosa hospedeira e produção de Fator Nod pela célula de rizóbio; (c) invasão do pelo radicular e formação do cordão de infecção; (d) endocitose para o citoplasma das células do córtex radicular e diferenciação em bacteroides; (e) nódulo de crescimento determinado; (f) rizóbios em nódulo de crescimento determinado.

Fonte: Gibson et al. (2008).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é realizada por micro-organismos denominados diazotróficos (BOHLOOL et al., 1992), e envolve a redução do nitrogênio gasoso presente na atmosfera a amônia (NH_3) (ALBERTY, 2005). O processo ocorre através da enzima nitrogenase, a qual apresenta como constituintes básicos os metais ferro e molibdênio (REES e HOWARD, 2000), podendo haver formas alternativas dessa enzima em que o elemento vanádio (V) substitui o molibdênio (HU e RIBBE, 2013; BELLENGER et al., 2014).

Esses micro-organismos estão distribuídos em diversos grupos filogenéticos e habitam vários ecossistemas em vida livre, em simbiose com leguminosas como o feijoeiro e o feijão caupi, ou endofiticamente em raízes ou parte aérea de gramíneas como arroz, cana-de-açúcar, bem como de espécies forrageiras como *Brachiaria* sp., *Paspallum notatum* entre outras (WEBER et al., 2000; MOREIRA et al., 2010).

As estimativas da contribuição deste processo para a quantidade de nitrogênio fixado variam de 2 a 284 kg de N ha^{-1} ano^{-1} em leguminosas perenes e anuais de ambientes temperados e tropicais (PEOPLES e BALDOCK, 2001). Em gramíneas, a FBN realizada por micro-organismos não simbióticos contribui com cerca de 30 a 60% do N total acumulado nas plantas, enquanto em pastagens, essa contribuição varia de 10 a 42% (URQUIAGA et al., 1992; DÖBEREINER, 1997; SILVA et al., 2010).

Em agroecossistemas e em ecossistemas naturais (florestas), a entrada de nitrogênio via fixação simbiótica é considerada dominante (KENNEDY e ISLAM, 2001). A FBN tem assumido um caráter de importância nos agroecossistemas, pois tem possibilitado diminuir as quantidades, antes crescentes, de fertilizantes nitrogenados usados na produção agrícola mundial (PEOPLES et al., 1995a). Esse processo oferece um meio sustentável para a agricultura, uma vez que contribui para a manutenção da fertilidade dos solos, em parte pelo nitrogênio acumulado pelas leguminosas, que após serem incorporadas ao solo como matéria orgânica, liberam o N para outras plantas e que sustenta diversos processos microbianos (PEOPLES e CRASWELL, 1992; WANI et al., 1995; HERRIDGE et al., 2008).

Estudos envolvendo análises isotópicas utilizando ^{15}N demonstraram que algumas leguminosas podem obter cerca de 50% do nitrogênio em certas regiões através da FBN (PULE-MEULENBERG e DAKOTA, 2009), enquanto em outras regiões, esse percentual pode chegar a cerca de 70 a 99% (NAAB et al., 2009).

Outras pesquisas mostraram que a FBN é responsável pelo maior acúmulo de nitrogênio em plantas inoculadas, tendo sido observado incremento na massa seca dessas plantas (RODRIGUES et al., 2013). A presença de uma simbiose eficiente também proporcionou aumento do rendimento de grãos, com valores de 693 kg ha^{-1} (MARTINS et al., 2003) a 957 kg ha^{-1} (SOARES et al. 2006a), possibilitando substituir o uso de fertilizante nitrogenado pela exploração da fixação biológica de nitrogênio.

O sistema fixador de nitrogênio formado durante a simbiose leguminosa-rizóbio possui relação direta com o estado fisiológico da planta hospedeira e, por isso, fatores como deficiência de nutrientes, pH abaixo de 5,0 e acima de 8,5, salinidade, temperatura e umidade do solo, além de toxidez por metais pesados, afetam a planta hospedeira, assim como impõem limitações à capacidade dos rizóbios de fixarem o nitrogênio (BROCKWELL et al., 1995; PEOPLES et al., 1995b; THIES et al., 1995).

Contudo, a combinação favorável de alguns fatores pode determinar o sucesso da FBN (HUNGRIA e VARGAS, 2000). O genótipo dos parceiros pode influenciar a troca de sinais moleculares entre a planta e a bactéria, o que reflete em diferenças nas respostas quanto ao espectro de hospedeiros, especificidade e eficiência simbiótica (SILVA et al., 2009a).

A habilidade do rizóbio em nodular e fixar nitrogênio quando associada a um hospedeiro em particular, a especificidade hospedeira, é uma característica importante na seleção de novas estirpes, pois otimiza o processo de FBN na simbiose rizóbio-leguminosa (CARVALHO et al., 2008; VIEIRA et al., 2010).

Levando em conta que pelo menos 90% da célula é composta por água, o estresse hídrico prejudica a nodulação em leguminosas, ocasionando a senescência prematura dos nódulos, o que reduz, conseqüentemente, a taxa de FBN. Esse estresse também interfere no transporte de produtos nitrogenados, inibindo a atividade nessas estruturas (YANG et al., 2013).

As fases de formação, desenvolvimento e funcionamento dos nódulos podem ser afetados pela temperatura elevada, pois nos solos tropicais, as temperaturas nas camadas próximas à superfície chegam a 40°C (HUNGRIA et al., 1985). Por outro lado, a acidez do solo é outro fator capaz de afetar negativamente a sobrevivência, o crescimento e a fixação de nitrogênio, comprometendo a simbiose (BORDELEAU e PRÉVOST, 1994). Pinheiro et al. (2014) destacam que esses fatores podem influenciar no tamanho e na estrutura dos nódulos, diminuindo a sobrevivência do rizóbio nos solos.

A salinidade do solo não afeta necessariamente a colonização radicular pelos rizóbios, mas retarda o início de novos nódulos, além de reduzir a eficiência dos nódulos formados anteriormente (RAO et al., 2002). Por outro lado, a toxidez causada por concentrações elevadas de metais pesados ocasiona redução de até 10% na nodulação devido à redução na formação de pelos radiculares, o que reduz os sítios de infecção (KOPITKE et al., 2007).

A deficiência de nutrientes é outro fator que pode afetar a multiplicação dos rizóbios na rizosfera da leguminosa, uma vez que concentrações adequadas de nutrientes são necessárias para a sobrevivência e o crescimento dessas bactérias, tanto em simbiose como saprofiticamente no solo (O'HARA et al., 1988; O'HARA, 2001).

Portanto, de uma maneira geral, essas deficiências podem afetar diversos processos celulares, comprometendo diretamente a simbiose leguminosa-rizóbio e o processo de fixação biológica de nitrogênio (ANNE-SOPHIE et al., 2002).

2.4 Tecnologia de inoculação

Inoculantes consistem de insumos formulados com culturas microbianas adicionadas a substratos que vão desde orgânicos, como a turfa, a outros de composição mineral, mas que sejam capazes de suportar a sobrevivência dos micro-organismos e ao mesmo tempo benéficos para as plantas (TEMPRANO et al., 2002).

O uso desses insumos em substituição aos químicos tem crescido nos agroecossistemas, onde a inoculação de sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio vêm como uma estratégia para aumentar a produtividade em campo, e assim diminuir as aplicações de fertilizantes nitrogenados (COSTA et al., 2014).

No entanto, para a produção de inoculantes as estirpes devem apresentar alta capacidade de nodulação, no caso daqueles destinados às leguminosas, mas de modo geral, também devem apresentar alta capacidade de fixação de N_2 e persistência no solo sob condições de campo (DATE, 2000). Além disso, a eficácia do inóculo e uma tecnologia de aplicação adequada são aspectos predominantes para o sucesso da técnica (BASHAN et al., 2014).

Os inoculantes podem ser comercializados sob diversas formas, podendo ser em pó para aplicação sobre a superfície das sementes, líquida para aplicação em sulco no plantio, ou como granulados para também serem colocados diretamente no sulco de cultivo, ao lado ou abaixo das sementes (STEPHENS e RASK, 2000).

A formulação turfosa apresenta boa sobrevivência das bactérias, sendo a mais usual (DATE, 2001). Este substrato possui boa capacidade de retenção de água, fornecendo proteção física às células contra a dessecação e elevadas temperaturas, além de ser rico em matéria orgânica resultante da decomposição de restos vegetais, o qual pode fornecer nutrientes para as bactérias (HUNGRIA et al., 2001; CAMPO e HUNGRIA, 2007).

A introdução de rizóbios no solo via inoculação resulta, muitas vezes, em nodulação ineficaz devido à competitividade das populações nativas existentes na rizosfera, e dessa forma, é importante que a inoculação seja feita usando a estirpe de rizóbio apropriada para a variedade a ser cultivada e de modo a garantir que a bactéria esteja presente no solo em número suficiente para assegurar boa infecção radicular e eficaz fixação de nitrogênio (ARSAC e CLEYET-MAREL, 1986; TILAK et al., 2006).

Pesquisas desenvolvidas na última década trouxeram novas perspectivas para a inoculação do feijão caupi, com a recomendação de estirpes mais eficientes para produção de inoculantes (MARTINS et al., 2003).

Segundo Zilli et al. (2009), as estirpes SEMIA 6462 (BR3267), SEMIA 6463 (INPA03-11B) e SEMIA 6461 (UFLA 03-84) agora estão entre os micro-organismos que podem ser utilizados na produção de inoculantes para o feijão caupi, pois foram aprovadas pela RELARE e reconhecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da normativa nº 13 de 24 de março de 2011 (BRASIL, 2011).

Resultados positivos em campo quanto à produtividade de grãos do feijão caupi também foram observados por Soares et al. (2006a), onde os autores ressaltaram que os maiores valores de produtividade de grãos ocorreram com as estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11B em relação às demais estirpes testadas, embora entre essas estirpes este valor tenha sido similar. Igualmente, Silva et al. (2011) observaram que a inoculação da estirpe BR3267 em feijão caupi proporcionou maior produtividade de grãos em relação aos tratamentos não inoculados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O experimento foi conduzido no campo experimental da Universidade Federal de Mato Grosso, campus universitário de Rondonópolis, entre os meses de dezembro de 2014 a março de 2015. A área fica localizada a 290 metros de altitude e está situada a 54°34'48" de longitude oeste e 16°27'44" latitude sul. As características climáticas compreendem clima tipo Aw, sendo a temperatura média de 25,6°C e a precipitação anual de 1400 a 1500 mm, com verão chuvoso e inverno seco característicos, conforme a classificação climática de Köppen (PEREIRA et al., 2002).

Os dados climáticos referentes a todo o período experimental mostraram precipitação média de 7,5 mm, temperatura mínima de 22,2°C e máxima de 32,7°C (Figura 2).

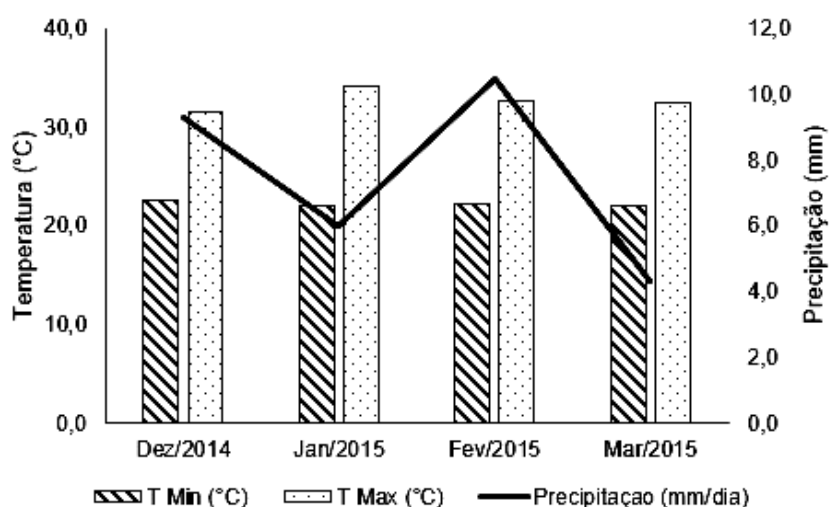


Figura 2. Médias mensais de temperatura mínima, máxima e de precipitação no período de dezembro de 2014 a março de 2015 em Rondonópolis, MT.
Fonte: INMET.

3.2 Delineamento experimental e tratamentos utilizados

Utilizou-se delineamento experimental de blocos casualizados, constituídos de dez tratamentos, sendo: as estirpes MT8 (*Rhizobium tropici*), MT15 (*R. tropici*) e

MT16 (*R. leguminosarum*), isoladas de plantas iscas de feijão caupi; a estirpe BR3267 (*Bradyrhizobium japonicum*), recomendada pelo Ministério da Agricultura para a inoculação em feijão caupi; as combinações MT8+MT15, MT8+MT16, MT15+MT16 e MT8+MT15+MT16; e duas testemunhas: uma com adubação nitrogenada (70 kg ha⁻¹ na forma de ureia) e outra sem inoculação e sem a adição de nitrogênio. Para cada tratamento adotou-se três repetições, totalizando trinta parcelas experimentais.

As parcelas experimentais foram constituídas de sete linhas de 5 m, espaçadas 0,5 m, e entre as parcelas foi adotado o espaçamento de 1 m. Para a área útil, foram consideradas cinco linhas centrais, excluindo-se as linhas da bordadura e mais 0,25 m das cabeceiras de cada parcela, resultando 9 m² de área útil.

3.3 Cultivo bacteriano e inoculação das sementes

As bactérias foram multiplicadas em placas de petri contendo meio de cultura YMA sólido com pH ajustado para 6,8 por três dias a 28°C (FRED e WAKSMAN, 1928). Após a multiplicação, as bactérias foram transferidas para erlenmeyers com capacidade para 150 mL contendo meio YMA líquido e colocadas para crescer por 24 horas em mesa agitadora sob temperatura média de 28°C a 80 rpm de agitação.

O veículo de inoculação utilizado foi a turfa, cujo preparo foi efetuado na proporção de 35 g de turfa para 10 mL de caldo bacteriano. Depois do preparo, o inoculante foi colocado em estufa por 24 horas a 30°C (LOPES e GIARDINI, 1977; GUIMARÃES et al., 2007). Em seguida, as sementes foram peletizadas e colocadas para secar a sombra.

3.4 Instalação do experimento

O solo do local do experimento foi amostrado e depois analisado em laboratório para determinação das propriedades químicas e granulométricas, sendo caracterizado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2013). Os resultados da análise são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades químicas e granulométricas do solo proveniente da camada de 0,0-0,20 m.

Profundidade	Análise Química										Granulometria		
	pH (CaCl ₂)	M.O. g kg ⁻¹	P mg dm ⁻³	K mg dm ⁻³	Ca mg dm ⁻³	Mg mg dm ⁻³	Al cmol _c dm ⁻³	H+Al cmol _c dm ⁻³	CTC cmol _c dm ⁻³	V %	Areia g/kg	Silte g/kg	Argila g/kg
0,0-0,20 m	4,5	28,0	3,5	65	1,2	0,9	0,5	4,9	7,2	31,7	350	150	500

A calagem foi realizada aplicando-se calcário dolomítico (PRNT = 80,3%), visando elevar a saturação por bases para 50%, o qual foi incorporado ao solo com uma gradagem leve. Todos os tratamentos, incluindo a testemunha e o controle adubado, receberam adubação fosfatada na dose de 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅, tendo como fonte superfosfato simples, e potássica na dose de 40 kg ha⁻¹ de K₂O, tendo como fonte cloreto de potássio, além de adubação com micronutrientes na dose de 20 kg ha⁻¹, utilizando como fonte FTE (FREIRE FILHO et al., 2005).

A semeadura foi realizada manualmente com densidade de 10 sementes por metro e espaçamento de 0,5 m entre as linhas, considerando a densidade de 200 mil plantas por hectare.

O controle de insetos-praga foi realizado mediante três aplicações do princípio ativo Deltametrina, na proporção de 30% do volume da calda, aos 30, 45 e 65 dias após a semeadura, respectivamente, e para o controle de plantas invasoras, foram realizadas capinas periódicas na área.

Para o controle de fungos, foi aplicado, em dose única aos 50 dias após a semeadura, o princípio ativo Azoxistrobina+Ciproconazole, na proporção de 30% mais adjuvante a 0,5% do volume da calda.

3.5 Cultivar utilizada

A cultivar de feijão caupi utilizado neste experimento foi a BRS Tumucumaque (EMBRAPA, 2014), produzida a partir de duas linhagens parentais, a BRS Guariba (TE96-282-22G), e uma linhagem procedente do International Institute of Tropical Agriculture – IITA, Ibadan, Nigéria.

A população segregante deste cruzamento foi selecionada dando-se ênfase ao porte ereto e à qualidade de grãos, e após esta seleção as linhagens foram avaliadas nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, de 2004 a 2006, onde

destacou-se a linhagem MNC99-537F-4, lançada com o nome comercial BRS Tumucumaque no ano de 2009 pela Embrapa Meio Norte.

O BRS Tumucumaque apresenta ciclo de 70-75 dias, porte semiereto, resistência ao acamamento, vagens de coloração roxa e produtividade média de 1100 Kg ha⁻¹. Seus grãos são brancos e levemente reniformes com cerca de 23,5% de proteína, 60,5% de ferro e 51,6% de zinco.

3.6 Variáveis analisadas

Altura de plantas

A altura das plantas foi avaliada aos 40 dias após a semeadura com o auxílio de uma trena, medindo da superfície do solo ao ápice da haste principal das plantas, adotando-se o valor da média de dez plantas tomadas aleatoriamente de cada parcela.

Índice de clorofila Falker

O índice de clorofila foi avaliado aos 40 dias após a semeadura por ocasião do florescimento e aos 60 dias após a semeadura por ocasião do enchimento de grãos com o auxílio de um clorofilômetro modelo CorofilLOG® CFL 1030. As leituras foram realizadas em cinco plantas (CARVALHO et al., 2003), tomadas ao acaso da área útil de cada parcela e o valor final da leitura foi obtido por meio da média aritmética dos valores.

Matéria seca vegetal

A massa seca foi determinada aos 40 dias após a semeadura. Foram coletadas dez plantas da segunda linha de cada parcela com o auxílio de uma pá reta. A parte aérea e as raízes foram separadas, acondicionadas em sacos de papel identificados e colocadas para secar em estufa de circulação forçada com temperatura ajustada a 65°C até atingir massa constante. Adotou-se para a massa seca total, a soma das massas secas da parte aérea e de raízes.

Eficiência relativa das estirpes

Para obtenção da eficiência relativa das estirpes empregou-se cálculo por meio da expressão proposta por Bergersen et al. (1971), a qual leva em consideração a relação entre a massa seca da parte aérea que recebeu a inoculação do rizóbio em relação ao tratamento com adubação nitrogenada (Eq.1).

$$Efr = \frac{MSPAinoculada}{MSPAcomN} \times 100$$

Onde: Efr, eficiência relativa; MSPAinoculada, matéria seca da parte aérea de plantas inoculadas; e MSPAcomN, matéria seca da parte aérea de plantas com adubação nitrogenada.

Nodulação

A nodulação foi determinada aos 40 dias após a semeadura, a partir da coleta dos nódulos das raízes das plantas. Os nódulos foram retirados e contados em laboratório e posteriormente, colocados para secar em estufa a 65°C por 24 horas para determinação da massa seca e em seguida as amostras foram pesadas em balança semi-analítica.

Componentes de rendimento

As avaliações do número de vagens por planta, de grãos por vagem e do comprimento das vagens foram realizadas no período pós-colheita. O número de vagens foi determinado pela média das vagens presentes em dez plantas. O número de grãos por vagem foi determinado pela média de dez vagens por planta, enquanto que para o comprimento de vagens, foram utilizadas vinte vagens tomadas ao acaso em cada tratamento.

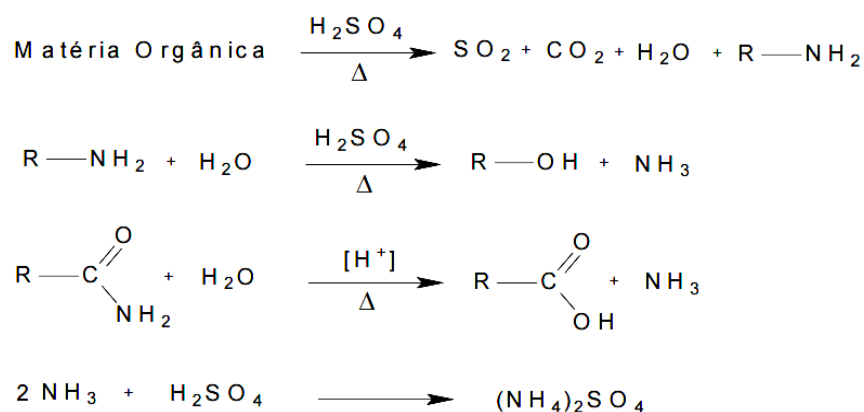
Produtividade de grãos

A produtividade foi determinada após a colheita de todas as plantas da área útil (9 m²) de cada parcela. Para isso, foi estimada, inicialmente, a umidade dos grãos pelo método de estufa a 105°C, cujas amostras de trabalho consistiram de 50 g de sementes inteiras, colocadas para secar por 24 horas. Depois disso, as amostras foram pesadas em balança semi-analítica e os valores obtidos foram ajustados para 13% de umidade (BRASIL, 2009).

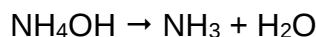
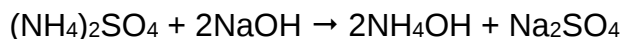
Concentração e acúmulo de nitrogênio e proteína bruta nos grãos

O procedimento para determinar a concentração de nitrogênio e de proteína bruta nos grãos foi realizado de acordo com Malavolta et al. (1997). Esta metodologia possibilita a determinação indireta do nitrogênio em plantas, permitindo avaliar seu estado nutricional (NOGUEIRA e SOUZA, 2005), sendo constituída de três etapas, a saber:

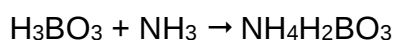
A digestão corresponde à oxidação da matéria orgânica, em que o carbono contido nesta é liberado na forma de dióxido de carbono. Depois disso, o nitrogênio que se encontra na forma de aminas, amidas, além do proteico é transformado em amônia, reagindo com o ácido sulfúrico para formar sulfato de amônio (GALVANI e GAERTNER, 2006), conforme as seguintes reações:



Depois disso, procede-se à destilação, em que o sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio 40%, causando a liberação de amônia, conforme as seguintes reações:



A amônia resultante da reação é recolhida em um frasco contendo ácido bórico e uma solução indicadora. O processo termina quando há a formação de borato de amônio, onde é observada mudança na coloração da solução de rósea para azulada, de acordo com a seguinte reação:



A última etapa do processo corresponde à titulação, a qual é feita com a adição do borato de amônio com uma solução padrão de ácido sulfúrico, de título conhecido, até a viragem do indicador, de acordo com a reação:



O nitrogênio total é determinado por meio da seguinte expressão:

$$N = \frac{\text{mL de ácido sulfúrico} \times 1,4 \times N \text{ ácido}}{\text{peso da amostra}}$$

Em que: mL de ácido sulfúrico corresponde à quantidade em de ácido utilizada para a titulação da amostra; 1,4 corresponde à massa molecular do nitrogênio; e N corresponde à normalidade do ácido utilizado na titulação. Para a proteína bruta, multiplicou-se os valores obtidos por um fator de correção igual a 6,25 (MALAVOLTA et al., 1997).

Para se determinar o acúmulo de nitrogênio nos grãos, foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{Ác. N grãos} = \frac{\text{Prod.} \times \text{V. titulado}}{1000}$$

Onde: Prod. = Produtividade; V. titulado = Valor de ácido usado para titulação;

Análise econômica relativa à inoculação

A análise econômica foi realizada para mensurar o custo da produção utilizando a inoculação das sementes e do fertilizante nitrogenado na cultura do feijão caupi. Considerou-se o valor da saca de 60 kg no comércio local de Rondonópolis-MT em agosto de 2015 (R\$ 200,00 a saca ou R\$ 3,33 o quilo do feijão caupi). Também foi considerado o preço médio do inoculante na região, o qual custava, no mesmo período, R\$ 19,90 o litro, e com base na dose utilizada calculou-se os gastos relativos à inoculação e à adubação nitrogenada, adubações fosfatada e potássica e receitas bruta e líquida.

3.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e para as variáveis altura de plantas, índice de clorofila aos 40 e 60 dias após a semeadura, massa seca da parte aérea, de raízes e total, número e massa seca de nódulos, número de vagens por planta, número de grãos por vagem e comprimento de vagens foram realizados contrastes ortogonais pelo teste de F a 5% de probabilidade.

O uso de contrastes ortogonais possibilita um maior grau de detalhamento na análise de dados, representando uma alternativa eficiente para se estimar os efeitos de interesse (CORRENTE et al., 2001).

Os contrastes utilizados neste estudo corresponderam às comparações: (C1) – Testemunha vs demais tratamentos; (C2) – Adubação nitrogenada vs estirpes; (C3) – estirpes isoladas vs estirpes combinadas; (C4) – MT8+MT15 vs MT8+MT15+MT16, MT8+MT16, e MT15+MT16; (C5) – MT8+MT15+MT16 vs MT8+MT16 e MT15+MT16; (C6) – MT8+MT16 vs MT15+MT16; (C7) – estirpe BR3267 vs estirpes MT8, MT15 e MT16; (C8) – estirpe MT8 vs MT15 e MT16; (C9) – estirpe MT8 vs MT15.

Para as variáveis eficiência relativa das estirpes, acúmulo de nitrogênio nos grãos, concentração de nitrogênio nos grãos, proteína bruta e produtividade de grãos aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tanto a análise de contrastes ortogonais como o teste de Tukey foram realizados no programa SISVAR (FERREIRA, 2011). Realizou-se também análise de

correlação entre as variáveis estudadas com auxílio do programa ASSISTAT, versão 7.7 beta (SILVA e AZEVEDO, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise dos dados por contrastes ortogonais, observou-se que a inoculação combinada das estirpes influenciou positivamente várias das características do feijão caupi. Com exceção do índice de clorofila aos 60 dias após a semeadura, o acúmulo de matéria seca da parte aérea, de raízes e total sofreram influência positiva dos tratamentos com inoculação combinada de estirpes, assim como o número de vagens por planta, a produtividade de grãos e o acúmulo de nitrogênio nos grãos.

As demais características avaliadas não foram influenciadas pelas formas de inoculação nem pela adubação nitrogenada.

4.1 Altura de plantas

A análise dos dados de altura de plantas não mostrou efeito significativo dos tratamentos, independente das formas de inoculação ou da adição de nitrogênio via adubação (Tabela 2).

Tabela 2. Contrastes ortogonais para valores médios de altura de plantas de feijão caupi, submetido à inoculação de rizóbios em solo de Cerrado.

Tratamentos	Médias (cm)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	36,73	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	37,10	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	37,06	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	33,30	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	35,43	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	34,70	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	36,10	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	34,80	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	38,91	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	36,90	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		0,88	3,26	-0,79	-3,66	0,15	0,36	0,23	-0,75	1,30
Pr > F		0,73 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,70 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

A altura das plantas variou de 33,30 cm nas plantas inoculadas com a combinação MT8+MT15 a 38,91 cm nas plantas do tratamento com adubação nitrogenada. A ausência de efeito significativo pode ser atribuída ao fato de as plantas terem sido capazes de absorver o nitrogênio de fontes alternativas à fixação biológica pelas estirpes inoculadas, concordando com os relatos de Neves et al. (1982). Estes autores afirmam que plantas de feijoeiro e de feijão caupi, mesmo noduladas, apresentam duas fontes de nitrogênio, o solo e o fertilizante nitrogenado.

Portanto, as plantas absorveram não só o nitrogênio fornecido pelas estirpes, mas também aquele presente na solução do solo na forma de íons inorgânicos resultantes da mineralização microbiana da matéria orgânica, e isso pode ter influenciado nas respostas da cultura às fontes de nitrogênio testadas. Este fato reforça as colocações de Wirén et al. (1997) de que as plantas podem absorver o nitrogênio do solo, desde que este nutriente encontre-se disponível em formas prontamente assimiláveis.

As contribuições relativas à fixação biológica de nitrogênio, o nitrogênio do solo e do fertilizante nitrogenado sobre o desenvolvimento do feijão caupi foram avaliadas por Brito et al. (2009). Estes autores observaram maior contribuição da fixação biológica. No entanto, ressaltam também ter havido a contribuição do nitrogênio fornecido tanto pelo solo como pelo fertilizante nitrogenado.

Tais observações demonstram que as plantas de feijão caupi são versáteis em termos de aquisição de nitrogênio. Entretanto, a fixação biológica contribui de maneira mais pronunciada no desenvolvimento dessa cultura. Isso porque o feijão caupi apresenta amplo espectro de microssimbiontes associados.

A interação do feijão caupi com estirpes de rizóbios foi demonstrada em um estudo de Xavier et al. (2006). Os autores observaram baixa especificidade hospedeira da cultura em relação a uma única estirpe. Com isso, demonstraram que essa característica resulta, muitas vezes, em poucos nódulos contendo a estirpe introduzida, gerando respostas inconsistentes quanto à inoculação dessa leguminosa.

A adubação nitrogenada não influenciou a altura das plantas, se igualando às formas de inoculação utilizadas. Valadão et al. (2009) observaram efeito significativo em plantas de feijoeiro inoculadas com *Rhizobium tropici* e que receberam adubação nitrogenada. A altura das plantas foi influenciada devido o nitrogênio ter sido

fornecido em uma forma prontamente disponível para as plantas. Este fato possibilitou às plantas assimilarem o nitrogênio diretamente da solução do solo, o que refletiu em altura de plantas equivalentes entre a adição de nitrogênio mineral e a fixação biológica pelas estirpes de rizóbio.

Do mesmo modo, as respostas também podem ter relação com o fornecimento de outros nutrientes, os quais participam do metabolismo vegetal e são também responsáveis pelo crescimento da planta. Schachtman et al. (1998) e Gualter et al. (2008) destacam fósforo e molibdênio, respectivamente, como exemplos de nutrientes que desempenham importante papel na nutrição das plantas, uma vez que compõem enzimas envolvidas no metabolismo vegetal e microbiano, favorecendo assim a simbiose rizóbio-leguminosa.

4.2 Índice de clorofila Falker

A análise por contrastes ortogonais do índice de clorofila Falker aos 40 DAS não detectou efeito significativo em nenhuma das comparações envolvendo os tratamentos inoculados e de adubação nitrogenada (Tabela 3).

Tabela 3. Contrastes ortogonais para valores médios de índice Falker aos 40 dias após a semeadura em plantas de feijão caupi, submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.

Tratamentos	Médias	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	64,48	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	64,68	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	67,14	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	64,06	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	67,42	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	67,19	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	64,53	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	68,00	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	64,51	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	66,99	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		1,21	-1,42	1,69	-1,37	2,56	0,19	1,62	-2,77	-0,23
Pr > F		0,38 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,89 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

De acordo com Wood et al. (1993), pelo menos 70% do N nas folhas está presente nos cloroplastos e participa da síntese e da estrutura da clorofila. Além disso, Argenta et al. (2001) relatam que o índice de clorofila se correlacionado com a concentração de nitrogênio foliar, podendo ser utilizado para avaliar o estado nutricional das plantas.

No entanto, a ausência de efeito significativo pode ser justificada devido à precipitação elevada neste período experimental, a qual pode ter influenciado indiretamente o índice Falker das plantas nesta leitura. Conforme relatam Wortmann et al. (1992), as concentrações de nutrientes nos tecidos vegetais são afetadas por diversos fatores, incluindo estresses ambientais. Deste modo, a umidade elevada pode ter afetado o metabolismo tanto vegetal como microbiano, influenciando a taxa de assimilação líquida das plantas e o crescimento dos micro-organismos.

O estado nutricional do feijão caupi inoculado e submetido a diferentes disponibilidades hídricas foi avaliado por Guimarães et al. (2015a). Estes autores observaram que o índice de clorofila foi influenciado negativamente com o aumento da umidade do solo, e que sob tais condições, a sobrevivência dos rizóbios foi comprometida. Este fato mostra que apesar de as células necessitarem de certa quantidade de água para seu metabolismo, a umidade elevada no solo é desfavorável a sua sobrevivência por interferir nas trocas gasosas com o meio, já que a proporção entre ar e água é inversa no solo (TSAI et al., 1992).

A adubação nitrogenada não influenciou significativamente o índice de clorofila das plantas de feijão caupi na primeira leitura. Isso sugere que até certo período, as plantas apresentam concentrações lineares de nitrogênio nas folhas, a qual se estabiliza a partir de então, tendendo a diminuir no período de enchimento de grãos.

Observações anteriores feitas por Sant'ana et al. (2010) e Bernardes et al. (2014) reforçam o fato de que após certo período, as plantas apresentam baixa resposta à adubação nitrogenada, uma vez que o índice Falker atinge valores máximos em determinada dose de nitrogênio aplicada e não aumentam de modo indefinido.

A segunda leitura Falker, feita aos 60 DAS, demonstrou efeito significativo da comparação C1, cuja maior leitura foi observada na testemunha em relação aos demais tratamentos, com valor de 68,64 e que foi 7,14% maior que a das plantas que receberam adubação nitrogenada. Também foi constatado efeito significativo da

comparação C9, com destaque para a estirpe MT15 em relação à estirpe MT8, cujas plantas apresentaram leitura de 67,04 e incremento de 4,65% em relação ao tratamento com nitrogênio mineral. Não foi encontrado efeito significativo nas demais comparações deste parâmetro (Tabela 4).

Tabela 4. Contrastes ortogonais para valores médios de índice Falker aos 60 dias após a semeadura em plantas de feijão caupi, submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.

Tratamentos	Médias	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	64,86	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	65,78	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	65,65	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	65,54	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	67,04	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	62,23	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	62,49	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	67,16	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	64,06	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	68,64	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		3,66	-1,03	-0,72	0,10	0,33	0,91	3,24	-2,14	-4,81
Pr > F		0,02*	0,49 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,02*

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} e * não significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

Embora sejam esperados decréscimos na taxa fotossintética após o período de florescimento, devido à mobilização do nitrogênio das folhas para os grãos conforme relatam Kulsum et al. (2007), foi observada apenas uma pequena variação dos valores da primeira para a segunda leitura do índice de clorofila Falker. Ainda assim, nos tratamentos em que se observou valores mais elevados neste período de avaliação, a produtividade de grãos também foi elevada.

As plantas do tratamento testemunha podem ter apresentado leitura elevada devido ao baixo porte em relação às plantas de outros tratamentos, pois não foram inoculadas nem receberam adubação nitrogenada. Com isso, possivelmente houve um aumento da concentração de nitrogênio nas folhas dessas plantas, o que refletiu em valores elevados de índice de clorofila Falker. No caso destas plantas, o aporte de nitrogênio pode ter ocorrido pela simbiose formada com rizóbios nativos do solo,

visto que apresentaram nodulação espontânea, indicando a presença dessas bactérias no solo do experimento.

De acordo com Xavier et al. (2006), o feijão caupi apresenta baixa especificidade hospedeira, podendo formar simbiose com diversas espécies de rizóbios. Tal ocorrência também é devida à larga diversidade genética dos rizóbios tropicais, assim como ressaltam Lewin et al. (1987) e Mpeperekí et al. (1996), a qual é responsável por aumentar o espectro de hospedeiros.

Sinclair e Wit (1976) e Salon et al. (2001) ressaltam que para haver a mobilização do nitrogênio para os grãos, o nutriente precisa ser previamente acumulado nas partes vegetativas da planta. Entretanto, devido ao tamanho reduzido das plantas do tratamento testemunha, o nitrogênio foi mantido nas folhas para a manutenção do metabolismo de crescimento e não houve sua mobilização para os grãos, razão pela qual essas plantas apresentaram baixa produtividade.

Por outro lado, as plantas inoculadas com a estirpe MT15 apresentaram índice Falker de 67,04, sendo maior em relação à estirpe MT8 (62,23), indicando eficácia na fixação do nitrogênio atmosférico por essa estirpe. Segundo Kumawat et al. (2000), o teor de clorofila nas folhas é um bom indicador de contribuição da fixação de nitrogênio por rizóbios.

As plantas inoculadas com a estirpe MT15 apresentaram um elevado índice de clorofila neste período de avaliação, tendo também uma alta produtividade de grãos, o que possivelmente esteja relacionado com o consumo de luxo do nitrogênio pelas plantas, embora este tenha sido mobilizado das folhas para os grãos, pois a partir das leituras Falker realizadas foram constatadas quantidades elevadas deste nutriente nas folhas.

De acordo com os relatos de Dwyer et al. (1995), a leitura realizada com o clorofilômetro não é influenciada pelo consumo de luxo das plantas, pois quando em excesso, o nitrogênio é acumulado na forma de nitrato e não participa da composição da clorofila. Portanto, o conteúdo de nitrogênio nas folhas das plantas do tratamento MT15 possibilitou manter uma quantidade relativamente elevada de clorofila nas folhas, suprimindo o metabolismo da planta, enquanto que o nitrato livre pode ter sido utilizado para o enchimento dos grãos, possibilitando elevada produtividade de grãos (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

Na segunda leitura do índice de clorofila não foi observado efeito significativo da adubação nitrogenada. Esses resultados demonstram a eficácia das estirpes em se associarem com o feijão caupi, fornecendo quantidades adequadas de nitrogênio para a cultura e contribuindo para valores de índice de clorofila similares aos observados em plantas adubadas com nitrogênio.

Este efeito foi demonstrado anteriormente por Frigo et al. (2014). Estes autores avaliaram o efeito da inoculação de rizóbios sobre as características produtivas do feijão caupi e observaram maior índice de clorofila nas plantas da adubação nitrogenada, cuja leitura foi de 54,58, a qual se diferiu apenas da estirpe BR3267, mas não das demais estirpes inoculadas. Esse resultado mostra que as estirpes podem suprir o requerimento nutricional das plantas de feijão caupi, assim como a adição de fertilizante nitrogenado, de modo que a adubação nitrogenada pode ser substituída pela inoculação de rizóbios.

4.3 Acúmulo de matéria seca

4.3.1 Matéria seca da parte aérea

A análise dos dados de matéria seca da parte aérea mostraram efeito significativo no contraste C5, destacando-se a combinação MT8+MT15+MT16 em relação às combinações MT8+MT16 e MT15+MT16, cujo valor obtido foi de 19,22 g planta⁻¹ e que correspondeu a um incremento de 6,42% em relação à matéria seca das plantas do tratamento com adubação nitrogenada. Contudo, não foram detectados efeitos significativos para as demais comparações feitas entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Contrastes ortogonais para valores médios de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.

Tratamentos	Médias (g planta ⁻¹)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	14,53	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	14,87	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	19,22	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	17,52	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	15,22	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	13,76	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	15,00	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	15,63	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	18,06	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	17,01	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		10,83	24,03	-15,14	14,75	47,58	8,23	9,74	5,06	-14,66
Pr > F		0,49 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,01*	0,70 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,49 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} e * para contraste não significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

A utilização de uma combinação tripla entre as estirpes de rizóbio apresentou-se favorável à produção de matéria seca pelas plantas de feijão caupi. As estirpes combinadas MT8+MT15+MT16 proporcionaram aumento na matéria seca das plantas devido à ação conjunta entre essas estirpes, o que favoreceu a disponibilização do nitrogênio e resultou em maior acúmulo nas plantas deste tratamento.

Quanto aos demais tratamentos utilizando combinações de estirpes, MT8+MT15 foi o que mais se aproximou com valor médio de 17,52 g planta⁻¹. Neste tratamento, as plantas apresentaram valores 97% equivalentes aos observados nas plantas que receberam adubação nitrogenada.

Esses resultados reforçam os relatos de Vessey (2004) de que a inoculação de rizóbios apresenta potencial para aumentar a produção de matéria seca pelas plantas. Isso porque a simbiose formada entre as leguminosas e as estirpes de rizóbio minimiza a competição dessas bactérias com outros micro-organismos da rizosfera, já que elas estão abrigadas no interior dos nódulos.

Em adição, Gualter et al. (2008; 2011) acrescentam que quando o nitrogênio é fornecido em quantidades significativas, contribui para um melhor acúmulo de matéria seca. Sendo assim, as plantas inoculadas com a combinação tripla foram as que obtiveram o melhor suprimento de nitrogênio, apresentando acúmulo de matéria seca elevado em relação à inoculação isolada das estirpes e a adubação

nitrogenada. Dessa forma, as combinações de estirpes MT8+MT15+MT16 e MT8+MT15, mostraram esse potencial, se destacando das demais formas de inoculação.

Nas combinações MT15+MT16 e MT8+MT16, os valores de matéria seca da parte aérea das plantas estiveram bem abaixo daqueles encontrados na inoculação tripla, os quais se aproximaram daqueles encontrados com as inoculações de modo isolado das estirpes. Nestes tratamentos observou-se acúmulo de matéria seca estatisticamente semelhante ao da estirpe recomendada para o feijão caupi (BR3267) e ao tratamento com adubação nitrogenada.

Em relação ao tratamento com nitrogênio mineral, esses valores corresponderam a 76,2% para a estirpe MT8, 83% para a estirpe MT16, 84,3% para a estirpe MT15 e a 86% para a estirpe BR3267, comprovando a efetividade das estirpes testadas em formar simbiose com a cultura, o que sugere a possibilidade de utilização como alternativa aos fertilizantes nitrogenados. Além disso, convém ressaltar que embora esses tratamentos não tenham sido significativos, o acúmulo de matéria seca obtido mostra que as estirpes forneceram uma parcela considerável do nitrogênio requerido pelo feijão caupi.

De acordo com Marschner et al. (1996), o nitrogênio provido a partir das raízes é exportado para a parte aérea e contribui para que haja o crescimento da planta, podendo ser fornecido por bactérias fixadoras simbióticas. Além disso, Portes e Araújo (2012) inferem que a distribuição dos fotoassimilados nos órgãos da planta pode variar durante seu crescimento e desenvolvimento. Deste modo, ao formar simbiose com rizóbios, o nitrogênio fixado é transportado para as folhas e fará parte da molécula de clorofila, a qual é responsável pelo processo de fotossíntese e subsequente produção de energia que sustentará o metabolismo da planta.

Gualter et al. (2008) realizaram um estudo em que avaliaram a eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. associada à adubação nitrogenada sobre o desenvolvimento do feijão caupi. Estes autores observaram resultados significativos com inoculação aos 50 dias após a emergência, mas sem adição dos nutrientes, sugerindo que a fixação biológica disponibilizou o nitrogênio em quantidades satisfatórias para as plantas, não havendo influência dos demais nutrientes testados.

Frigo et al. (2014) avaliaram o feijão caupi submetido à inoculação de rizóbios e não observaram diferenças significativas entre os tratamentos testados, reportando valor médio de 63,82 g para o tratamento com adubação nitrogenada e 47,74 g para o tratamento testemunha. Guimarães et al. (2015b) avaliaram o efeito da inoculação de rizóbios recomendados para feijão guandu sobre o desenvolvimento do feijão caupi e não encontraram diferenças significativas entre a inoculação e a adubação nitrogenada.

Essas observações possibilitam inferir que tanto a inoculação com rizóbios como a adubação nitrogenada apresentaram-se equivalentes nessa cultura. Deste modo, pode-se optar pela alternativa menos danosa para o meio ambiente e que permita a produção com menor custo associado.

4.3.2 Matéria seca de raízes

A análise por contrastes ortogonais da massa seca de raízes detectou efeito significativo da comparação C5, com destaque para a combinação MT8+MT15+MT16 em relação às combinações MT8+MT16 e MT15+MT16, cujas plantas apresentaram 1,94 g planta⁻¹, sendo o incremento de 8,37% em relação ao tratamento com adubação nitrogenada. Não foi detectado efeito significativo nas demais comparações quanto a este parâmetro (Tabela 6).

Tabela 6. Contrastes ortogonais para valores médios de massa seca de raízes do feijão caupi, submetido à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.

Tratamentos	Médias (g planta ⁻¹)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	1,49	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	1,47	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	1,94	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	1,72	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	1,59	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	1,43	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	1,60	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	1,57	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	1,79	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	1,79	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		1,62	1,84	-1,09	0,79	4,59	-0,20	0,24	0,93	-1,51
Pr > F		0,26 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,01*	0,91 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,43 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} e * para contraste não significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

Novamente, a inoculação tripla das estirpes MT8+MT15+MT16 proporcionou elevado acúmulo de matéria seca. Neste caso, as raízes aumentaram a quantidade de matéria seca produzida devido o nitrogênio provido pelas estirpes e que foi incorporado à parte aérea, possibilitando seu crescimento e assim maior fotossíntese, o que resultou em maior produção de raízes pelas plantas de feijão caupi.

De acordo com Bredemeier e Mundstock (2000), as raízes necessitam dos carboidratos produzidos nas folhas para a produção de energia e esqueletos de carbono que são, posteriormente, incorporados em aminoácidos. Sendo assim, parte aérea e raízes interagem entre si de modo que o fornecimento de nitrogênio vem influenciar na fotossíntese das plantas, e com isso, no crescimento radicular, conforme é relatado por Piazzetta et al. (2014).

Valores próximos foram observados, mas não significativos, nos tratamentos de adubação nitrogenada ($1,79 \text{ g planta}^{-1}$) e naquele com a inoculação combinada das estirpes MT8+MT15 ($1,72 \text{ g planta}^{-1}$). Esses valores mostram que a inoculação combinada de estirpes de rizóbio é favorável à produção de matéria seca radicular em plantas de feijão caupi, permitindo substituir o uso do fertilizante nitrogenada.

Para os tratamentos com inoculação isolada das estirpes, o resultado estatisticamente similar ao da estirpe comercial (BR3267) e da adubação nitrogenada reforça o fato de essas estirpes formarem simbiose efetiva com as plantas de feijão caupi e de fornecerem nitrogênio para a cultura.

Com valores abaixo daqueles encontrados no tratamento utilizando a combinação tripla das estirpes, os tratamentos MT15 e MT16 mostraram-se capazes de promover o crescimento das plantas, visto que a matéria seca de raízes nesses tratamentos foram de $1,59 \text{ g planta}^{-1}$ e $1,60 \text{ g planta}^{-1}$, correspondendo a cerca de 88 e 89% dos valores observados na adubação nitrogenada, respectivamente.

Segundo Neves et al. (1982), como o feijão caupi é uma leguminosa de clima tropical, produz ureídeos como principais produtos da fixação biológica de nitrogênio. Sawazaki et al. (1987) explicam que este fato está ligado ao menor gasto de energia do processo assimilatório, pois o nitrogênio transportado na forma de

ureídeos é menos dispendioso para a planta que aquele transportado na forma de íons inorgânicos como nitrato e amônio.

Guedes et al. (2010) avaliaram a eficiência de inoculantes em feijão caupi, comparado aos do fertilizante nitrogenado e relataram diferença não significativa entre os tratamentos. Essa resposta demonstra que a inoculação de estirpes de rizóbio em feijão caupi pode substituir a adubação nitrogenada, visto que a disponibilização do nitrogênio ocorre de maneira satisfatória para o crescimento das plantas.

O efeito de diferentes métodos de inoculação de rizóbios e cultivares de feijão fava foi avaliado por Far et al. (2014). No estudo, os autores observaram que na cultivar Barekat houve incremento de 14% na massa seca de raízes quando comparada aos tratamentos não inoculados.

4.3.3 Matéria seca total

Para a massa seca total, resposta similar também foi observada, destacando-se a combinação MT8+MT15+MT16 comparada às combinações MT8+MT16 e MT15+MT16, cujas plantas apresentaram 21,37 g planta⁻¹ e incremento de 6,6% em relação ao tratamento com adubação nitrogenada. Não foi detectado efeito significativo nas demais comparações entre os tratamentos para este parâmetro (Tabela 7).

Tabela 7. Contrastes ortogonais para valores médios de massa seca total de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação de rizóbios em solo do Cerrado.

Tratamentos	Médias (g planta ⁻¹)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	15,75	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	16,55	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	21,37	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	19,44	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	17,01	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	15,39	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	16,80	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	17,40	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	20,05	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	19,03	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		12,45	25,87	-16,23	15,55	52,18	8,03	9,99	6,00	-16,18
Pr > F		0,26 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,01*	0,91 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,43 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 –

(MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} e * para contraste não significativo e significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

Assim como houve maior produção de matéria seca de parte aérea e de raízes no tratamento envolvendo a combinação tripla das estirpes MT8+MT15+MT16, a massa seca total também foi maior nessas plantas. Os demais tratamentos combinados apresentaram menores valores de matéria seca total, sem efeito significativo sobre este parâmetro. Contudo, no tratamento MT8+MT15, as plantas apresentaram valor médio de 19,44 g planta⁻¹, correspondendo a 97% dos valores encontrados na adubação nitrogenada e aproximando-se daqueles encontrados com a inoculação tripla MT8+MT15+MT16.

A resposta observada com a inoculação combinada das estirpes sugere uma possível compatibilidade existente entre elas, de modo que isso tenha favorecido a produção de matéria seca pelas plantas de feijão caupi. De acordo com Trabelsi e Mhamdi (2013), o aumento da diversidade microbiana no inoculante quando as estirpes são inoculadas de forma combinada, aumentam as chances de sucesso da inoculação. A interação entre as bactérias na inoculação tripla, e dessas com as plantas de feijão caupi, possibilitou melhor suprimento de nitrogênio para as plantas.

Efeito não significativo da inoculação isolada foi demonstrado em um estudo realizado por Maingi et al. (2001) na região Sudeste do Kenia. Estes autores relataram que o feijoeiro não respondeu, em termos de produção de matéria seca total, à inoculação isolada da estirpe 446, justificando, no entanto, que pode ter ocorrido aquisição de nitrogênio pela cultura a partir da solução do solo.

Entretanto, alguns fatores bióticos podem interferir no sucesso da inoculação quando realizada de modo isolado, sobretudo a competição com outras estirpes de rizóbio do solo. Segundo Raposeiras et al. (2006), essas estirpes são geralmente mais competitivas, embora sejam menos eficientes em fixar nitrogênio atmosférico.

Um experimento para se avaliar os efeitos da inoculação de rizóbios em diferentes cultivares de feijão caupi foi realizado por Chagas Junior et al. (2010a) na região Sul do Tocantins. Esses autores observaram, na cultivar Nova Era que não houve diferenças significativas com a inoculação das estirpes BR3302, BR3301 e BR3262 sobre a matéria seca total das plantas. Portanto, um inoculante que

contenha mais de uma estirpe pode minimizar esses efeitos e aumentar as chances de sucesso da inoculação.

Na adubação nitrogenada não foi observado efeito significativo sobre a matéria seca total das plantas de feijão caupi, cujos valores foram de 20,05 g planta⁻¹. De acordo com Li et al. (1999) o nitrogênio pode aumentar a taxa fotossintética das plantas, promovendo um maior desenvolvimento radicular e subsequente absorção de nutrientes.

Porém, os valores observados na adubação nitrogenada ficaram abaixo dos encontrados com a inoculação combinada MT8+MT15+MT16. Isso mostra que embora o nitrogênio tenha sido fornecido em uma forma prontamente disponível para absorção pelas plantas, a simbiose leguminosa-rizóbios apresenta menos perdas, sendo o nitrogênio melhor aproveitado pela cultura.

4.4. Eficiência relativa das estirpes

As formas de inoculação não se diferiram estatisticamente entre si, da estirpe recomendada para o feijão caupi BR3267, nem da adubação nitrogenada, com valores que variaram de 76 a 102,8% (Figura 3).

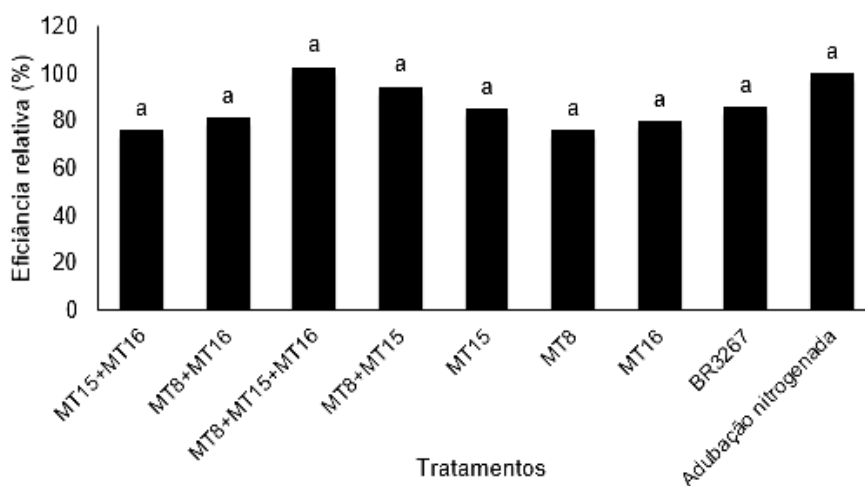


Figura 3. Eficiência relativa das estirpes de rizóbio inoculadas em feijão caupi em solo de Cerrado. Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A eficiência relativa mede o grau de contribuição dos tratamentos inoculados em relação ao tratamento de adubação nitrogenada. Observou-se que as estirpes

testadas MT8, MT15 e MT16 podem substituir a adubação nitrogenada, uma vez que ambas as formas de inoculação foram estatisticamente similares entre si e entre o tratamento com adição de nitrogênio mineral. Contudo, a combinação MT8+MT15+MT16 apresentou valor de eficiência relativa de 102%, seguida pela combinação MT8+MT15 cuja eficiência relativa apresentada foi de 94,4%, ambos em relação aos valores da adubação nitrogenada (100%).

A igualdade entre as formas de inoculação e o tratamento utilizando nitrogênio mineral indica um alto potencial destas estirpes para serem recomendadas como inoculantes do feijão caupi, podendo substituir o uso de fertilizantes nitrogenados nessa cultura.

Os valores observados nas combinações MT8+MT15+MT16 e MT8+MT15 podem ser considerados representativos, estando de acordo com as observações de Soares et al. (2006b) e Almeida et al. (2010). Esses autores constataram que embora não tenha havido diferenças significativas, a eficiência relativa apresentada pelas estirpes ficou próxima da eficiência do fertilizante nitrogenado. Com isso, esses autores mostraram que as estirpes apresentaram um potencial de fixação biológica de nitrogênio comparável com o nitrogênio fornecido às plantas pela adubação nitrogenada, podendo substituí-la.

A atuação conjunta das estirpes na combinação MT8+MT15+MT16 proporcionou os maiores acúmulos de matéria seca vegetal, tendo dessa forma contribuído de maneira efetiva para o crescimento das plantas. A eficiência relativa obtida neste tratamento, embora não tenha havido diferenças significativas entre as formas de inoculação nem adubação nitrogenada, apresentou valor elevado, podendo ser utilizada na inoculação do feijão caupi.

A eficiência simbiótica de isolados de rizóbio em plantas de feijão caupi foi avaliada por Chagas Junior et al. (2010b). Estes autores observaram que os isolados que proporcionaram maiores acúmulos de matéria seca na parte aérea e de raízes foram também os que apresentaram maiores valores de eficiência relativa, embora não se diferiram estatisticamente do tratamento com adubação nitrogenada.

4.5 Nodulação

4.5.1 Número de nódulos por planta

A análise por contrastes ortogonais do número de nódulos não mostrou efeito significativo em nenhuma das comparações envolvendo os tratamentos com inoculação das estirpes de rizóbio nem de adubação nitrogenada (Tabela 8).

Tabela 8. Contrastes ortogonais para o número médio de nódulos em plantas de feijão caupi inoculadas com estirpes de rizóbio em solo de Cerrado.

Tratamentos	Médias	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	28,53	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	33,52	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	31,43	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	23,43	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	20,70	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	27,73	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	20,76	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	28,23	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	24,63	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	30,43	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		38,77	-21,62	-48,75	-77,33	4,00	50,00	51,66	-34,50	70,33
Pr > F		0,44 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,30 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

O número de nódulos variou de 20,76 nódulos planta⁻¹ no tratamento MT16 a 33,52 nódulos planta⁻¹ no tratamento combinado MT8+MT16. Foi observada nodulação nas plantas do tratamento testemunha, sugerindo haverem rizóbios nativos no solo experimental, sendo contabilizados, neste tratamento, cerca de 30,43 nódulos planta⁻¹.

A nodulação por estirpes nativas de rizóbio frequentemente compromete a nodulação do feijão caupi devido a ampla gama de microssimbiontes associados a essa cultura. Já foi demonstrada nodulação similar entre plantas inoculadas e não inoculadas, em estudos de Raposeiras et al. (2006) e Pelegrin et al. (2009). Estes autores constataram, em feijoeiro, a formação de nódulos nas plantas do tratamento testemunha, sugerindo a ocorrência de rizóbios nativas no solo dos locais onde foram conduzidos tais experimentos.

Um estudo para se avaliar a contribuição de estirpes de rizóbio sobre o rendimento de cultivares de feijão caupi foi conduzido por Marinho et al. (2014). No entanto, não foram observadas diferenças significativas na nodulação das cultivares BRS Acauã, BRS Carijó e BRS Tapaihum. Este fato reforça os relatos de Neves e Rumjanek (1997) de que culturas como o feijão caupi e o feijoeiro podem formar simbiose com muitas espécies de rizóbio, sendo este evento de ocorrência generalizada em leguminosas tropicais.

Ao mesmo tempo, Montealegre e Graham (1996) afirmam que a presença numerosa de rizóbios estabelecidos no solo é outra causa de limitação para a inoculação do feijão caupi. Embora as formas de inoculação contivessem uma concentração adequada de células e estivessem livres de contaminação conforme é sugerido por Campo e Hungria (2007), o fato de não ter havido diferenças significativas na nodulação do feijão caupi sugere essa competitividade pela formação de nódulos das estirpes do solo com aquelas introduzidas via inoculação.

Observação similar foi feita por Xavier et al. (2006). Estes autores relataram que mesmo com a concentração adequada de células no inoculante, algumas estirpes de rizóbio não apresentaram efeito significativo sobre a nodulação do feijão caupi em relação aos tratamentos não inoculados.

Essas observações vão de encontro com as de Brown e Ahmad (1996) de que em solos tropicais, os rizóbios nativos são mais promíscuos e competitivos pela formação dos nódulos. Dessa forma, a proporção de nódulos contendo a estirpe introduzida torna-se menor, conforme sugerem Tilak et al. (2006). Tanto essa como outras limitações são responsáveis por interferir nas respostas das leguminosas a inoculação, visto que requer das estirpes de rizóbio características que favoreçam sua persistência no solo frente a estresses bióticos e abióticos.

Foi postulado por Kremer e Peterson (1983), e mais recentemente confirmado por Chemining'wa et al. (2011) que o processo de nodulação depende da adaptabilidade e persistência das estirpes de rizóbio quando aplicadas ao solo, visto que estas interagem com oscilações de pH, temperatura, umidade, além do próprio tipo de solo, podendo estes fatores influenciar diretamente sobre a inoculação. Com isso, uma boa nodulação carece não só da especificidade entre planta e bactéria, mas das estirpes suportarem tais alterações edafoclimáticas das regiões onde são utilizadas.

Todavia, já foi constatada a influência positiva da adaptabilidade e persistência das estirpes de rizóbios no solo. Soares et al. (2006a) observaram diferenças significativas na nodulação em feijão caupi, atribuindo a maior número de nódulos às estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11B, com médias de 31,17 e 31,10 nódulos planta⁻¹, respectivamente. Esse resultado mostra que as estirpes foram capazes de competir com a população nativa e de se adaptarem às condições edafoclimáticas do local do estudo, proporcionando nodulação eficiente da cultura.

Quanto ao tratamento com adubação nitrogenada, foi constatada a formação de nódulos, indicando que o nitrogênio fornecido às plantas não foi suficiente para inibir a nodulação do feijão caupi, onde foram contabilizados uma média de 24,63 nódulos planta⁻¹, corroborando as respostas encontradas por Silva et al. (1993) na cultura do feijoeiro. Esses autores observaram que a aplicação de nitrogênio não causou efeito inibitório sobre a nodulação da cultura.

Frequentemente é relatada uma diminuição no número de nódulos em função da aplicação de nitrogênio mineral, mas alguns estudos apresentaram resultados opostos ao que se acredita ocorrer. Em feijão caupi, Lacerda et al. (2004) observaram que a nodulação pelas estirpes de rizóbio não foi inibida pela aplicação de 70 kg ha⁻¹ de nitrogênio na forma de ureia, cuja média nessas plantas foi de 11 nódulos planta⁻¹. Da mesma forma, Almeida et al. (2010) observaram nodulação estatisticamente similar entre as estirpes BR3267, BR3262 e a adubação nitrogeada na dose de 80 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia, reportando 26,28 nódulos planta⁻¹ no tratamento com N mineral.

Esses estudos demonstraram que o feijão caupi se beneficiou do nitrogênio mineral aplicado ao solo e da inoculação das estirpes de rizóbio, sugerindo efeito conjunto desses tratamentos sobre a nodulação dessa cultura, assim como já foi demonstrado em feijoeiro por Tsai et al. (1993). Portanto, dessa forma, comprova-se as proposições de Neves et al. (1982) de que o feijão caupi pode obter o nitrogênio de outras fontes mesmo quando nodulado.

4.5.2 Massa seca de nódulos

A análise por contrastes ortogonais da massa seca de nódulos mostrou não haver efeito significativo em nenhuma das comparações envolvendo os tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9. Contrastes para valores médios de massa seca de nódulos de plantas de feijão caupi submetidas à inoculação combinada de rizóbios em área de Cerrado.

Tratamentos	Médias (g planta ⁻¹)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	0,93	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	1,16	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	0,96	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	0,66	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	0,53	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	1,03	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	0,66	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	0,76	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	0,63	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	1,00	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		0,18	-0,20	-0,18	-0,35	-0,08	0,23	0,02	-0,11	0,50
Pr > F		0,42 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,11 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

A combinação MT8+MT16 apresentou um percentual de variação correspondente a 84,12% e a estirpe MT8 de 63,5%, ambos em relação ao tratamento com adubação nitrogenada. No tratamento testemunha, este percentual correspondeu a 58,7%.

A diferença não significativa entre os tratamentos deveu-se, provavelmente, ao tamanho diversificado dos nódulos em um mesmo tratamento. Com base nisso, pode-se inferir que os tratamentos MT8+MT16, MT8 e testemunha apresentaram nódulos maiores em relação aos demais tratamentos. Também pode-se dizer que os rizóbios nativos do solo apresentaram boa nodulação, tendo influenciado a massa seca nodular do tratamento testemunha.

Segundo Paffetti et al. (1998), a ocupação nodular pelos rizóbios e a seletividade simbiótica da cultivar também podem interferir neste parâmetro, sendo esta última o principal fator de modificação das população de rizóbios do solo. Portanto, a presença

de rizóbios compatíveis no solo onde é cultivado o feijão caupi implica em maior competição pela formação de nódulos, podendo comprometer a inoculação.

Foi demonstrado anteriormente por Thies et al. (1991b) que o feijão caupi apresenta um alto grau de compartilhamento de rizóbios com outras leguminosas, o que interfere no processo de nodulação dessa cultura. O mesmo é válido para o feijoeiro, conforme ressaltam Vargas et al. (2000). Estes autores afirmam que a maioria dos solos onde essa cultura é cultivada contém rizóbios nativos que podem interferir no processo de nodulação.

A resposta do feijoeiro à inoculação de rizóbios foi testada em duas áreas por Fonseca et al. (2013). Estes autores não observaram diferenças significativas nos valores de massa seca de nódulos entre os tratamentos. Entretanto, houve diferença significativa neste parâmetro entre as áreas, sendo que Uberaba apresentou maiores valores de massa seca de nódulos que Patos de Minas.

As observações de Rebechini et al. (2014) mostraram que a inoculação de *Rhizobium tropici* em feijoeiro não influenciou a massa seca dos nódulos na região de Florestópolis, Paraná. Contudo, entre cultivares, Bhuiyan e Mian (2007) observaram influência positiva da inoculação de rizóbios sobre a massa seca de nódulos, sendo que as cultivares de feijão mungo BARI Mung-2 (0,019 g planta⁻¹) e BARI Mung-4 (0,02 g planta⁻¹) foram superiores em relação à cultivar Barisal Local.

Aspectos como o ciclo da cultura e o tempo de resposta à nodulação devem ser considerados, sendo que genótipos de ciclo longo e maturação tardia são mais eficientes na fixação de nitrogênio em relação aos de ciclo curto com maturação precoce, de acordo com observações iniciais de Graham (1981), e posteriormente de Deka et al. (2006). Em feijoeiro, por exemplo, Araújo et al. (1996) propuseram a ocorrência de nodulação tardia, sendo observada entre 15 a 20 dias após a semeadura.

4.6 Componentes de rendimento

4.6.1 Número de vagens por planta

A análise por contrastes ortogonais do número de vagens por planta detectou efeito significativo da comparação C4, com destaque para a combinação MT8+MT15

em relação às combinações MT8+MT15+MT16, MT8+MT16 e MT15+MT16, cujas plantas apresentaram média de 6,23 vagens e incremento de 33,7% em relação às plantas com adubação nitrogenada. Também foi observado efeito significativo na comparação C9, destacando-se a estirpe MT15 em relação à estirpe MT8, com plantas que apresentaram 5,36 vagens e incremento de 15% em relação ao tratamento com nitrogênio mineral (Tabela 10).

Tabela 10. Contrastes ortogonais para o número médio de vagens por planta em feijão caupi inoculado com rizóbios e cultivado em solo de Cerrado.

Tratamentos	Médias	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	4,13	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	4,93	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	4,23	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	6,23	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	5,36	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	3,80	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	4,53	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	4,53	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	4,66	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	4,66	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		-0,04	-0,05	-0,32	1,80	-0,30	0,80	-0,03	-0,05	-1,56
Pr > F		0,92 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,00**	0,63 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,04*

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns}, ** e * para contraste não significativo, significativo a 1% e a 5% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente.

A inoculação da estirpe MT15 e das estirpes combinadas MT8+MT15 proporcionaram incrementos no número de vagens por planta em relação ao uso do fertilizante nitrogenado. Este componente de rendimento é crucial, pois um maior número de vagens pode resultar em maiores produtividades de grãos.

De fato, este efeito foi observado nestes tratamentos, os quais apresentaram produtividade de grãos elevada. A FBN realizada pelas estirpes de rizóbio foi responsável, neste caso, por melhorar o desenvolvimento das plantas, o que propiciou maiores taxas de fotossíntese e resultou em mais vagens. Isso reforça os resultados encontrados anteriormente por Brito et al. (2009), onde os autores observaram que a fixação biológica de nitrogênio contribuiu para o maior acúmulo deste nutriente em plantas de feijão caupi, sendo que as maiores taxas de N fixado ocorreram no período de pré-florescimento.

Isso torna a FBN crucial neste período do ciclo, pois é quando ocorrem as maiores taxas de assimilação de CO₂, e assim uma elevada taxa de fecundação, resultando em maior produção de vagens (PIMENTEL e HÉBERT, 1999; PIMENTEL et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2012).

Em outro estudo, também com feijão caupi, Stephanie et al. (2015) mostraram que a inoculação de rizóbios influenciou positivamente a formação de flores pela cultura, o que refletiu em plantas com mais vagens em relação às plantas que não foram inoculadas. Este fato reforça que um fornecimento adequado de nitrogênio pelas estirpes pode aumentar a produção de vagens, refletindo em ganhos de produtividade em campo.

De acordo com Lippi et al. (1999) e Soratto et al. (2006), o período de desenvolvimento das vagens, assim como o de enchimento de grãos, requer maior disponibilidade de nitrogênio para a planta.

As contribuições relativas à FBN sobre o número de vagens por planta em plantas de feijão caupi já foram verificadas nos estudos de Nyoki e Ndakidemi (2013), em que os autores observaram incremento de 13,3% no número de vagens por planta, assim como Costa et al. (2014) que reportaram incremento de 45,4%, ambos em relação ao tratamento com adubação nitrogenada.

Os relatos de sucesso da inoculação refletem a efetividade na simbiose entre o feijão caupi e as estirpes de rizóbio, uma vez que quando bem nodulada, essa cultura pode obter um adequado suprimento de nitrogênio (MARTINS et al., 2003; SOARES et al., 2006a). Contrariamente, os insucessos se relacionam a fatores como a população microbiana, acidez e umidade do solo, além da disponibilidade de nutrientes, podendo interferir no processo simbiótico e influenciar o crescimento e a sobrevivência da planta e da bactéria (MOHAMMADI et al., 2012; TALEBPOUR et al., 2015).

A adubação nitrogenada não influenciou significativamente o número de vagens, apresentado uma média de 4,66 vagens planta⁻¹. Perdas de nitrogênio frequentemente limitam sua eficácia, sobretudo a da ureia, já que este é o principal fertilizante nitrogenado utilizado na agricultura brasileira. Nas condições edafoclimáticas tropicais, como no Cerrado, as perdas podem ser intensificadas, devendo serem consideradas a dose aplicada, bem como o período fenológico de aplicação, conforme reçaltam Meirelles et al. (1980).

Diversos estudos reforçam essas afirmações, visto que mostraram não haver diferenças significativas para a aplicação de nitrogênio mineral sobre o número de vagens por planta, sendo relatado por Meira et al. (2005) e Farinelli et al. (2006) na cultura do feijoeiro, e por Almeida et al. (2010) e Martins et al. (2013) em feijão caupi.

Essas observações discordam daquelas feitas por Silva et al. (2009b), em que os autores relacionaram o aumento no número de vagens à maior produção de ramos reprodutivos, e isso, à aplicação de doses de nitrogênio. Em um estudo com feijão caupi, Azarpour et al. (2011) observaram respostas significativas com a aplicação da dose de 45 kg ha⁻¹ de ureia. Provavelmente, o uso eficiente do nitrogênio pelas plantas propiciou tais respostas, sendo que os fatores relacionados a perdas e característicos do local de condução do experimento, tiveram menor impacto sobre a eficiência do fertilizante. Isso comprova a influência positiva da adubação nitrogenada sobre o número de vagens, segundo Fornasieri Filho et al. (2007).

4.6.2 Comprimento das vagens

A análise por contrastes ortogonais do comprimento das vagens não detectou efeito significativo entre os tratamentos, demonstrando que este componente de rendimento não foi afetado pelas formas de inoculação nem pela adubação nitrogenada (Tabela 11).

Tabela 11. Contrastes ortogonais para o comprimento médio das vagens de plantas de feijão caupi, submetido à inoculação combinada de rizóbios em solo de Cerrado.

Tratamentos	Médias (cm)	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	20,55	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	21,04	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	20,21	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	20,43	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	20,62	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	21,39	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	20,77	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	21,43	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	20,25	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	20,56	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		-0,33	-0,53	0,45	-0,17	-0,58	0,49	0,55	-0,14	0,60
<i>Pr</i> > F		0,53 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,39 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

O efeito observado neste estudo pode ter relação com o fato de o comprimento das vagens do feijão caupi ser uma característica geneticamente determinada pela planta, assim como demonstrado por Ogunbodede e Fatula (1985) e mais recentemente por Vavilapalli et al. (2013). Em outros estudos com leguminosas também foi reportada essa evidência (ANDERSON et al., 1993; OLIVEIRA et al., 2001; MULUALEM et al., 2013; DUGASSA et al., 2014).

Já foram demonstrados efeitos similares relacionados à inoculação de rizóbios e adubação nitrogenada do feijão caupi em trabalhos conduzidos por Araújo et al. (2007), Almeida et al. (2010) e Martins et al. (2013). Em todos estes estudos as fontes de nitrogênio não influenciaram o comprimento das vagens, reforçando a influência da genética das plantas no controle desta característica.

As observações feitas por Alcantara et al. (2014) corroboram os resultados observados para este caractere. Estes autores não encontraram resposta significativa da inoculação de rizóbios nem da adubação nitrogenada no feijão caupi, mas observaram que a cultivar Alagoano produziu vagens 32% maiores em comparação às da cultivar BRS Guariba.

Entretanto, embora tenham sido reportadas repostas não significativas, o fornecimento de nitrogênio afeta diretamente este componente de rendimento. De acordo com Andrews et al. (1999) e Deshmukh et al. (2011), a oferta limitada deste nutriente restringe a produção de parte aérea, o que, conseqüentemente, compromete a formação das vagens, a qual depende da mobilização de produtos fotossintéticos das partes vegetativas durante o estágio reprodutivo da cultura.

Neste caso, segundo Martins et al. (2003), uma simbiose leguminosa-rizóbio eficiente pode garantir um adequado suprimento de nitrogênio para a planta, sendo essencial durante o desenvolvimento das vagens, pois é quando este nutriente é mais requerido. Em adição, Ohyama et al. (1981) e Fischinger e Schulze, (2010) ressaltam que neste período e no de enchimento de grãos, a fixação biológica de

nitrogênio é mais intensa, tornando o nitrogênio provido a partir dos nódulos mais favorável à formação das vagens.

Efeito significativo foi encontrado por Ahmed et al. (2007) sobre o comprimento de vagens de ervilha, tendo sido atribuído à inoculação a estirpe BARI RPs-2002, de *Rhizobium* sp., onde os autores observaram vagens 11% maiores em relação ao tratamento com adubação nitrogenada. Essas respostas podem estar relacionadas à especificidade simbiótica entre a planta e a bactéria e com fatores ambientais favoráveis ao desenvolvimento da simbiose, conforme relatam Hungria e Vargas (2000) e Fauvart e Michiels (2008).

Já a adubação nitrogenada não afetou o comprimento das vagens de feijão caupi neste estudo (Tabela 11), concordando com os resultados de Araújo et al. (2007) e de Beshir et al. (2015), onde foram aplicado 100 kg ha⁻¹ de nitrogênio nas culturas do feijoeiro e feijão verde, respectivamente. Esses resultados demonstram que embora o nitrogênio tenha sido fornecido para as plantas, pode ter ocorrido a interferência de outras fontes deste nutriente.

Mesmo com a disponibilização do nitrogênio, Camargo et al. (1997) afirmam que a mineralização deste nutriente a partir da matéria orgânica pode liberar quantidades significativas deste nutriente e, dessa forma, afetar as respostas das culturas à adubação nitrogenada, conforme demonstrado em estudos de Gaskell e Smith (2007) e Otieno et al. (2007).

Contudo, estudos também mostraram que a adubação nitrogenada pode influenciar o comprimento das vagens. Este efeito foi encontrado por Azarpour et al. (2011), em que a aplicação de 45 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia possibilitou obter vagens de 21,32 cm. De modo similar, Farahvash e Mirshekari (2011) avaliaram o efeito da aplicação de biofertilizante e fertilizante nitrogenado sobre a nutrição do feijão caupi e encontraram comprimento máximo das vagens na dose de 52 kg ha⁻¹ de ureia.

Esses trabalhos demonstraram a importância da adubação nitrogenada em regiões com solos de baixa fertilidade, além também da relação com a eficiência no uso do nitrogênio pela cultura, uma vez que as condições edafoclimáticas influenciam o uso do fertilizante nitrogenado pelas culturas, sendo ocasionalmente recuperado do solo apenas uma fração do fertilizante aplicado. Estas afirmações são

validadas pelas observações de Bationo e Mokwunye (1991) e de Fageria e Baligar (2005).

4.6.3 Número de grãos por vagem

Na análise por contrastes ortogonais do número de grãos por vagem não foi observado efeito significativo em nenhuma das comparações envolvendo os tratamentos com inoculação das estirpes de rizóbio nem da adubação nitrogenada (Tabela 12).

Tabela 12. Contrastes para o número médio de grãos por vagem em plantas de feijão caupi submetidas à inoculação combinada de rizóbios em solo de Cerrado.

Tratamentos	Médias	Contrastes/coeficientes								
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
MT15+MT16	10,23	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
MT8+MT16	10,03	-1	-1	-1	-1	-1	1	0	0	0
MT8+MT15+MT16	10,10	-1	-1	-1	-1	2	0	0	0	0
MT8+MT15	10,46	-1	-1	-1	3	0	0	0	0	0
MT15	10,63	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	-1
MT8	10,30	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1	1
MT16	10,00	-1	-1	1	0	0	0	-1	2	0
BR3267	10,70	-1	-1	1	0	0	0	3	0	0
70 kg ha ⁻¹	9,36	-1	8	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	10,60	9	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimativas		0,40	-0,93	0,19	0,34	-0,03	-0,20	0,40	-0,45	-0,36
Pr > F		0,55 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,68 ^{ns}

C1 – Testemunha x Demais tratamentos; C2 – Nitrogenado x estirpes; C3 – estirpes isoladas x estirpes combinadas; C4 – (MT8+MT15) x (MT8+MT15+MT16), (MT8+MT16), e (MT15+MT16); C5 – (MT8+MT15+MT16) x (MT8+MT16) e (MT15+MT16); C6 – (MT8+MT16) x (MT15+MT16); C7 – estirpe BR3267 x estirpes MT8, MT15 e MT16; C8 – estirpe MT8 x MT15 e MT16; C9 – estirpe MT8 x MT15.

^{ns} – não significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

O número de grãos por vagem é uma característica de alta herdabilidade genética, estando, deste modo, relacionada à cultivar utilizada, tendo sido demonstrada em estudos de Andrade et al. (1998) e Ajibade e Morakinyo (2000). Estes estudos reforçam que, assim como o comprimento das vagens, o número de grãos por vagem está relacionado ao conteúdo genético da planta.

Contudo, o nitrogênio é essencial para o adequado desenvolvimento vegetal e, além disso, a maior parte do nitrogênio que é remobilizado para o enchimento dos grãos é endógeno, o qual foi previamente acumulado nas partes vegetativas da

planta conforme ressaltam Salon et al. (2001). De acordo com Sinclair e Wit (1976), a taxa de remobilização é dependente do estado nutricional da planta.

Embora o estado nutricional das plantas estivesse numa faixa considerada adequada de acordo com os valores de leitura Falker, a ausência de diferença significativa decorreu do fato de este caractere estar ligado à genética da planta, assim como foi observado por Idahosa et al. (2010) em feijão caupi.

Efeitos similares foram relatados por Araújo et al. (2007) após avaliarem o efeito da inoculação do feijoeiro com estirpes de *Rhizobium tropici* comparada com a aplicação de doses de nitrogênio mineral. Igualmente, Barros et al. (2013) avaliaram a interação entre a inoculação com rizóbios e a adubação nitrogenada no feijoeiro, na época da seca e das águas, e não encontraram efeito significativo, os quais aplicaram uma dose de 44 kg ha⁻¹ de ureia.

De acordo com Alvarez et al. (2005), o feijão apresenta alto requerimento nutricional, sendo o nitrogênio o nutriente mais absorvido por essa cultura, com demanda considerável nos períodos de florescimento e de enchimento de grãos. As estimativas para a FBN são de até 90% do N acumulado em plantas de feijão caupi, tendo sido observada em estudos de Brito et al. (2011).

Em outros trabalhos, foi observado resultado positivo para o número de grãos por vagem, em feijão caupi inoculado com rizóbio, em que Nyoki e Ndakidemi (2013) reportaram incremento da ordem de 11,6%, enquanto Stephanie et al. (2015) de 13,5%, ambos comparando a inoculação com os tratamentos não inoculados.

Quanto à adubação nitrogenada não houve diferenças significativas deste para os demais tratamentos, sugerindo a eficiência das estirpes em fornecer o nitrogênio para a cultura. Esses resultados reforçam a contribuição da FBN como alternativa possível para a substituição total ou parcial do uso do fertilizante nitrogenado, assim como relatado por Martins et al. (2003).

De acordo com Kremer e Peterson (1983), a variação nos resultados provavelmente se deva a diferenças genéticas entre os cultivares utilizadas, das estirpes de rizóbio, além das características peculiares entre as regiões em que cada estudo foi conduzido. Essas afirmações demonstram que tanto as plantas como as estirpes respondem a variações nas características edafoclimáticas locais, o que requer a adaptação de ambas a tais condições. Já Silveira e Damasceno (1993), relatam que a obtenção de resultados positivos mostra a importância do

nitrogênio como um constituinte da clorofila, o qual influencia a fotossíntese e assim a produção de fitomassa pelas plantas.

4.7 Produtividade de grãos

Para a produtividade de grãos, houve efeito significativo da inoculação na forma combinada (MT8+MT15, MT15+MT16 e MT8+MT16) e isolada (MT15, MT16 e BR3267) das estirpes, assim como do tratamento com adubação nitrogenada (70 kg de N ha⁻¹) em relação à testemunha. No entanto, a estirpe MT8 e a combinação MT8+MT15+MT16 não se diferiram dos demais tratamentos (Tabela 13).

Tabela 13. Produtividade de grãos e acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi, em função da inoculação de estirpes de rizóbio em solo de Cerrado.

Tratamentos	Produtividade (kg ha ⁻¹)
MT8+MT15	1388a
MT15+MT16	1354a
MT15	1295a
MT8+MT16	1293a
MT16	1190a
BR3267	1110a
MT8	1005ab
MT8+MT15+MT16	663ab
70 kg ha ⁻¹	1189a
Testemunha	284b
C.V. (%)	18,79

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As produtividades alcançadas com a inoculação das estirpes, independente das formas, mostrou-se favorável à produção do feijão caupi no Cerrado. Esse resultado mostra que as estirpes combinadas possibilitam ao feijão caupi obter sua nutrição nitrogenada a partir da FBN.

O uso de inoculação combinada de rizóbios ainda é insipiente em feijão caupi, mas segundo Martins et al. (2003), representa uma alternativa capaz de melhorar as respostas da cultura em campo. Isso porque atuando de maneira conjunta, as estirpes podem melhorar as respostas da cultura à inoculação e possibilitar produtividades mais elevadas. Tais observações concordam com as de Silva Neto et

al. (2013) de que a capacidade de estabelecer simbiose com rizóbios possibilita ao feijão caupi a obtenção de elevados valores de produtividade sem a necessidade de aplicar fertilizantes nitrogenados.

Este fato demonstra que a inoculação das estirpes combinadas pode substituir o uso de fertilizantes nitrogenados em feijão caupi, uma vez que seu fornecimento de nitrogênio foi equivalente ao daquele tratamento, isso de acordo com os valores de produtividade. De acordo com Askary et al. (2009) micro-organismos simbiontes criam um sistema cujo benefício reside no aumento da FBN. Em adição, Trabelsi e Mhamdi (2013) afirmam que com a combinação de estirpes, a eficácia do processo de inoculação é melhorada, uma vez que se adiciona ao solo diferentes espécies ou estirpes microbianas.

A inoculação da estirpe MT8 proporcionou produtividade 84,5% equivalente àquela obtida nas plantas que receberam adubação nitrogenada, refletindo o potencial dessa estirpe em formar simbiose com o feijão caupi, mas não se diferiu das plantas no tratamento testemunha. Já a combinação MT8+MT15+MT16 apresentou produtividade de grãos equivalente a 55,8% daquela encontrada com a adubação nitrogenada, também não se diferenciando da testemunha.

Para Bothaa et al. (2004), a composição da população microbiana do solo pode afetar o sucesso da inoculação, mas se realizada com frequência, favorece a persistência dos rizóbios nos solos sob cultivo. Segundo Philippot et al. (2013), nos casos em que a inoculação de rizóbios não mostra diferenças significativas em relação ao tratamento testemunha, pode ter havido influência das populações microbianas do solo na competição por nutrientes liberados pelas raízes em crescimento.

Entretanto, respostas significativas da inoculação de rizóbios já foram relatadas por Zilli et al. (2009). Estes autores observaram produtividade máxima superior a 2300 kg ha⁻¹, sendo que o tratamento com inoculação apresentou efeitos estatisticamente semelhantes ao do tratamento adubado com nitrogênio. Este fato mostra que estirpes de rizóbio apresentam potencial para disponibilizar as quantidades requeridas por essa cultura, do nitrogênio necessário para seu desenvolvimento, o que reflete em ganhos de produtividade.

A adubação nitrogenada na dose de 70 kg ha⁻¹ apresentou produtividade de 1189 kg ha⁻¹, comportando-se de maneira estatisticamente similar aos tratamentos

inoculados, mas diferindo do tratamento testemunha. Isso demonstra que o suprimento de nitrogênio via adubação nitrogenada pode suprir a demanda da planta, mas de acordo com Bohlool et al. (1992), em termos econômicos e ambientais, a FBN mostra-se mais vantajosa, já que garante os mesmos benefícios.

Em trabalhos de Farinelli et al. (2006) e Sant'ana et al. (2010) com feijoeiro, a adubação nitrogenada mostrou efeito similar ao das estirpes, reforçando a viabilidade da FBN como fonte de nitrogênio para as plantas.

4.8 Concentração de nitrogênio e proteína bruta de grãos

Os teores de nitrogênio e de proteína bruta nos grãos não foram afetados pelas formas de inoculação das estirpes nem pela adubação nitrogenada (Tabela 14).

Tabela 14. Concentração de nitrogênio e proteína bruta de grãos de feijão caupi inoculado com estirpes de rizóbio em solo de cerrado.

Tratamentos	Concentração	
	Nitrogênio	Proteína bruta
	----- (g kg ⁻¹) -----	
MT15+MT16	41,30a	258,12a
MT8+MT16	43,40a	271,25a
MT8+MT15+MT16	42,70a	266,86a
MT8+MT15	42,00a	271,25a
MT15	50,40a	315,00a
MT8	37,80a	231,87a
MT16	49,00a	306,25a
BR3267	40,60a	253,75a
70 kg ha ⁻¹	38,50a	240,62a
Testemunha	43,40a	271,25a
C.V. (%)	11,73	10,98

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos indicam que as plantas assimilaram tanto o nitrogênio biologicamente fixado, independentemente da forma de inoculação, como aquele fornecido com a adubação nitrogenada, o que explica a ausência de diferença estatística entre os tratamentos. De acordo com Gomes Junior et al. (2005), o nitrogênio que é absorvido pelas plantas combina-se a esqueletos de carbono, sendo, posteriormente, translocados e armazenados nos grãos sob a forma de proteínas e aminoácidos.

Para Neves et al. (1982), mesmo noduladas, estas plantas podem dispor de fontes alternativas para obtenção deste nutriente. Ainda, Sebetha et al. (2015) ressaltam que o teor de proteína bruta nos grãos pode sofrer influência dos teores de nitrogênio do solo. Isso ocasiona certa limitação sobre os efeitos da inoculação, pois embora este nutriente seja fornecido pela estirpes inoculadas, a presença do nitrogênio em formas acessíveis no solo pode favorecer a nutrição nitrogenada das plantas, afetando a inoculação e a adubação nitrogenada.

Um estudo foi realizado por Pelegrin et al. (2009) para avaliar a resposta do feijoeiro à inoculação com rizóbio, acrescida de adubação nitrogenada. Estes autores não observaram efeito significativo dos tratamentos testados sobre a concentração de nitrogênio nos grãos. De modo semelhante, Marinho et al. (2014) não observaram diferenças significativas no teor de proteína bruta nos grãos da cultivar BRS Acauã, dentre as diferentes cultivares de feijão caupi testadas.

O tratamento testemunha apresentou concentração de nitrogênio de 43,40 g kg⁻¹ enquanto o de proteína bruta foi de 271,25 g kg⁻¹. Estes resultados corroboram o que foi proposto por Costa et al. (2014). Segundo os autores, o teor de nitrogênio nos grãos das plantas do tratamento testemunha (sem inoculação e sem nitrogênio mineral) pode estar relacionado com o fornecimento realizado por rizóbios do solo.

Nos trabalhos de Soratto et al. (2011) e Ayan et al. (2012) não foram observadas diferenças significativas entre as fontes de nitrogênio testadas (inoculação de rizóbios e adubação nitrogenada) e o tratamento testemunha em relação ao teor de proteína nos grãos, o que sugere, segundo Rufini et al. (2014), essa interferência das estirpes nativas do solo.

O tratamento com adubação nitrogenada não influenciou a concentração de nitrogênio nem de proteína bruta de grãos (Tabela 14). Nessas plantas foram observados concentração de nitrogênio de 38,5 g kg⁻¹ e teor de proteína bruta de 240,62 g kg⁻¹. Entretanto, pode ter havido influência do nitrogênio da matéria orgânica do solo, que de acordo com Gianello et al. (2000), pode suprir o requerimento das plantas por ser liberado para a solução do solo em formas iônicas prontamente disponíveis para absorção pelas plantas. Evidência similar foi encontrada por Beshir et al. (2015) após avaliarem a inoculação com rizóbios e a adubação nitrogenada em feijão verde.

4.9 Acúmulo de nitrogênio nos grãos

Houve efeito significativo dos tratamentos sobre o acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi, cujos valores variaram de 11,86 a 65,30 kg ha⁻¹.

A estirpe MT15 contribuiu para o maior acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi quando comparada ao tratamento com adubação nitrogenada, cujo incremento correspondeu a 42,7%, diferindo-se dos tratamentos MT8, MT8+MT15+MT16 e testemunha. Entretanto, a estirpe MT15 não se diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 15).

Tabela 15. Acúmulo de nitrogênio nos grãos de feijão caupi, submetido à inoculação combinada de rizóbio em solo de Cerrado.

Tratamentos	Acúmulo de nitrogênio nos grãos (Kg ha ⁻¹)
MT8+MT15	58,47ab
MT15+MT16	55,82ab
MT15	65,30a
MT8+MT16	56,42ab
MT16	56,36ab
BR3267	43,12abc
MT8	39,07bc
MT8+MT15+MT16	28,45cd
70 kg ha ⁻¹	45,73abc
Testemunha	11,86d
C.V. (%)	13,61

Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Todas as estirpes mostraram potencial de disponibilizar nitrogênio de forma satisfatória para o completo desenvolvimento do feijão caupi, apresentando-se estatisticamente similares ao tratamento com adubação nitrogenada, o que sugere uma simbiose efetiva com a cultura. Estas respostas também demonstram que o fertilizante nitrogenado pode ser substituído pela inoculação das estirpes de rizóbio, uma vez que estas apresentaram eficiência similar à daquele tratamento.

Em feijão caupi, alguns estudos mostraram haver influência positiva da inoculação de estirpes de rizóbio sobre o acúmulo de nitrogênio nos grãos, conforme foi demonstrado por Almeida et al. (2010). Estes autores atribuíram o maior acúmulo à estirpe INPA 03-11B (51,75%), seguida pelas estirpes BR3262 (45,5%), BR3267

(30%) e BR3299 (29,4%), todas em relação à adubação nitrogenada na dose de 80 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia.

Em um experimento sob as mesmas condições, Costa et al. (2014) mostraram que a inoculação de rizóbios em feijão caupi propiciou o maior acúmulo de nitrogênio nos grãos da cultura, sendo que as estirpes UFLA 03-164, UFLA 03-154 e UFLA 03-84 apresentaram valores de 31,98, 28,43 e de 27,92 kg ha⁻¹ de nitrogênio, respectivamente.

Estas contribuições substanciais ao acúmulo de nitrogênio nos grãos refletem o potencial de fornecimento de nitrogênio destas estirpes, o que torna a inoculação uma tecnologia viável para a produção de feijão caupi sob condições de campo. O acúmulo de nitrogênio é, segundo Muchow et al. (1993), proporcional ao nitrogênio presente nas folhas da planta. Portanto, a FBN mostra-se como uma grande responsável pelo acúmulo deste nutriente nos grãos, podendo chegar a uma taxa de 44% em plantas de feijão caupi, conforme relatado por Eaglesham et al. (1977).

Para Okito et al. (2004), quando as leguminosas são submetidas à inoculação de rizóbios eficazes, podem alcançar um melhor estado nutricional, o que reflete em um melhor crescimento vegetal. Dessa forma, durante o enchimento de grãos, este estado nutricional refletirá em maiores valores de N acumulado nos grãos, visto que este nutriente é mobilizado das partes aéreas, conforme demonstraram Salon et al. (2001).

Já as plantas do tratamento com adubação nitrogenada diferiram-se daquelas do tratamento testemunha, apresentando um acúmulo de 45,73 kg ha⁻¹ de nitrogênio em seus grãos. Contudo, mostrou efeito similar em relação aos tratamentos inoculados, o que demonstra a eficiência das estirpes inoculadas em relação ao fertilizante nitrogenado, já que houve efeito estatisticamente similar entre ambos.

Ferreira et al. (2009) reportaram acúmulo de 67,8 kg ha⁻¹ com a aplicação de 80 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia após avaliarem a eficiência de estirpes de rizóbio selecionadas comparadas com a estirpe referência CIAT 899 na simbiose com o feijoeiro. Costa et al. (2011) encontraram efeito similar, reportando acúmulo de 61,28 kg ha⁻¹ de N nos grãos da cultivar BR 17 Gurgéia de feijão caupi após a aplicação de 70 kg ha⁻¹ de N, tendo como fonte ureia, embora este tratamento não tenha se diferido da estirpe INPA 03 11B, a qual apresentou acúmulo de nitrogênio equivalente à 44,21 kg ha⁻¹.

Estes resultados atestam que a FBN pode ser explorada, implementando uma agricultura mais limpa, livre de insumos químicos e menos danosa ao meio ambiente, além de economicamente acessível para pequenos produtores.

Entretanto, as observações de Zilli et al. (2006) apontaram que as incoerências em relação às respostas observadas neste e em outros estudos podem ter relação com a nodulação por diversas estirpes de rizóbio, o que frequentemente compromete a inoculação do feijão caupi. A contribuição dessa simbiose pode chegar a cerca de 50% do nitrogênio que é absorvido e exportado para os grãos, o qual pode também ser obtido através da mineralização da matéria orgânica do solo, segundo Perez et al. (2013).

4.10 Correlação entre variáveis

Dentre as correlações observadas, devem ser destacadas aquelas envolvendo a produtividade de grãos (Tabela 16). A análise da correlação de Pearson mostrou coeficientes negativos quando se comparou a produtividade de grãos com: a altura de plantas, o acúmulo de matéria seca na parte aérea, nas raízes e total e os índices de clorofila aos 40 e 60 dias após a semeadura. Estas mesmas correlações negativas foram observadas para o acúmulo de nitrogênio nos grãos.

Todas estas correlações com a produtividade de grãos e com o acúmulo de nitrogênio nos grãos confirmam as observações de Salon et al. (2001) de que o nitrogênio é mobilizado das partes vegetativas para os grãos durante o período de produção de vagens e enchimento de grãos.

Também foi possível atestar as observações feitas por Argenta et al. (2001), de que o índice de clorofila Falker apresenta relação com a quantidade de nitrogênio presente nas folhas, o que também explica a correlação positiva encontrada no índice de clorofila aos 40 dias após a semeadura em relação ao acúmulo de matéria seca vegetal, e negativa para o mesmo índice aos 60 dias após a semeadura.

O crescimento das plantas foi influenciado pelo fornecimento de nitrogênio, o qual refletiu no acúmulo de matéria seca vegetal, reforçando as observações de Vessey (2004) de que a inoculação apresenta potencial para aumentar o acúmulo de matéria seca.

Houve correlação positiva entre massa seca e o número de nódulos, indicando a formação de uma simbiose efetiva do feijão caupi com as estirpes de rizóbio, podendo ser usada como um bom indicador da nodulação (CAMPO e HUNGRIA, 2007).

Contudo, a massa seca de nódulos e a concentração de nitrogênio e de proteína bruta nos grãos se correlacionaram negativamente, o que pode indicar a senescência dos nódulos, uma vez que a planta está translocando para os grãos a maior parte do nitrogênio acumulado anteriormente nas folhas (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2008). Entretanto, a correlação positiva observada entre o número de nódulos e a produtividade de grãos é um indicativo de boa nodulação pelas estirpes de rizóbio.

A concentração de nitrogênio nos grãos se correlacionou positivamente com a proteína bruta de grãos, reforçando as afirmações de Li et al. (2013) de que a maior parte do nitrogênio nas plantas está presente na composição de proteínas. De maneira similar, a correlação positiva entre o acúmulo de nitrogênio nos grãos e a produtividade de grãos indica que o suprimento deste nutriente foi favorável para garantir uma alta produtividade de grãos de feijão caupi.

Tabela 16. Coeficientes de correlação entre as variáveis experimentais.

	CV	MSN	MSPA	MSR	MST	NGV	NN	NVP	IC40	IC60	CNG	ANG	PBG	PG
ALT	0,1462 ^{ns}	-0,3052 ^{ns}	0,6863**	0,6556**	0,6867**	-0,3048 ^{ns}	-0,4160*	-0,0018 ^{ns}	0,5676*	0,3316 ^{ns}	0,1444 ^{ns}	-0,6802**	0,1416 ^{ns}	-0,6905**
CV		-0,0042 ^{ns}	0,0701 ^{ns}	0,0369 ^{ns}	0,0679 ^{ns}	0,1631 ^{ns}	0,0077 ^{ns}	-0,2532 ^{ns}	0,2857 ^{ns}	0,0723 ^{ns}	0,0766 ^{ns}	-0,2259 ^{ns}	0,0850 ^{ns}	-0,2071 ^{ns}
MSN			-0,1756 ^{ns}	-0,2155 ^{ns}	-0,1792 ^{ns}	-0,0724 ^{ns}	0,7309**	-0,1733 ^{ns}	-0,0681 ^{ns}	-0,0515 ^{ns}	-0,4250*	0,2123 ^{ns}	-0,4482*	0,2856 ^{ns}
MSPA				0,9438**	0,9997**	-0,1396 ^{ns}	-0,2681 ^{ns}	0,2824 ^{ns}	0,5721**	0,3532 ^{ns}	0,0938 ^{ns}	-0,5654**	0,0882 ^{ns}	-0,5705**
MSR					0,9516**	-0,1695 ^{ns}	-0,2648 ^{ns}	0,1992 ^{ns}	0,4996**	0,3086 ^{ns}	0,2536 ^{ns}	-0,5688**	0,2545 ^{ns}	-0,6136**
MST						-0,1423 ^{ns}	-0,2689 ^{ns}	0,2774 ^{ns}	0,5690**	0,3513 ^{ns}	0,1059 ^{ns}	-0,5679**	0,1000 ^{ns}	-0,5758**
NGV							-0,0536 ^{ns}	0,0285 ^{ns}	-0,0530 ^{ns}	-0,1717 ^{ns}	0,1860 ^{ns}	0,3266 ^{ns}	0,1663 ^{ns}	0,3013 ^{ns}
NN								-0,2244 ^{ns}	-0,2895 ^{ns}	0,0041 ^{ns}	-0,2563 ^{ns}	0,3356 ^{ns}	-0,2779 ^{ns}	0,3812*
NVP									0,1743 ^{ns}	0,2484 ^{ns}	-0,0237 ^{ns}	0,1495 ^{ns}	-0,0323 ^{ns}	0,1321 ^{ns}
IC40										0,3876*	-0,0014 ^{ns}	-0,6124**	-0,0120 ^{ns}	-0,5891**
IC60											0,0110 ^{ns}	-0,4307*	-0,0001 ^{ns}	-0,4308*
CNG												0,0218 ^{ns}	0,9944**	-0,1799 ^{ns}
ANG													0,0324 ^{ns}	0,9665**
PBG														-0,1643 ^{ns}

** e * - significativo a 1 e 5% pelo teste t, respectivamente.

^{ns} – não significativo

ALT: altura de plantas; comprimento de vagens (CV); massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), massa seca total (MST), número de grãos por vagem (NGV), número de nódulos (NN), índice de clorofila aos 40 dias após a semeadura (IC40), índice de clorofila aos 60 dias após a semeadura (IC60), concentração de nitrogênio nos grãos (CNG), acúmulo de nitrogênio nos grãos (ANG), proteína bruta de grãos (PBG) e produtividade (PG).

4.11 Análise econômica

De acordo com as produtividades obtidas em cada tratamento, foram estimados a receita bruta, o gasto com a inoculação, adubações nitrogenada, fosfatada, potássica e com micronutrientes, gasto com inseticida e fungicida e a receita líquida (Tabela 17).

Tabela 17. Análise econômica da produção de feijão caupi submetido à inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada na região de Rondonópolis-MT, no período de agosto de 2015.

Tratamentos	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Receita Bruta (R\$)*	Gasto estimado (R\$)				Receita Líquida (R\$)
			Fontes de N	P	K	FTE	
MT8+MT15	1388	4.622,04	19,90	319,00	31,25	650,00	3.601,89
MT15+MT16	1354	4.508,82	19,90	319,00	31,25	650,00	3.488,67
MT15	1295	4.312,35	19,90	319,00	31,25	650,00	3.292,20
MT8+MT16	1293	4.305,69	19,90	319,00	31,25	650,00	3.285,54
MT16	1190	3.962,27	19,90	319,00	31,25	650,00	2.942,12
MT8	1005	3.346,65	19,90	319,00	31,25	650,00	2.326,50
MT8+MT15+MT16	663	2.207,79	19,90	319,00	31,25	650,00	1.187,64
BR3267	1110	3.696,30	19,90	319,00	31,25	650,00	2.676,15
70 kg ha ⁻¹	1189	3.959,37	285,00	319,00	31,25	650,00	2.674,12
Testemunha	284	945,72	0,00	319,00	31,25	650,00	-

*Valores obtidos da multiplicação entre a produtividade e o preço do quilo de feijão caupi na região de Rondonópolis-MT em agosto de 2015.

Foi atribuído às estirpes isoladas na UFMT o preço de mercado do inoculante comercial na região de Rondonópolis-MT em Agosto de 2015 para a estimativa das respectivas receitas. O valor comercial atribuído ao fertilizante nitrogenado correspondeu ao preço de mercado na mesma região, cujo valor da saca de 60 kg de ureia foi R\$ 95,00 em média.

Além desses, foram incluídos os gastos com as adubações: fosfatada, estimada em R\$ 133,00 a saca de 50 kg, a qual correspondeu ao total de R\$ 319,00; potássica, a qual foi estimada em R\$ 31,25 a saca de 50 kg, e cujo valor total foi igual ao estimado. Para a adubação com micronutrientes utilizando como fonte FTE, o valor estimado foi de R\$ 32,50 o quilo, totalizando R\$ 650,00 para os 20 kg utilizados. O gasto com o inseticida utilizado foi de R\$ 40,00 o litro, enquanto que, com o fungicida, esse gasto foi de R\$ 88,00 o litro.

Considerando os gastos com todos os insumos, a combinação MT8+MT15 apresentou a maior receita líquida (R\$ 3.601,89), cujo incremento correspondeu à

34% em relação ao tratamento com adubação nitrogenada. Nas demais combinações, 22% (MT8+MT16) e de 30% (MT15+MT16), também em relação ao tratamento com adubação nitrogenada.

Para a inoculação isolada das estirpes, o maior incremento foi de 23% (MT15), seguido de 10% (MT16), 0,07% (BR3267), quando comparadas ao tratamento com fertilizante nitrogenado.

Já os menores valores de receita líquida em relação à adubação nitrogenada foram atribuídos aos tratamentos com a estirpe MT8 e a combinação MT8+MT15+MT16, os quais equivaleram a apenas 12 e 44% daquele tratamento, respectivamente. A testemunha não apresentou receita líquida satisfatória, equivalendo a 35% da receita líquida encontrada na adubação nitrogenada.

Diante do exposto, infere-se que a inoculação combinada das estirpes MT8+MT15 é economicamente viável, pois foi observado maior produtividade, o que refletiu em maior receita líquida e proporcionou o menor custo de aquisição para o produtor rural em relação ao uso de adubação nitrogenada.

5. CONCLUSÃO

A inoculação combinada das estirpes de rizóbio influenciou positivamente o desenvolvimento e a produtividade de grãos do feijão caupi.

As combinações MT8+MT15, MT8+MT16 e MT15+MT16 apresentaram-se como potenciais inoculantes para o feijão caupi, podendo substituir a adubação nitrogenada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, R.; SOLAIMAN, A. R. M.; HALDER, N. K.; SIDDIKY, M. A.; ISLAM, M. S. Effect of inoculation methods of *Rhizobium* on yield attributes, yield and protein content in seed of pea. **Journal of Soil and Nature**, v. 1, n. 3, p. 30-35, 2007.
- AJIBADE, S. R.; MORAKINYO, J. A. Heritability and correlation studies in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Nigerian Journal of Genetic**, v. 15, p. 29-33, 2000.
- ALBERTY, R. A. Termodinamic mechanism of nitrogenase reaction. **Biophysical Chemistry**, v. 114, n. 2-3, p. 115-120, 2005.
- ALCANTARA, R. M. C. M.; XAVIER, G. R.; Rumjanek, N. G.; Rocha, M. M.; Carvalho, J. S. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão caupi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 1-9, 2014.
- ALMEIDA, A. L. G.; ALCÂNTARA, R. M. C. M.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n.3, p. 364-369, 2010.
- ALVAREZ, A. C. C.; ARF, O.; ALVAREZ, R. C. F.; PEREIRA, J. C. R. Resposta do feijoeiro à aplicação de doses e fontes de nitrogênio em cobertura no sistema de plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 69-75, 2005.
- ANDERSON, W. F.; FITZNER, M. S.; ISLIEB, T. G.; WYNNE, J. C.; PHILLIPS, T. D. Combining ability for large pod and seed traits in peanut. **Peanut Science**, v. 20, p. 49-52, 1993.
- ANDRADE, M. J. B.; DINIZ, A. R.; CARVALHO, J. G.; LIMA, S. F. Resposta da cultura do feijoeiro à aplicação foliar de molibdênio e às adubações nitrogenadas de plantio e cobertura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 4, p. 499-508, 1998.
- ANDREWS, M.; SPRENT, J. I.; RAVEN, J. A.; EADY, P. E. Relationships between shoot and root ratio, growth and leaf soluble protein concentration of *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* and *Triticum aestivum* under different nutrient deficiencies. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, p. 949-958, 1999.
- ANNE-SOPHIE, V.; CHRISTOPHE, S.; MUNIER-JOLAIN, N. G.; NEY, B. Effect of mineral nitrogen on nitrogen nutrition and biomass partitioning between the shoot and roots of pea (*Pisum sativum* L.). **Plant and Soil**, v. 242, p. 251-262, 2002.
- APPIAH, F. K.; TUFUOR, J. K.; AMOAKO-ANDOH, F. Nitrogen fixation and yield potential of some early-maturing cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) lines. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 5, n. 2, p. 209-212, 2015.
- ARAÚJO, F. F.; CARMONA, F. G.; TIRITAN, C. S.; CRESTE, J. E. Fixação biológica de N₂ no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 535-540, 2007.

- ARAÚJO, F. F.; MUNHOZ, R. E. V.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, p. 435-443, 1996.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.
- ARSAC, J. F.; CLEYET-MAREL, J. C. Serological and ecological studies of *Rhizobium* spp. (*Cicer arietinum* L.) by immunofluorescence and ELISA technique: Competitive ability for nodule formation between rhizobium strains. **Plant and Soil**, v. 94, p. 411-423, 1986.
- ASKARY, M.; MOSTAJERAN, A.; AMOOAGHAEI, R.; MOSTAJERAN, M. Influence of the co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on grain yield and N, P, K content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). **American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 296-307, 2009.
- AYAN, I.; MUT, H.; BASARAN, U.; ACAR, Z.; ASCI, O. O. Forage potential of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Turkish Journal of Field Crops**, v. 17, n. 2, p. 135-138, 2012.
- AZARPOUR, E.; DANESH, R. K.; MOHAMMADI, S.; BOZORGI, H. R.; MORADITOCHAEI, M. Effects of nitrogen fertilizer under foliar spraying of humic acid on yield and yield components of cowpea (*Vigna unguiculata*). **World Applied Sciences Journal**, v. 13, n. 6, p. 1445-1449, 2011.
- BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.; MAGALHÃES, W. B.; MÉDICI, L. O.; PIMENTEL, C. Interação entre inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada de plantio na produtividade do feijoeiro nas épocas da seca e das águas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1443-1450, 2013.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, LUZ E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, JUAN-PABLO. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, v. 378, p. 1-33, 2014.
- BATIONO, A.; MOKWUNYE, A. U. Alleviating soil fertility constraints to increased crop production in West Africa. The experience in the Sahel. **Fertilizer Research**, v. 29, p. 95-115, 1991.
- BEIJERINCK, M. W. Die Bacterien der Papilionaceenknölchen. **Botanische Zeitung**, v. 46, p. 797-804, 1888.
- BELLENGER, J. P.; XU, Y.; ZHANG, X.; MOREL, F. M. M.; KRAEPIEL, A. M. L. Possible contribution of alternative nitrogenases to nitrogen fixation by symbiotic N₂-fixing bacteria in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 69, p. 413-420, 2014.

- BENGTSSON, G.; BENGTSON, P.; MÅNSSON, K. F. Gross nitrogen mineralization-, immobilization-, and nitrification rates as a function of soil C/N ratio and microbial activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 143-154, 2003.
- BERGERSEN, F. J.; BROCKWELL, J.; GIBSON, A. H.; SCHWINGHAMER, E. A. Studies of natural populations and mutants of rhizobium in the improvement of legume inoculants. **Plant and Soil**, special volume, p. 3-16, 1971.
- BERNARDES, T. G.; SILVEIRA, P. M.; MESQUITA, M. A. M.; CUNHA, P. C. R. Resposta do feijoeiro de outono-inverno a fontes e doses de nitrogênio em cobertura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 458-468, 2014.
- BERRADA, H.; FIKRI-BENBRAHIM, K. Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives. **British Microbiology Research Journal**, v. 4, n. 6, p. 616-639, 2014.
- BESHIR, H. M.; TESFAYE, B.; BUECKERT, R.; TAR'AN, B. Pod quality of snap bean as affected by nitrogen fixation, cultivar and climate zone under dryland agriculture. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 32, p. 3157-3169, 2015.
- BHUIYAN, M. A. H.; MIAN, M. H. Effect of *Bradyrhizobium* inoculation on nodulation, biomass production and yield of mungbean. **Bangladesh Journal of Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 95-99, 2007.
- BOHLOOL, B. B.; LADHA, J. K.; GARRITY, D. P.; GEORGE, T. Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture: A perspective. **Plant and Soil**, v. 141, p. 1-11, 1992.
- BORDELEAU, L. M.; PRÉVOST, D. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. **Plant and Soil**, v. 161, p. 115-25, 1994.
- BOTHAA, W. J.; JAFTHA, J. B.; BLOEM, J. F.; HABIG, J. H.; LAW, I. J. Effect of soil bradyrhizobia on the success of soybean inoculant strain CB 1809. **Microbiological Research**, v. 159, p. 219-231, 2004.
- BOUWMAN, A. F.; BEUSEN, A. H. W.; GRIFFIOEN, J.; VAN GROENIGEN, J. W.; HEFTING, M. M.; O., OENEMA; VAN PUIJENBROEK, P. J. T. M.; SEITZINGE, S.; SLOMP, C. P.; STEHFEST, E. Global trends and uncertainties in terrestrial denitrification and N₂O emissions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 368, p. 1-11, 2013.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Determinação do grau de umidade. In: BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. Cap. 7, p. 307-323.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações do micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 25 de março de 2011. Seção 1, p. 3-7.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

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, n. 1, p. 206-215, 2011.

BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Marcha de absorção de nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de ¹⁵N. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 895-905, 2009.

BROCKWELL, J.; BOTTOMLEY, P. J.; THIES, J. E. Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: A critical assessment. **Plant and Soil**, v. 174, p. 143-180, 1995.

BROWN, P. D.; AHMAD, M. H. Competitive interaction among strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* in the nodulation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, p. 7-9, 1996.

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Potencial de mineralização do nitrogênio em solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 575-579, 1997.

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionados ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: **REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA (RELARE)**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. p. 89-123.

CARVALHO, F. G. D.; SELBACH, P. A.; SILVA, A. J. N. D. Especificidade hospedeira de variantes *Bradyrhizobium* spp. em soja (cvs Peking e Clark), caupi e guandu. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, Número Especial, p. 2701-2708, 2008.

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

CASTELLETTI, C. H. M.; COSTA, A. F. D. Feijão caupi: alternativa sustentável para os sistemas produtivos. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 18, n. 1, p. 1-2, 2013.

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

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

CHEMINING'WA, G. N.; THEURI, S. W. M.; MUTHOMI, J. W. Abundance of indigenous rhizobia nodulating cowpea and common bean in central Kenya soils. **African Journal of Horticultural Science**, v. 5, p. 92-97, 2011.

CHEN, J.; SAUDERS, S. C.; CROW, T. R.; NAIMAN, R. J.; BROSOFSKE, K. D.; MROZ, G. D.; BROOKSHIRE, B. L.; FRANKLIN, J. F. Microclimate in forest ecosystem and landscape ecology. **Bioscience**, Washington, v. 49, p. 288-297, 1999.

CHEN, W. X.; YAN, G. H.; LI, J. L. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 38, p. 392-397, 1988.

CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab, v. 2, 2014. 158 p.

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

CORRENTE, J. E.; NOGUEIRA, M. C. S.; COSTA, B. M. Contrastes ortogonais na análise do controle de volatilização de amônia em compostagem. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 2, p. 407-412, 2001.

COSTA, A. C. S.; FERREIRA, J. C.; SEIDEL, E. P.; TORMENA, C. A.; PINTRO, J. C. Perdas de nitrogênio por volatilização da amônia em três solos Argilosos tratados com uréia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 467-473, 2004.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; FERREIRA, L. V. M.; AMARAL, F. H. C.; NÓBREGA, J. C. A.; SILVA, A. F. C.; MOREIRA, F. M. S. Growth and yield of the cowpea cultivar BRS Guariba inoculated with rhizobia strains in southwest Piauí. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 3073-3084, 2014.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; MARTINS, L. V.; AMARAL, F. H. C.; MOREIRA, F. M. S. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2011.

DATE, R. A. Advances in inoculant technology: a brief review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 3, p. 321-325, 2001.

DATE, R. A. Inoculated legumes in cropping systems of the tropics. **Field Crops Research**, v. 65, p. 123-136, 2000.

DEAKIN, W. J.; BROUGHTON, W. J. Symbiotic use of pathogenic strategies: rhizobial protein secretion systems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 312-320, 2009.

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

DESHMUKH, D. V.; MATE, S. N.; BHARUD, R. W.; HARER, P. N. Analysis of pod and seed development in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. **American-Eurasian Journal of Agronomy**, v. 4, n. 3, p. 50-56, 2011.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social and economic contributions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 771-774, 1997.

DOMINGUEZ, J.; BOHLEN, P. J.; PARMELEE, R. W. Earthworms increase nitrogen leaching to greater soil depths in row crop agroecosystems. **Ecosystems**, v. 7, p. 672-685, 2004.

DOWNIE, J. A. Signalling strategies for nodulation of legumes by rhizobia. **Trends in Microbiology**, v. 2, n. 9, p. 318-324, 1994.

DREYFUS, B. L.; GARCIA, J. L.; GILLIS, M. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov., sp. nov., a stem nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 38, p. 89-98, 1988.

DU PLESSIS, M. C. F.; KROONTJE, W. The relationship between pH and ammonia equilibria in soil. **Soil Science Society of America Journal**, v. 28, n. 6, p. 751-754, 1964.

DUGASSA, A.; LEGESSE, H.; GELETA, N. Genetic variability, yield and yield associations of lentil (*Lens culinaris* Medic.) genotypes grown at Gitilo Najo, Western Ethiopia. **Science, Technology and Arts Research Journal**, v. 3, n. 4, p. 10-18, 2014.

DWYER, L. M.; ANDERSON, A. M.; MA, B. L. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 75, n. 1, p. 179-182, 1995.

DYNIA, J. F.; SOUZA, M. D.; BOEIRA, R. C. Lixiviação de nitrato em Latossolo cultivado com milho após aplicações sucessivas de lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 855-862, 2006.

EAGLESHAM, A. R. J.; MINCHIN, F. R.; SUMMERFIELD, R. J.; DART, P. J.; HUXLEY, P. A.; DAY, J. M. Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Experimental Agriculture**, v. 13, p. 369-380, 1977.

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

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 2013. 306 p.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. BRS Tumucumaque - Cultivar de feijão caupi com valor nutritivo para o Amazonas. **Comunicado Técnico 106**, Manaus, p. 4, 2014.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, v. 88, p. 97-185, 2005.

FAR, A. J.; NEJAD, T. S.; MOJADAM, M. The effect of different methods of Rhizobium bacteria inoculation on biological nitrogen fixation in broad bean. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, n. 2, p. 346-252, 2014.

FARAHVASH, F.; MIRSHEKARI, B. Yield and yield components of cowpea as affected by different sources and application rates of nitrogen fertilizers. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 9, n. 3 e 4, p. 295-298, 2011.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B.; PENARIOL, F. G.; EGÉA, M. M.; GASPAROTO, M. G. Adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro, em plantio direto e convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 307-312, 2006.

FAUVART, M.; MICHELIS, J. Rhizobial secreted proteins as determinants of host specificity in the rhizobium-legume symbiosis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 285, n.1, p. 1-9, 2008.

FENN, L. B.; KISSEL, D. E. Ammonia volatilization from surface applications of ammonium compounds on calcareous soils: I. General theory. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 37, n. 6, p. 855-859, 1973.

FERGUSON, R. B.; KISSEL, D. E.; KOELLIKER, J. K.; BASEL, W. Ammonia volatilization from surface-applied urea: Effect of hydrogen ion buffering capacity. **Soil Science Society American Journal**, v. 48, p. 578-582, 1984.

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

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

FIELDS, S. Global nitrogen: cycling out of control. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. A556-A563, 2004.

FISCHINGER, S. A.; SCHULZE, J. The importance of nodule CO₂ fixation for the efficiency of symbiotic nitrogen fixation in pea at vegetative growth and during pod formation. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 9, p. 2281-2291, 2010.

FONSECA, G. G.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; TEIXEIRA, C. M.; MARTINS, F. A. D.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.

Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 6, p. 1778-1787, 2013.

FORNASIERI FILHO, D.; XAVIER, M. A.; LEMOS, L. B.; FARINELLI, R. Resposta de cultivares de feijoeiro comum à adubação nitrogenada em sistema de plantio direto. **Científica**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 115-121, 2007.

FRANK, B. Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 7, p. 332-346, 1889.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Yeast Extract**: Mannitol agar for laboratory manual of general. New York: [s.n.], 1928. 145 p.

FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; ARAÚJO, A. G. D. Caupi: Nomenclatura científica e nomes vulgares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 12, p. 1369-1372, 1983.

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.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R.; RODRIGUES, E. V. **Feijão caupi no Brasil**: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2011. 84 p.

FRIGO, G. R.; GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C. The inoculation of cowpea culture with rhizobial lineage in Brazilian Cerrado Region. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 34, p. 3150-3156, 2014.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 470-476, 2008.

GAGE, D. J.; MARGOLIN, W. Hanging by a thread: invasion of legume plants by rhizobia. **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, p. 613-617, 2000.

GAINES, T. P.; GAINES, S. T. Soil texture effect on nitrate leaching in soil percolates. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, n. 13-14, p. 2561-2570, 1994.

GALLOWAY, J. N.; DENTENER, F. J.; CAPONE, D. G.; BOYER, E. W.; HOWARTH, R. W.; SEITZINGER, S. P.; ASNER, G. P.; CLEVELAND, C. C.; GREEN, P. A.; HOLLAND, E. A.; Karl, D. M.; MICHAELS, A. F.; PORTER, J. H.; TOWNSEND, A. R.; VÖRÖSMARTY, C. J. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, v. 70, p. 153-226, 2004.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta, **Documentos Embrapa**, nº 63, Corumbá, p. 1-9, 2006.

GASKELL, M.; SMITH, R. Nitrogen sources for organic vegetable crops. **HortTechnology**, v. 17, n. 4, p. 431-441, 2007.

GASTAL, F.; LEMAIRE, G. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 789-799, 2002.

GEURTS, R.; BISSELING, T. *Rhizobium* Nod factor perception and signalling. **Plant Cell**, p. 239-249, 2002.

GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O.; REICHMANN, E.; TEDESCO, M. J. Avaliação da disponibilidade de nitrogênio do solo estimada por métodos químicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 93-101, 2000.

GIBSON, K. E.; KOBAYASHI, H.; WALKER, G. C. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. **Annual Review of Genetics**, v. 42, p. 413-441, 2008.

GOMES JUNIOR, F. G.; LIMA, E. R.; LEAL, A. J. F.; MATOS, F. A.; SÁ, M. E.; HAGA, K. I. Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 455-459, 2005.

GRAHAM, P. H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: a review. **Field Crops Research**, v. 4, p. 93-112, 1981.

GUALTER, R. M. R. BODDEY, R. M.; RUMJANEK, N. G.; FREITAS, A. C. R.; XAVIER, G. R. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n.3, p. 303-308, 2011.

GUALTER, R. M. R.; LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F.; ALCANTARA, R. M. C. M.; COSTA, D. B. Inoculação e adubação mineral em feijão caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 4, p. 469-474, 2008.

GUEDES, G. N.; SOUZA, A. S.; LIMA, A. S.; ALVES, L. S. Eficiência Agrônômica de Inoculantes em Feijão caupi no Município de Pombal-PB. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, p. 82-89, 2010.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; JACOB-NETO, J. Adição de molibdênio ao inoculante turfoso com bactérias diazotróficas usado em duas cultivares de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.3, p. 393-398, 2007.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; MOREIRA, J. C. F.; BOSA, C. K.; SILVA, S. L. S.; SILVA, T. J. A. Effects of inoculation of *Rhizobium* on nodulation and nitrogen accumulation in cowpea subjected to water availabilities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 1378-1384, 2015a.

GUIMARÃES, S. L.; CARDINAL, M. S.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C. Development of cv. BRS Novaera cowpea inoculated with rhizobium recommended for pigeonpea. **Científica**, Jaboticabal, v. 43, n. 2, p. 149-155, 2015b.

HANEY, R. L.; HANEY, E. B.; SMITH, D. R.; WHITE, M. J. Estimating potential nitrogen mineralisation using the solvita soil respiration system. **Open Journal of Soil Science**, v. 5, p. 319-323, 2015.

- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1-2, p. 1-18, 2008.
- HOULTON, B. Z.; MORFORD, S. L. A new synthesis for terrestrial nitrogen inputs. **Soil**, v. 1, p. 381-397, 2015.
- HU, Y.; RIBBE, M. W. Nitrogenase assembly. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1827, n. 8-9, p. 1112-1122, 2013.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, v. n. 13, 2001. 48 p.
- HUNGRIA, M.; THOMAS, R. J.; DÖBEREINER, J. Efeito do sombreamento na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n.10, p. 1143-1156, 1985.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors impacting N₂ fixation in legumes grown in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crop Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.
- IDAHOSA, D. O.; ALIKA, J. E.; OMOREGIE, A. U. Genetic variability, heritability and expected genetic advance as indices for yield and yield components selection in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Academia Arena**, v. 2, n. 5, p. 22-26, 2010.
- JONES, D. L.; SHANNONA, D.; MURPHY, D. V.; FARRAR, J. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 36, p. 749-756, 2004.
- JORDAN, D. C. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 136-139, 1982.
- JORDAN, D. C.; ALLEN, O. N. *Rhizobiaceae*. In: BUCHANAN, R. G.; GIBBONS, N. G. **Bergeys manual of determinative bacteriology**. 8th edition. ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co., 1975. p. 201-204.
- KENNEDY, I. R.; ISLAM, N. The current and potential contribution of symbiotic nitrogen fixation requirements on farms: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Queensland, v. 41, p. 447-457, 2001.
- KERESZT, A.; MERGAERT, P.; MARÓTI, G.; KONDOROSI, É. Innate immunity effectors and virulence factors in symbiosis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 76-81, 2011.
- KOBAYASHI, M.; MATSUO, Y.; TAKIMOTO, A.; SUZUKI, S.; MARUO, F.; SHOUN, H. Denitrification, a novel type of respiratory metabolism in fungal mitochondrion. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 16263-16267, 1996.
- KOOL, D. M.; DOLFING, J.; WRAGE, N.; VAN GROENIGEN, J. W. Nitrifier denitrification as a distinct and significant source of nitrous oxide from soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 174-178, 2011.

- KOPITTKKE, P. M.; DART, P. J.; MENZIES, N. W. Toxic effects of low concentrations of Cu on nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Environmental Pollution**, v. 145, p. 309-315, 2007.
- KRAPP, A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 25, p. 115-122, 2015.
- KREMER, R. J.; PETERSON, H. L. Field evaluation of selected *Rhizobium* in an improved legume inoculant. **Agronomy Journal**, v. 75, p. 139-143, 1983.
- KULSUM, M. U.; BAQUE, M. A.; KARIM, M. A. Effects of different nitrogen levels on the leaf chlorophyll content nutrient concentration and nutrient uptake pattern of blackgram. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, p. 250-254, 2007.
- KUMAWAT, S. M.; DHAKAR, L. L.; MALIWAL, P. L. Effect of irrigation regimes and nitrogen on yield, oil content and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.). **Indian Journal of Agronomy**, v. 45, p. 361-366, 2000.
- LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão caupi. **Revista Ceres**, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.
- LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; NICK, G.; MOREIRA, F.; MOLOUBA, F.; HOSTE, B.; TORCK, U.; NEYRA, M.; COLLINS, M. D.; LINDSTRÖM, K.; DREYFUS, B.; GILLIS, M. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, p. 369-382, 1998.
- LANGYINTUO, A. S.; LOWENBERG-DEBOER, J.; FAYE, M.; LAMBERT, D.; IBRO, G.; MOUSSA, B.; KERGA, A.; KUSHWAHA, S.; MUSA, S.; NTOUKAN, G. Cowpea supply and demand in West Africa. **Field Crops Research**, v. 82, p. 215-231, 2003.
- LEITE, J.; SEIDO, S. L.; PASSOS, S. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soils of the lower half of the São Francisco river valley. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1215-1226, 2009.
- LEWIN, A.; ROSENBERG, C.; MEYER, H.A.; WONG, C.; NELSON, L.; ANEN, J.F.; STANLEY, J.; DOWLING, D.N.; DÉNARIE, J.; BROUGHTON, W.J. Multiple host-specificity loci of the broad host-range *Rhizobium* sp. NGR234 selected using the widely compatible legume *Vigna unguiculata*. **Plant Molecular Biology**, v. 8, n. 6, p. 447-459, 1987.
- LI, S.-X.; WANG, Z.-H.; STEWART, B. A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in Agronomy**, v. 118, p. 205-397, 2013.
- LI, Y. Z.; WANG, F. X.; LIU, L. H. Use and management of soil water and nitrogen resource. I. Soil water and nitrogen conditions and root development. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, v. 5, p. 206-313, 1999.

- LIPPI, D.; DE PAOLIS, M. R.; OSMI, M.; PIETRINI, F.; PIETROSANTI, T.; VILLANI, M. C.; MASSACCI, A. Effect of *Rhizobium* sp. inoculation on N₂-fixing and photosynthetic activities of two cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] genotypes. **Photosynthetica**, v. 37, n. 3, p. 413-422, 1999.
- LOPES, E. S.; GIARDINI, A. R. Sobrevivência de *Rhizobium phaseoli* em turfa esterilizada. **Bragantia**, v. 36, n. 10, p. 39-42, 1977.
- MAATHUIS, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 250-258, 2009.
- MAINGI, J. M.; SHISANYA, C. A.; GITONGA, N. M.; HORNETZ, B. Nitrogen fixation by common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in pure and mixed stands in semi-arid south-east Kenya. **European Journal of Agronomy**, v. 14, p. 1-12, 2001.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.
- MARECHAL, R.; MASCHERPA, J. M.; STAINIER, F. Etude taxonomique d'un groupe d'especies des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base donnees morphologiques et polliniques traitees pour l'analyse informatique, **Boissiera**, v. 28, p. 1-273, 1978.
- MARINHO, R. C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; ZILLI, J. É.; XAVIER, G. R.; SANTOS, C. A. F.; AIDAR, S. T.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. 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, 2014.
- MARSCHNER, H.; KIRKBY, E. A.; ÇAKMAK, I. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, Special Issue, p. 1255-1263, 1996.
- MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, n. 6, p. 333-339, 2003.
- MARTINS, R. N. L.; NÓBREGA, R. S. A.; SILVA, A. F. T.; NÓBREGA, J. C. A.; AMARAL, F. H. C.; COSTA, E. M.; LUSTOSA FILHO, J. F.; MARTINS, L. V. Nitrogênio e micronutrientes na produção de grãos de feijão-caupi inoculado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 1577-1586, 2013.
- MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; DANIEL-VEDELE, F.; DECHORGNAT, J.; CHARDON, F.; GAUFICHON, L. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1141-1157, 2010.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; REISDORF-CREN, M.; ORSEL, M. Leaf nitrogen remobilisation for plant development and grain filling. **Plant Biology**, v. 10, n. 1, p. 23-36, 2008.

MATTOS JUNIOR, D.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Perdas por volatilização do nitrogênio fertilizante aplicado em pomares de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n.1, p. 263-270, 2002.

MEIRA, F. A.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; ARF, O. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 4, p. 383-388, 2005.

MEIRELLES, N. M. F.; LIBARDI, P. L.; REICI-IARDT, K. Absorção e lixiviação de nitrogênio em cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 4, p. 83-8, 1980.

MENGEL, K. Turnover of organic nitrogen in soils and its availability to crops. **Plant and Soil**, v. 181, n. 1, p. 83-93, 1996.

MOHAMMADI, K.; SOHRABI, Y.; HEIDARI, G.; KHALESRO, S.; MAJIDI, M. Effective factors on biological nitrogen fixation. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 12, p. 1782-1788, 2012.

MONTEALEGRE, C.; GRAHAN, P. Preference in the nodulation of *Phaseolus vulgaris* cv RAB 39.11. Effect of delayed nodulation or low cell representation in the inoculant nodule occupancy by *Rhizobium tropici* UMR 1899. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 844-850, 1996.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MPEPEREKI, S.; WOLLUMII, A. G.; MAKONESE, F. Diversity in symbiotic specificity of cowpea rhizobia indigenous to Zimbabwean soils. **Plant and Soil**, v. 186, n. 1, p. 167-171, 1996.

MUCHOW, R. C.; ROBERTSON, M. J.; PENGELLY, B. C. Accumulation and partitioning of biomass and nitrogen by soybean, mungbean and cowpea under contrasting environmental conditions. **Field Crops Research**, v. 33, n. 1-2, p. 13-36, 1993.

MULUALEM, T.; DESSALEGN, T.; DESSALEGN, Y. Genetic variability, heritability and correlation in some faba bean genotypes (*Vicia faba* L.) grown in Northwestern Ethiopia. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 5, n. 1, p. 8-12, 2013.

NAAB, J. B.; CHIMPHANGO, S. M. B.; DAKORA, F. D. N₂ fixation in cowpea plants grown in farmers' fields in the Upper West Region of Ghana, measured using ¹⁵N natural abundance. **Symbiosis**, v. 48, n. 1, p. 37-46, 2009.

- NEVES, M. C. P.; FERNANDES, M. S.; SÁ, M. F. M. Assimilação de nitrogênio em plantas noduladas de *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 5, p. 689-695, 1982.
- NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 889-895, 1997.
- NG, N. Q.; MARECHAL, R. Cowpea taxonomy, origin and germplasm. In: SINGH, S. R.; RACHIE, K. O. **Cowpea research, production and utilization**. Chichester: [s.n.], 1985. p. 11-21.
- NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313 p.
- NYOKI, D.; NDAKIDEMI, P. A. Economic benefits of *Bradyrhizobium japonicum* inoculation and phosphorus supplementation in cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) grown in northern Tanzania. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 11, p. 173-189, 2013.
- OGUNBODEDE, B. A.; FATULA, T. A note on the heritability of pod length and number of seeds per pod in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) traits. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 50, p. 89-100, 1985.
- O'HARA, G. W. Nutritional constraints on root nodule bacteria affecting symbiotic nitrogen fixation: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 3, p. 417-433, 2001.
- O'HARA, G. W.; BOONKERD, N.; DILWORTH, M. J. Mineral constraints to nitrogen fixation. **Plant and Soil**, v. 108, n. 1, p. 93-110, 1988.
- OHYAMA, T.; OWA, N.; FUJISHIMA, Y.; KUMAZAWA, K. Nitrogen assimilation in soybean nodules. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 55-64, 1981.
- OJIAKO, F. O.; KAYODE, R. M. O. Nutritional quality and consumer acceptability of cowpea seeds (*Vigna unguiculata* L. Walp.) treated with natural and synthetic insecticides against bruchid infestation. **Journal of Stored Products Research**, v. 56, p. 9 - 15, 2014.
- OKE, V.; LONG, S. R. Bacteroid formation in the *Rhizobium*-legume symbiosis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 2, p. 641-646, 1999.
- OKITO, A.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Nitrogen fixation by groundnut and velvet bean residual benefit to a subsequent maize crop. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 1183-1190, 2004.
- OLIVEIRA, A. P.; ANDRADE, A. C.; SOBRINHO, J. T.; PEIXOTO, N. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-vagem de crescimento indeterminado, no município de Areia-PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 159-162, 2001.

OLIVEIRA, M. T.; BENKO-ISEPPON, A.; KIDO, É. A.; SANTOS, M. G. Leaf photosynthetic metabolism and N₂ fixation at the flowering stage in three genotypes of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 2, p. 245-256, 2012.

OTIENO, P. E.; MUTHOMI, J. W.; CHEMINING'WA, G. N.; NDERITU, J. H. Effect of rhizobia inoculation, farmyard manure and nitrogen fertilizer on growth, nodulation and yield of selected food grain legumes. **African Crop Science Conference Proceedings**, v. 8, p. 305-312, 2007.

PADULOSI, S.; NG., N. Q. Origin, Taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SING, B. B.; RAJ, D. R. MOHAN; DASHIEL, K. E.; JACKAI, L. E. N. **Advances in Cowpea Research**. Ibadan: IITA-JIRCAS, 1997. p. 1-11.

PAFFETTI, D.; DAGUIN, F.; FANCELLI, S.; GNOCCHI, S.; LIPPI, F.; SCOTTI, C.; BAZZICALUPO, M. Influence of plant genotype on the selection of nodulating *Sinorhizobium meliloti* strains by *Medicago sativa*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 73, p. 3-8, 1998.

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

PEOPLES, M. B.; BALDOCK, J. A. Nitrogen dynamics of pastures: nitrogen fixation inputs, the impact of legumes on soil nitrogen fertility, and the contributions of fixed nitrogen to Australian farming systems. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, p. 327-346, 2001.

PEOPLES, M. B.; CRASWELL, E. T. Biological nitrogen fixation: Investments, expectations and actual contributions to agriculture. **Plant and Soil**, v. 141, n. 1-2, p. 13-39, 1992.

PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F.; LADHA, J. K. Biological nitrogen fixation: An efficient source for sustainable agricultural production? **Plant and Soil**, v. 174, p. 3-28, 1995a.

PEOPLES, M. B.; LADHA, J. K.; HERRIDGE, D. F. Enhancing legume N₂ fixation through plant and soil management. **Plant and Soil**, v. 174, p. 83-101, 1995b.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia: Fundamentose Aplicações Práticas**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478 p.

PEREZ, A. A. G.; SORATTO, R. P.; MANZATTO, N. P.; SOUZA, E. F. C. Extração e exportação de nutrientes pelo feijoeiro adubado com nitrogênio, em diferentes tempos de implantação do sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1276-1287, 2013.

PHILIPPOT, L.; RAAIJMAKERS, J. M.; LEMANCEAU, PHILIPPE; VAN DER PUTTEN, W. H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 789-799, 2013.

PIAZZETTA, H. V. L.; MORAES, A.; RIBEIRO, T. M. D.; SANDINI, I. E.; LUSTOSA, S. B. C.; PELISSARI, A. Pastejo e nitrogênio sobre o crescimento de raízes na mistura de aveia preta e azevém. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 2749-22768, 2014.

PIMENTEL, C.; HÉBERT, G. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. **Revista brasileira de fisiologia vegetal**, v. 11, p. 7-11, 1999.

PIMENTEL, C.; LAFFRAY, D.; LOUGUET, P. Intrinsic water use efficiency at the pollination stage as a parameter for drought tolerance selection in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v. 106, p. 184-189, 1999.

PINHEIRO, M. S.; SOUSA, J. B.; BERTINI, C. H. C. M.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Isolamento e seleção de estirpes de rizóbios nativas do semiárido tolerantes a estresses ambientais. **Eciclopédia Biosfera** - Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 10, n.18, p. 2071-2082, 2014.

PORTES, T. A.; ARAÚJO, B. R. B. Comparison of the allocation of phytomass in soybean and bean and its potential role in biological nitrogen fixation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 285-292, 2012.

PULE-MEULENBERG, F.; DAKOTA, F. D. Assessing the symbiotic dependency of grain and tree legumes on N₂ fixation for their N nutrition in five agro-ecological zones of Botswana. **Symbiosis**, v. 48, n. 1, p. 68-77, 2009.

RAGAB, D. M.; BABIKER, E. E.; ELTINAY, A. H. Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. **Food Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 207-212, 2004.

RAO, D. L. N.; GILLER, K. E.; YEO, A. R.; FLOWERS, T. J. The Effects of Salinity and Sodidity upon Nodulation and Nitrogen Fixation in Chickpea (*Cicer arietinum*). **Annals of Botany**, v. 89, n. 5, p. 563-570, 2002.

RAPOSEIRAS, R.; MARRIEL, I. E.; MUZZI, M. R. S.; PAIVA, E.; PEREIRA FILHO, I. A.; CARVALHAIS, L. C.; PASSOS, R. V. M.; PINTO, P. P.; SÁ, N. M. H. *Rhizobium* strains competitiveness on bean nodulation in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 439-447, 2006.

REBAH, F. B.; PRÉVOST, D.; YEZZA, A.; TYAGI, R. D. Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: A review. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3535-3546, 2007.

REBECHINI, A. C.; MAZZUCHELLI, R. C. L.; ARAUJO, A. S. F.; ARAUJO, F. F. Nitrogen application and inoculation of *Rhizobium tropici* on common bean in the fall/winter. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 42, p. 3156-3163, 2014.

REES, D. C.; HOWARD, J. B. Nitrogenase: standing at the crossroads. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 4, p. 559–566, 2000.

- RODRIGUES, A. C.; SILVEIRA, J. A. G.; BONIFACIO, A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Metabolism of nitrogen and carbon: Optimization of biological nitrogen fixation and cowpea development. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 67, p. 226-234, 2013.
- RUFINI, M. OLIVEIRA, D. P.; TROCHMANN, A.; SOARES, B. L.; ANDRADE, M. J. B. MOREIRA, F. M. S. Estirpes de *Bradyrhizobium* em simbiose com guandu-anão em casa de vegetação e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n.3, p. 197-206, mar. 2014.
- SALON, C.; MUNIER-JOLAIN, N. G.; DUC, G.; VOISIN, A-S.; GRANDGIRARD, D.; LARMURE, A.; EMERY, R. J. N.; NEY, B. Grain legume seed filling in relation to nitrogen acquisition: A review and prospects with particular reference to pea. **Agronomie**, v. 21, p. 539-552, 2001.
- SANT'ANA, E. V. P.; SANTOS, A. B.; SILVEIRA, P. M. Adubação nitrogenada na produtividade, leitura SPAD e teor de nitrogênio em folhas de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 4, p. 491-496, 2010.
- SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany**, v. 111, p. 743-767, 2013.
- SAWAZAKI, H. E.; SODEK, L.; TEIXEIRA, J. P. F. Transporte de compostos nitrogenados em soja cultivada com diferentes fontes de nitrogênio. **Bragantia**, v. 46, n. 2, p. 291-302, 1987.
- SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. **Plant Physiology**, v. 116, p. 447-453, 1998.
- SCHULTEN, H.-R.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 26, p. 1-15, 1998.
- SEBETHA, E. T.; MODI, A. T.; OWOEYE, L. G. Cowpea crude protein as affected by cropping system, site and nitrogen fertilization. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 1, p. 224-234, 2015.
- SEITZINGER, S.; HARRISON, J. A.; BÖHLKE, J. K.; BOUWMAN, A. F.; LOWRANCE, R.; PETERSON, B.; TOBIAS, C.; VAN DRECHT, G. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. **Ecological Applications**, v. 16, n. 6, p. 2064-2090, 2006.
- SILVA NETO, M. L.; SMIDERLE, O. J.; SILVA, K.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; XAVIER, G. R.; ZILLI, J. É. Compatibilidade do tratamento de sementes de feijão caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n.1, p. 80-87, 2013.
- SILVA, E. F. L.; MIRANDA, J. M. S.; ARAÚJO, ADEMIR S. F.; CARVALHO, E. M. S.; NUNES, L. A. P. L. Nodulação natural de leguminosas em solos de cerrado do estado do Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 3, p. 274-277, 2009a.
- SILVA, E. F.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F.; MERCANTE, F. M.; RODRIGUES, E. T.; VITORINO, A. C. T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium*

tropici associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009b.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 2009.

SILVA, L. L. G. G.; ALVES, G. C.; RIBEIRO, J. R. A.; URQUIAGA, S.; SOUTO, S. M.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 59, n. 225, p. 21-30, 2010.

SILVA, P. M.; TSAI, S. M.; BONETTI, R. Response to inoculation and N fertilization for increased yield and biological nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, v. 152, n. 1, p. 123-130, 1993.

SILVA, R. T. L.; ANDRADE, D. P.; MELO, É. C.; PALHETA, E. C. V.; GOMES, M. A. F. Inoculação e adubação mineral na cultura do feijão-caupi em Latossolo da Amazônia oriental. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 4, p. 152-156, 2011.

SILVEIRA, P. M.; DAMASCENO, M. A. Doses e parcelamento de K e de N na cultura do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 1269-1276, 1993.

SINCLAIR, T. R.; WIT, C. T. Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. **Agronomy Journal**, v. 68, n. 2, p. 319-324, 1976.

SINGH, B. B.; AJEIGBEA, H. A.; TARAWALI, S. A.; FERNANDEZ-RIVERA, S.; ABUBAKAR, MUSA Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. **Field Crops Research**, v. 84, n. 1-2, p. 169-177, 2003.

SINGH, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. **Advances in cowpea research**. Ibadan: IITA; Tsukuba: JIRCAS, 1997. 390 p.

SOARES, A. L. L.; FERREIRA, P. A. A.; PEREIRA, J. P. A. R.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I - Caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 795-802, 2006a.

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

SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; SILVA, L. M.; LEMOS, L. B. Parcelamento da adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro em sistema de plantio direto. **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 223-228, 2006.

SORATTO, R. P.; FERNANDES, A. M.; SOUZA, E. F. C.; SOUZA-SCHLICK, G. D. Produtividade e qualidade dos grãos de feijão em função da aplicação de nitrogênio

em cobertura e via foliar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 2019-2028, 2011.

STEELE, W. M.; MEHRA, K. L. Structure, evolution, and adaptation to farming systems and environments in *Vigna*. In: SUMMERFIELD, R. J.; BUNTING, A. H. **Advances in Legume Science**. Dordrecht: Plant and Soil, 1989. p. 235-241.

STEPHANIE, K. B.; ALBERT, N.; FERNAND-NESTOR, T. F. Pollination and yield attributes of (cowpea) *Vigna unguiculata* L. Walp. (Fabaceae) as influenced by the foraging activity of *Xylocopa olivacea* Fabricius (Hymenoptera: Apidae) and inoculation with *Rhizobium* in Ngaoundere, Cameroon. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v. 6, n. 2, p. 62-76, 2015.

STEPHENS, J. H. G.; RASK, H. M. Inoculant production and formulation. **Field Crops Research**, v. 65, p. 249-258, 2000.

SUBRAMANIAN, S.; STACEY, G.; YU, O. Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. **Trends in Plant Science**, v. 12 n. 7, p. 282-285, 2007.

TAIRO, E. V.; NDAKIDEMI, P. A. Possible benefits of rhizobial inoculation and phosphorus supplementation on nutritioin, growth and economic sustainability in grain legumes. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 12, p. 532-556, 2013.

TALEBPOUR, N.; AMINPANAH, H.; RABIEE, M. Effects of *Rhizobium phaseoli* strains and molybdenum foliar application on growth and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Soil Nature**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2015.

TEMPRANO, F. J.; ALBAREDA, M.; CAMACHO, M.; DAZA, A.; SANTAMARÍA, C.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, D. N. Survival of several *Rhizobium/Bradyrhizobium* strains on different inoculant formulations and inoculated seeds. **International Microbiology**, v. 5, p. 81-86, 2002.

THIES, J. E.; BOHLOOL, B. B.; SINGLETON, P. W. Subgroups of the cowpea miscellany: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hipogaea* and *Macroptilium atropurpureum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, p. 1540-1545, 1991b.

THIES, J. E.; BOHLOOL, P. W.; SINGLETON, B. B. Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 19-28, 1991a.

THIES, J. E.; WOOMER, P. L.; SINGLETON, P. W. Enrichment of *Bradyrhizobium* spp. populations in soil due to cropping of the homologous host legume. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 633-636, 1995.

TILAK, K. V. B. R.; RANGANAYAKI, N.; MANOHARACHARI, C. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). **European Journal of Soil Science**, v. 57, p. 67-71, 2006.

TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: A review. **BioMed Research International**, v. 2013, Article ID 863240, p. 1-11, 2013.

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. [S.l.]: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 59-72.

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, v. 152, p. 131-138, 1993.

URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, v. 56, n. 1, p. 105-114, 1992.

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 Amazônica**, v. 39, n. 4, p. 741-748, 2009.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M. Response of field-grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization in two Cerrados soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, n. 3, p. 228-233, 2000.

VAVILAPALLI, S.; CELINE, V. A.; DUGGI, S.; PADAKIPATIL, S.; MAGADUM, S. Genetic variability and heritability studies in bush cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Legume Genomics and Genetics**, v. 4, n. 4, p. 27-31, 2013.

VERDCOURT, B. Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the 'Flora of Tropical East Africa': IV. **Kew Bulletin**, v. 24, n. 3, p. 507-569, 1970.

VESSEY, J. K. Benefits of inoculating legume crops with rhizobia in the Northern Great Plains. **Crop Management**, v. 3, n. 1, p. 141-149, 2004.

VIEIRA, C. L.; FREITAS, A. D.; SILVA, A. F.; SAMPAIO, E. V.; ARAÚJO, M. S. Inoculação de variedades locais de feijão macassar com estirpes selecionadas de rizóbio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n.11, p. 1170-1175, 2010.

VINCENT, J. M. Influence of calcium and magnesium on growth of *Rhizobium*. **Journal of General Microbiology**, v. 28, p. 653-653, 1962.

VLEK, P. L. G.; FILLERY, I. R. P.; BURFORD, J. R. Accession, transformation, and loss of nitrogen in soils of the arid region. **Plant and Soil**, v. 58, n. 1, p. 133-175, 1981.

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

- WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.11, p. 2277-2285, 2000.
- WIRÉN, N. V.; GAZZARRINI, S.; FROMMER, W. B. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. **Plant and Soil**, v. 196, p. 191-199, 1997.
- WOOD, C. W.; REEVES, D. W.; HIMELRICK, D. J. Relationships between chlorophyll meter readings and leaf chlorophyll concentration, N status, and crop yield: a review. **Proceedings Agronomy Society of New Zealand**, v. 23, p. 1-9, 1993.
- WORTMANN, C. S.; KISAKYE, J.; EDJE, O. T. The diagnosis and recommendation integrated system for dry bean: determination and validation of norms. **Journal of Plant Nutrition**, v. 15, p. 2369-2379, 1992.
- WRAGE, N.; VELTHOF, G. L.; VAN BEUSICHEM, M. L.; OENEMA, O. Role of nitrifier denitrification in production of nitrous oxide. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1723-1732, 2001.
- XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão caupi de diferentes nacionalidades. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n.1, p. 25-33, 2006.
- YANG, P.; ZHANG, P.; LI, B.; HU, T. Effect of nodules on dehydration response in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 86, p. 29-34, 2013.
- ZAKHIA, F.; L'AJUDIE, P. D. Taxonomy of rhizobia. **Agronomie, EDP Sciences**, v. 21, n. 6-7, p. 569-576, 2001.
- ZILLI, J. É.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão caupi em Roraima. **Acta Amazônica**, Água Boa, v. 39, p. 749-758, 2009.
- ZILLI, J. É.; VALICHESKI, R. R.; RUMJANEK, N. G.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; FREIRE FILHO, F. R.; NEVES, M. C. P. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas desolo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 811-818, 2006.