

UFRRJ

INSTITUTO DE AGRONOMIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

TESE

**Seleção de Genótipos Mesoamericanos e Andinos de
Feijoeiro em Resposta à Inoculação com Rizóbio**

Adriano Moreira Knupp

2015



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

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS MESOAMERICANOS E ANDINOS
DE FEIJOEIRO EM RESPOSTA À INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO**

ADRIANO MOREIRA KNUPP

Sob a Orientação do Professor
Adelson Paulo de Araújo

e Coorientação do Pesquisador
Enderson Petrônio de Brito Ferreira

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor**, no
Curso de Pós-Graduação em
Agronomia, Área de Concentração em
Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2015

633.233

K74s

T

Knupp, Adriano Moreira, 1976-

Seleção de genótipos mesoamericanos e andinos de feijoeiro em resposta à inoculação com rizóbio / Adriano Moreira Knupp. – 2015.

119 f.: il.

Orientador: Adelson Paulo de Araújo.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo.

Bibliografia: f.94-111.

1. Feijão – Genética - Teses. 2. Feijão - Inoculação – Teses. 3. Feijão – Melhoramento genético - Teses. 4. Nitrogênio - Fixação – Teses. 5. Rizóbio – Teses. I. Araújo, Adelson Paulo de, 1963- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. III. Título.

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

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

ADRIANO MOREIRA KNUPP

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

TESE APROVADA EM 25/02/2015.

Adelson Paulo de Araújo. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Antonio Carlos de Souza Abboud. Dr. UFRRJ

Fábio Martins Mercante. Dr. Embrapa Agropecuária Oeste

Jean Luiz Simões de Araújo. Dr. Embrapa Agrobiologia

Rosângela Stralotto. Dra. Embrapa Solos

Ao saudoso Dr. Nand Kumar Fageria,
exemplo de profissionalismo,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Lani e João, pelo amor incondicional e incentivos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), por investir na minha formação.

À Embrapa Arroz e Feijão, por me liberar para a condução deste trabalho, e por toda a estrutura fomentada durante a condução dos experimentos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), por toda a formação acadêmica.

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo (CPGA-CS), pelo excelente período de formação propiciado.

Ao professor Dr. Adelson Paulo de Araújo, pela atenciosa orientação e ensinamentos.

Ao pesquisador Dr. Enderson Ferreira, pela coorientação e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Embrapa Agrobiologia, por toda a infraestrutura e corpo técnico competente, dispendidos na montagem e condução do experimento na Unidade.

À pesquisadora Dra. Rosângela Straliozzo, por todo o carinho, presteza e profissionalismo durante esse período de experimentos na Embrapa Agrobiologia.

Ao técnico Alderi Teixeira, por todo o empenho na condução do experimento em Seropédica (RJ).

Ao fantástico João Luiz Bastos, uma das raras pessoas que são capazes de colocar os problemas dos outros acima dos seus. Sua ajuda foi imprescindível nos períodos de coletas, no experimento na Embrapa Agrobiologia.

À Bárbara Zofolli e ao Rafael Sanches Pacheco, pela ajuda nas coletas do experimento na Embrapa Agrobiologia.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) de Ponta Grossa (PR), pela infraestrutura e oportunidade de desenvolver o experimento em suas instalações.

À Dra. Diva de Souza Andrade e ao Dácio Benassi, ambos do IAPAR, por todo apoio e inestimável cooperação na condução do experimento.

Aos técnicos Marcos Oliveira e Wilson Primo, da Embrapa Arroz e Feijão, também pelo apoio na condução dos experimentos.

Ao José Luiz Cabrera Díaz, agradeço por todo apoio logístico ao experimento em Ponta Grossa e por sua imensa capacidade de acolhimento.

À Ana Lúcia Faria e à Faustina Gonçalves (*in memoriam*), da biblioteca da Embrapa Arroz e Feijão, pela ajuda com os materiais bibliográficos.

À amiga, Sandra Santana de Lima, pelo apoio em vários momentos decisivos.

Aos membros da banca, por disporem de seus preciosos tempos para contribuir com este trabalho.

À sociedade brasileira, por financiar meus estudos. Espero um dia retribuir.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

Adriano Moreira Knupp nasceu em 05 de dezembro de 1976, na cidade de Nova Friburgo (RJ), filho de Lani Nogueira Moreira e João Geraldo Knupp. Coursou o ensino fundamental no Colégio Municipal Rui Barbosa, e o ensino médio no Colégio Estadual Jamil El-Jaick, – ambos localizados em sua cidade natal. Licenciou-se em Ciências Biológicas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em 2006. Durante a graduação, a partir de 2005, realizou estágio na Embrapa Agrobiologia, como bolsista de Iniciação Tecnológica da CAPES. Em março de 2006, ingressou no Mestrado em Biotecnologia Vegetal na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), com bolsa da CAPES, concluindo-o em 2008. Desde fevereiro de 2009, é Analista da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás (GO). Em março de 2012, ingressou no Doutorado no Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo na da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO GERAL

KNUPP, Adriano Moreira. **Seleção de genótipos mesoamericanos e andinos de feijoeiro em resposta à inoculação com rizóbio**. 2015, 119f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

O uso da diversidade em coleções de germoplasma de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pode prover materiais com maior contribuição da fixação biológica de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi identificar genótipos de feijoeiro, de origem mesoamericana e andina, provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, com potencial de obtenção de N₂ a partir da inoculação com rizóbios. A avaliação consistiu de duas triagens de 879 genótipos em casa de vegetação, e posteriormente quinze destes genótipos e duas cultivares comerciais foram avaliados em campo. Os experimentos em casa de vegetação possuíam delineamento em blocos casualizados com três repetições, nos quais foram avaliados 879 genótipos em resposta à inoculação com estirpes comerciais de *Rhizobium* (SEMIA 4077, SEMIA 4080, SEMIA 4088). A cultivar Ouro Negro foi utilizada como referência, e sementes pré-germinadas foram semeadas em potes (3 L) com areia e vermiculita estéreis. As plantas foram inoculadas sete dias após emergência (DAE), e solução de Norris sem N era adicionada semanalmente. Aos 35 DAE, foram determinados o número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo. Os percentuais de genótipos que superaram a referência foram de 21% em número de nódulos, 46% em massa de nódulos e 32% em massa de um nódulo. Foram selecionados 116 genótipos, que foram avaliados em novo experimento. Após análise conjunta dos dados obtidos na primeira e segunda fases para esses 116 genótipos, quinze genótipos foram selecionados. Estes quinze genótipos e as cultivares Pérola e Ouro Negro foram avaliados sob duas fontes de N, inoculação com rizóbios ou fertilização com 80 kg ha⁻¹ de N. Cinco experimentos foram conduzidos em Santo Antônio de Goiás (GO), Ponta Grossa (PR), e Seropédica (RJ), em delineamento em blocos ao acaso em parcelas subdivididas, com as fontes de N dispostas nas parcelas e os genótipos nas subparcelas. Foram avaliadas nodulação, biomassa e produtividade, e em alguns experimentos a contribuição da FBN via abundância natural de ¹⁵N e os teores de N-ureídos na seiva. Houve diferenças de desempenho entre genótipos e entre locais. Todos genótipos nodularam, mesmo quando receberam N mineral. Os mais eficientes na nodulação e na obtenção de N via FBN foram CNF 0011234, CNF 0011028, CNF 0011559 e PI 387865, andinos, e CNF 0011075, CNF 0011137, CNF 0011240, PI 325750, mesoamericanos. A abundância natural de ¹⁵N demonstrou que os genótipos mesoamericanos apresentaram maior contribuição da fixação do N₂. A maioria dos genótipos apresentou produtividades de grãos semelhantes às cultivares comerciais. As diferenças mais pronunciadas entre os genótipos e as cultivares foram detectadas no experimento de GO, no inverno de 2013, e as maiores semelhanças no inverno de 2014. A maioria dos genótipos não apresentou diferença de produtividade entre as duas fontes de N. Os genótipos sob adubação tiveram produtividades que variaram de 167 a 3567 kg ha⁻¹ e sob inoculação de 180 a 3307 kg ha⁻¹. Em ambas as fontes de N, as menores produtividades foram verificadas em PR as maiores em GO no inverno de 2014, refletindo a média geral obtida em cada localidade.

Palavras-chave: Diversidade. Melhoramento de plantas. Fixação biológica de nitrogênio.

GENERAL ABSTRACT

KNUPP, Adriano Moreira. **Selection of mesoamerican and andean common bean genotypes in response to rhizobial inoculation.** 2015, 119p. Thesis (Doctor Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

The use of the diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm collections can provide materials with higher contribution of biological nitrogen fixation. The aim of this study was to identify, in germplasm bank of Embrapa Rice and Beans, common bean genotypes of Mesoamerican and Andean origin with potential for obtaining N₂ by rhizobia inoculation. The evaluation consisted of two screenings of 879 genotypes in greenhouse. Further, 15 of these genotypes and two commercial cultivars were evaluated under field conditions. Greenhouse experiments were conducted in randomized block design with three replications in which 879 genotypes were evaluated in response to inoculation with commercial *Rhizobium* strains (SEMIA 4077, SEMIA 4080, SEMIA 4088). The cultivar Ouro Negro was used as reference. Pre-germinated seeds were seeded in 3 L pots with sterile sand and vermiculite. Plants were inoculated seven days after emergence (DAE), and sterile Norris solution without N was added weekly. The number of nodules, nodule dry weight and one nodule dry weight were determined 35 DAE. The percentage of genotypes that exceeded the reference was established, as 21% for number of nodules, 46% for nodule dry weight and 32% for one nodule dry weight. We selected 116 genotypes, which were evaluated in other experiment. A joint analysis of the data obtained in the first and second phases for these 116 genotypes was performed, and 15 genotypes were selected. These 15 genotypes and the commercial cultivars Pérola and Ouro Negro were evaluated at field conditions under two N sources, inoculation with rhizobia or fertilization with 80 kg N ha⁻¹. Five experiments were carried out in Santo Antônio de Goiás – GO, Ponta Grossa – PR and Seropédica – RJ. A split plot design in randomized complete block was used with N sources as main plots and genotypes as sub-plots. The nodulation, plant biomass, and grain yield were evaluated, and in some experiments the BNF contribution by ¹⁵N natural abundance technique and ureides sap content were also assessed. There were differences between genotypes and regions. All genotypes had nodules even under mineral N. The most efficient genotypes in nodulation and in obtaining N by biological fixation were CNF 0011234, CNF 0011028, CNF 0011559 and PI 387865, Andean genotypes, and CNF 0011075, CNF 0011137, CNF 0011240, PI 325750, Mesoamerican genotypes. The natural abundance of ¹⁵N technique showed that the Mesoamerican genotypes had higher contribution of N₂ fixation. Most genotypes showed similar grain yields to commercial cultivars. The most pronounced differences between the genotypes and cultivars were detected in the experiment in GO in 2013 winter and the greatest similarities in 2014 winter. Most of the genotypes did not have grain yield differences between the two N sources. The fertilized genotypes had grain yields ranging from 167 to 3567 kg ha⁻¹ and inoculated genotypes ranging from 180 to 3307 kg ha⁻¹. In both cases, the lowest values of grain yield were found in PR, and the highest values in the winter of 2014 in GO, reflecting the average yield obtained in each location.

Key words: Diversity. Plant breeding. Biological nitrogen fixation.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise de variância dos dados de nodulação (valores de quadrado médio) para número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtida na avaliação da cultivar Ouro Negro, que foi utilizada como referência nos plantios dos genótipos de feijoeiro em casa de vegetação.....	22
Tabela 2. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtidos da cultivar Ouro Negro, nos oito plantios em que foi utilizada como referência.....	22
Tabela 3. Análise de variância dos dados de nodulação (valores de quadrado médio) para número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtida na avaliação de 686 genótipos de feijoeiro, juntamente com a cultivar referência Ouro Negro, em casa de vegetação.....	23
Tabela 4. Identificação dos 116 genótipos selecionados em resposta à nodulação provocada por inoculação com <i>Rizhobium</i> em casa de vegetação.....	26
Tabela 5. Valores de quadrado médio da análise de variância dos dados de nodulação de 116 genótipos de feijoeiro, em duas etapas de avaliação em casa de vegetação.....	27
Tabela 6. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtidos para 116 genótipos de feijoeiro, nas duas etapas de avaliação em casa de vegetação.....	28
Tabela 7. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação de 15 genótipos de feijoeiro, selecionados após duas etapas de avaliação em casa de vegetação.....	30
Tabela 8. Algumas características verificadas em campo para os genótipos de feijoeiro utilizados nos experimentos posteriores, médias entre quatro experimentos, excetuando-se verão em Santo Antônio de Goiás (GO).....	31
Tabela 9. Resumo dos experimentos de campo para avaliação de 18 genótipos de feijoeiro, crescidos sob adubação nitrogenada e inoculação com rizóbios.....	41
Tabela 10. Exemplo de análise de variância dos dados de produtividade, obtida do experimento de Seropédica - RJ, com desdobramento das interações.....	44
Tabela 11. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6) coletadas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013. Dados transformados para raiz quadrada.....	45
Tabela 12. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	46
Tabela 13. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro, na floração (estádio R6), coletadas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	47

Tabela 14. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	48
Tabela 15. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 56 dias após plantio.....	49
Tabela 16. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 56 dias após plantio.....	50
Tabela 17. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas de feijoeiro, em experimento em campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 63 dias após plantio.....	51
Tabela 18. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação rizóbios, em Santo Antônio de Goiás-GO, no inverno de 2013, 63 dias após plantio.....	52
Tabela 19. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de $\delta^{15}\text{N}$ (‰), percentual de nitrogênio proveniente da FBN (Ndfa %) e nitrogênio derivado da FBN na parte aérea, obtidos de plantas de feijoeiro inoculadas com rizóbios, no período da floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	53
Tabela 20. Delta $\delta^{15}\text{N}$ (‰), percentual de nitrogênio proveniente da FBN (Ndfa %) e nitrogênio derivado da FBN na parte aérea de plantas de feijoeiro, no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	54
Tabela 21. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teor de N-ureído na seiva, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	55
Tabela 22. Teores de N-ureído na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	56
Tabela 23. Matriz de correlação entre os dados de nodulação e de contribuição de FBN pela técnica de diluição isotópica do ¹⁵ N e N-ureído, das plantas de feijoeiro inoculadas com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	56
Tabela 24. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 sementes e produtividade de grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	57

Tabela 25. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, de 18 genótipos crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	58
Tabela 26. Produtividade de grãos de 18 genótipos de feijoeiro crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.....	59
Tabela 27. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014. Dados transformados para raiz quadrada.....	59
Tabela 28. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	61
Tabela 29. Matriz de correlação dos dados de nodulação para as duas fontes de nitrogênio, adubação com (40 +40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, no experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	61
Tabela 30. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	62
Tabela 31. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	63
Tabela 32. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, aos 50 dias após plantio.....	63
Tabela 33. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 50 dias após plantio.....	65
Tabela 34. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas de feijoeiro, em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 57 dias após plantio.....	65
Tabela 35. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro, de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (80 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 57 dias após plantio.....	66
Tabela 36. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teores de N-ureído na seiva, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	67

Tabela 37. Teores de N-uréido na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	68
Tabela 38. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	71
Tabela 39. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no estágio de maturação, de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	71
Tabela 40. Produtividade de grãos de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.....	72
Tabela 41. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014). Dados transformados para raiz quadrada.....	73
Tabela 42. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	74
Tabela 43. Matriz de correlação dos dados de nodulação para as duas fontes de nitrogênio, adubação (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, no experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	75
Tabela 44. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6) coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	75
Tabela 45. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	76
Tabela 46. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teor de N-uréido nas seivas de plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	76
Tabela 47. Teores de N-uréido na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).....	78
Tabela 48. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de produtividade de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014), nos cinco genótipos que atingiram a fase de maturação.....	79
Tabela 49. Produtividade de grãos de cinco genótipos remanescentes de experimento abandonado no campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), verão (2013/2014).....	79

Tabela 50. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014. Dados transformados em raiz quadrada.....	79
Tabela 51. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), em 2014.....	81
Tabela 52. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teores de nitrogênio total e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014.....	81
Tabela 53. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), 2014.....	83
Tabela 54. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa de 100 sementes e de produtividade de plantas de feijoeiro, no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014.....	83
Tabela 55. Massa de 100 grãos e produtividade de grãos de 15 genótipos de feijoeiro crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), em 2014.....	85
Tabela 56. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014. Dados transformados em raiz quadrada.....	85
Tabela 57. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.....	86
Tabela 58. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014.....	87
Tabela 59. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica, em 2014.....	88
Tabela 60. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 sementes de plantas de feijoeiro, no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014.....	88
Tabela 61. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), 2014.....	89
Tabela 62. Produtividade de grãos de 18 genótipos de feijoeiro crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha ⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.....	90

Tabela 63. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de setembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.....	112
Tabela 64. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 27 de setembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.....	113
Tabela 65. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de outubro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.....	114
Tabela 66. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 01 de novembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.....	115
Tabela 67. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de dezembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.....	116
Tabela 68. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 09 de janeiro de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.....	117
Tabela 69. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 23 de janeiro de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.....	118
Tabela 70. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação em 20 de março de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.....	119

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Percentual de distribuição dos 686 genótipos que nodularam, mais a cultivar Ouro Negro, de acordo com o número de nódulos por planta (A), massa seca de nódulos por planta (B), massa seca de um nódulo (C) e índice relativo de nodulação (D), em experimentos em casa de vegetação. A coluna hachurada indica a posição da cultivar Ouro Negro, utilizada como genótipo referência pela boa capacidade de nodulação. Classes de distribuição baseadas nas diferenças obtidas pelo teste de médias.....24
- Figura 2.** Dispersão dos valores de número de nódulos x massa seca de nódulos dos 686 genótipos que nodularam, destacando-se a cultivar Ouro Negro e os 116 genótipos selecionados para a sequência de avaliação.....25
- Figura 3.** Dispersão número de nódulos x massa seca de nódulos dos 116 genótipos nas duas fases, destacando os 15 genótipos selecionados para avaliação em campo.....30
- Figura 4.** Sementes dos 15 genótipos selecionados para experimento em campo e das cultivares utilizadas como referência: Pérola, Ouro Negro e NORH54.....31
- Figura 5.** Precipitação total e temperatura média no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão em Santo Antônio de Goiás (GO), no período de condução do experimento de verão (2013/2014). Fonte: Embrapa Arroz e Feijão.....39
- Figura 6.** Precipitação total e temperatura média na estação experimental do IAPAR, em Ponta Grossa (PR), durante o período de condução do experimento. Fonte: Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR).....40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A Cultura do Feijoeiro	3
2.2. Origem e Diversificação do Feijoeiro	4
2.3. Distribuição Geográfica e Diversidade Genética do Feijoeiro	7
2.4. Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijoeiro	11
3. CAPÍTULO I	16
NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS MESOAMERICANOS E ANDINOS DE FEIJOEIRO EM CASA DE VEGETAÇÃO	16
3.1 RESUMO	17
3.2 ABSTRACT	18
3.3 INTRODUÇÃO	19
3.4. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.4.1 Primeira etapa: avaliação de 879 genótipos	20
3.4.2. Segunda etapa: avaliação de 116 genótipos	21
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
3.5.1 Primeira etapa: triagem de 879 genótipos	22
3.5.2 Triagem de 116 genótipos	27
3.6. CONCLUSÕES	32
4. CAPÍTULO II	33
RESPOSTA À INOCULAÇÃO DE GENÓTIPOS MESOAMERICANOS E ANDINOS DE FEIJOEIRO EM TRÊS LOCALIDADES BRASILEIRAS	33
4.1 RESUMO	34
4.2 ABSTRACT	35
4.3. INTRODUÇÃO	36
4.4. MATERIAL E MÉTODOS	37
4.4.1. Instalação dos experimentos	37
4.4.2 Avaliações	42
4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.5.1 Santo Antônio de Goiás (GO), inverno de 2013	45
4.5.2. Região Centro-Oeste no inverno de 2014	59
4.5.3. Santo Antônio de Goiás (GO), verão de 2013/2014	72
4.5.4. Ponta Grossa (PR)	79
4.5.5. Seropédica (RJ)	85
4.6. CONCLUSÕES	91
5. CONCLUSÕES GERAIS	92
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
8. ANEXOS	112

1. INTRODUÇÃO GERAL

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é originário das Américas, com evidências de que sua domesticação teria se iniciado após a formação de dois conjuntos gênicos, mesoamericano e andino (BITOCCHI et al., 2013). Diferentes abordagens moleculares indicam que ocorreram dois eventos distintos de domesticação, um para cada conjunto gênico, tendo o vale Oaxaca, no México, como provável início da domesticação do feijão na Mesoamérica, e o sul da Bolívia e norte da Argentina como início da domesticação denominada de Sul Americana (BITOCCHI et al., 2013). Recentemente, foi proposto que o local de origem do feijão seria o México. Os genótipos silvestres andinos teriam sido derivados dos genótipos mesoamericanos há cerca de 165 mil anos, com a domesticação paralela dos dois conjuntos gênicos há oito mil anos (GAUT, 2014).

O germoplasma de *Phaseolus* encontra-se conservado em coleções *ex-situ* ao redor do mundo, sob a forma de sementes, principalmente em bancos ativos e coleções de base, tendo sido relatados 261.963 acessos de *Phaseolus* ao redor do globo no ano de 2010 (FAO, 2010). A coleção mais importante de *Phaseolus* se concentra no Centro Internacional de Agricultura Tropical, na Colômbia, com mais de 36 mil acessos (CIAT, 2015). Já a principal coleção brasileira encontra-se no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás - GO, onde estão armazenados cerca de 17 mil acessos, sendo 1.600 silvestres andinos e mesoamericanos, cerca de 4,5 mil variedades crioulas, aproximadamente três mil oriundas do programa de melhoramento da Embrapa, e cerca de seis mil introduções provenientes de outras instituições.

O feijoeiro comum é uma planta que possui limitações quanto à fixação biológica de nitrogênio (FBN). Entre os fatores que limitam a FBN no feijoeiro, destacam-se a promiscuidade da nodulação com várias estirpes de rizóbio, o ciclo curto da planta, susceptibilidade às condições ambientais como temperatura e acidez e competição entre as bactérias inoculadas, e populações nativas de bactérias diazotróficas pouco eficientes (HARDARSON, 1993; HUNGRIA & VARGAS, 2000; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Apesar dos avanços obtidos em relação à recomendação de estirpes bacterianas adaptadas às condições de acidez, como inoculantes para a cultura do feijoeiro (HUNGRIA et al., 2000; 2003), a eficiência da FBN em feijoeiro ainda é considerada baixa. Porém, se for avaliada a importância desta cultura para a agricultura brasileira, incrementos na contribuição da FBN podem proporcionar economia na produção, além de menor impacto ambiental.

A técnica da inoculação nas sementes com bactérias diazotróficas nodulíferas tem sido utilizada em leguminosas cultivadas para consumo humano, tais como soja, amendoim, feijão-caupi e feijão-comum; em leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas; naquelas utilizadas como adubos verdes; em sistemas de plantio consorciado e em rotação de culturas. Além disso, nas últimas décadas, tem-se observado avanços nos estudos sobre a aplicabilidade da FBN em gramíneas, como arroz, milho e forrageiras, com a utilização de bactérias diazotróficas rizosféricas e endofíticas. Isto resultou no estabelecimento de um mercado de inoculantes com grande potencial econômico no Brasil. No entanto, mesmo com o crescimento deste mercado, a utilização biotecnológica do processo ainda se mostra restrita, visto que, atualmente, 95% dos inoculantes comercializados são para a cultura da soja, sendo 30 a 40% importados (ANPII, 2011).

O processo de domesticação do feijoeiro, baseado principalmente em características relacionadas à qualidade dos grãos, produtividade e porte da planta, favoreceu a perda de genes e à ocorrência de um estreitamento da variabilidade genética (GENTRY, 1969). Além disso, tendo os programas de melhoramento do feijoeiro sido desenvolvidos sob condições de

adubação mineral, relegando a capacidade de obtenção de N desta leguminosa via FBN (MERCANTE et al., 1999), pode ter ocorrido perda de diversidade no tocante a genes relacionados com o processo de FBN na planta.

A observação de variabilidade genética entre materiais silvestres e cultivares comerciais de feijoeiro sob condições de fixação biológica de N₂ (ARAÚJO et al., 1997; 1998) evidencia a necessidade de uma maior exploração da diversidade genética entre materiais contrastantes de feijoeiro. Sendo assim, o uso de materiais de coleções nucleares podem ser fontes de genes que podem ser explorados para o desenvolvimento de linhagens específicas que respondam bem à FBN, além de permitir testar materiais oriundos das duas regiões de domesticação do feijoeiro.

Em programas de melhoramento, a exposição dos materiais a diferentes condições ambientais é de suma importância para a exploração do potencial genético, pois é desejável que as plantas não só possuam as características de interesse - como produtividade, por exemplo - mas que apresentem estabilidade para diferentes ambientes (OMAR et al., 1999). Desse modo, um trabalho de pré-melhoramento, no qual haja a possibilidade de avaliações dos genótipos em diferentes ambientes, amplia as informações e pode favorecer a uma adequada sugestão de possíveis genitores.

A perspectiva de exploração do patrimônio genético que se encontra nas coleções do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão levou à formulação da hipótese de que há diferenças entre genótipos de feijoeiro nas quantidades de N obtidas via fixação biológica, e que estas diferenças estão associadas à região de domesticação destes genótipos.

Em conformidade com essa assertiva, o objetivo deste trabalho foi identificar genótipos de feijoeiro de coleções nucleares do banco de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, com potencial de obtenção de N atmosférico a partir da inoculação com rizóbios, identificando possíveis genitores para o uso no melhoramento da planta voltado para aumento da contribuição do N de origem simbiótica.

Os resultados da tese são apresentados em dois capítulos. O primeiro capítulo intitulado “Nodulação em genótipos mesoamericanos e andinos de feijoeiro em casa de vegetação” teve por objetivo avaliar a diversidade genotípica da capacidade de nodulação, sob ausência de suprimento de N, em materiais dos conjuntos gênicos de diversidade andino e mesoamericano do feijoeiro, presentes em duas coleções nucleares da Embrapa Arroz e Feijão. No segundo capítulo, intitulado “Resposta à inoculação de genótipos mesoamericanos e andinos de feijoeiro em três localidades brasileiras”, o objetivo foi avaliar, em condições de campo em diferentes regiões climáticas do Brasil, a resposta de genótipos de feijoeiro dos conjuntos gênicos andino e mesoamericano, previamente avaliados em casa de vegetação, à inoculação com estirpes comerciais de rizóbio, em comparação à adubação nitrogenada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Cultura do Feijoeiro

O feijoeiro é uma das leguminosas mais cultivadas ao redor do mundo, e tem uma importância ímpar no fornecimento de proteína, principalmente para as populações latinoamericanas e africanas (BROUGHTON et al., 2003).

O Brasil é, atualmente, o terceiro maior produtor de feijão no mundo, ficando atrás de Índia e Myanmar (FAO, 2013). A safra brasileira entre os anos de 2014 e 2015 foi oriunda de uma área plantada de 3,24 milhões de hectares, com produção de 3,25 milhões de toneladas, resultando em uma produtividade média de 1004 kg ha⁻¹ (CONAB, 2014) - índice considerado baixo. Nos últimos anos, o Brasil vem apresentando perdas de produção em função de diversas adversidades, sobretudo climáticas, o que inclui secas na região Nordeste e chuvas intensas na região Sul, culminando com a necessidade de importação deste grão da Argentina e da China para o consumo interno (CONAB, 2014).

O feijão é cultivado em todas as regiões do Brasil, com a região Nordeste possuindo as maiores áreas ocupadas com a cultura e a menor produtividade. Por sua vez, a região Centro-Oeste, que representa menos de 15% da área plantada, apresenta a maior produtividade entre as regiões (CONAB, 2014). Tais dados evidenciam a importância estratégica desta leguminosa para o país, como alimento para a maioria da população, e como contribuinte da manutenção dos trabalhadores no campo, uma vez que a sua produção é baseada na agricultura familiar. A manutenção do agricultor no campo ajuda a evitar o êxodo rural e, conseqüentemente, a diminuir as pressões sobre os grandes centros urbanos, fato recorrente em décadas passadas (CAMARANO & ABRAMOVAY, 1999).

O alto custo de produção e os impactos ambientais provenientes do uso de insumos nitrogenados não condizem com a produção agrícola familiar; e alternativas vêm sendo buscadas no intuito de minimizá-los, seja com a adoção da adubação verde e diferentes manejos do solo (OLIVEIRA et al., 2002; FERREIRA et al., 2011), ou com a incessante busca por melhores respostas no processo de FBN.

Na produção do feijoeiro comum, os maiores benefícios que poderão advir da FBN influenciarão mais fortemente os cultivos de primeira e segunda safras, que são baseados principalmente na agricultura familiar e responsáveis por 57% e 37% da produção nacional, respectivamente (IBGE, 2006). Apesar dessas duas safras concentrarem mais de 70% da produção nacional, a produtividade é muito baixa, de 1005 kg ha⁻¹ na primeira safra, e 876 kg ha⁻¹ na segunda, em contraste com a produtividade alcançada na terceira safra, que chega a 1284 kg ha⁻¹ (CONAB, 2014).

As diferenças de produtividade entre as safras ocorrem em função do uso da irrigação e da aplicação de fertilizantes, tendo em vista que na terceira safra são usados cerca de 80% de todo o fertilizante nitrogenado gasto na produção do feijoeiro comum, correspondendo a 4,3 mil toneladas de N, enquanto na primeira e segunda safras estima-se que 1,1 mil toneladas de N sejam utilizadas (IBGE, 2010). Considerando o custo da tonelada de ureia em cerca de R\$ 1,4 mil reais (cotação em janeiro de 2015), são gastos na terceira safra o equivalente a 9,5 mil toneladas de ureia, correspondendo a R\$ 13,3 milhões, enquanto que nas duas primeiras safras são gastos em torno de R\$ 2,5 milhões. Considerando as baixas produtividades das primeira e segunda safras, além da quantidade de fertilizante nitrogenado utilizada na terceira safra, a FBN poderia contribuir tanto com incremento em produtividade das primeiras safras, quanto para a redução do uso de fertilizante industrial na terceira safra.

Apesar da importância da cultura do feijoeiro, seu cultivo ocorre, em sua maioria, sem a aplicação de insumos nitrogenados e em solos carentes de N (KASCHUK et al., 2006). Para fins de exemplificação, considerando que, se em toda área atual de 3,27 milhões de hectares plantada com feijoeiro no Brasil (CONAB, 2015), fosse adotada a adubação de 100 kg ha⁻¹ de N, isto acarretaria em gastos anuais de cerca de R\$ 457 milhões em fertilizantes nitrogenados. Esses valores demonstram o potencial que existe para redução do custo de produção ao se adotar a FBN como alternativa total ou parcial de obtenção de N. Consequentemente, para o pequeno produtor, a adoção da FBN poderia incorrer em aumento de produtividade sem grandes investimentos financeiros, uma vez que os custos dos inoculantes são baixos.

O estímulo à agricultura familiar é prioritário no Brasil, como mecanismo gerador de renda e de fixação do trabalhador no campo. A baixa viabilidade econômica para que o pequeno produtor adquira os insumos nitrogenados favorece ao estímulo à FBN para obtenção de N pelo feijoeiro comum, possibilitando uma agricultura menos impactante ao meio ambiente e menos onerosa do ponto de vista financeiro, com possível incremento de produtividade pelos produtores, não usuários de insumos, que passem a utilizar a inoculação.

2.2. Origem e Diversificação do Feijoeiro

O trabalho pioneiro de Vavilov, em 1926, sobre a origem das plantas cultivadas (VAVILOV, 1993) já listava a região mesoamericana como centro de origem do feijoeiro, embora, posteriormente, os centros de Vavilov tenham sido entendidos como centros de diversidade (HARLAN, 1971; 1975). Por sua vez, Gentry (1969) argumentou que Vavilov se baseou na enorme diversidade encontrada para o feijoeiro na América do Norte para estabelecer a Mesoamérica como centro de origem, mas que faltou a obtenção de um progenitor silvestre em sustento dessa argumentação. Em outro estudo, no qual foi utilizada a técnica de datação do ¹⁴C, foi proposto que o México teria sido o local de domesticação do feijoeiro há cerca de sete mil anos, e as diferenças nas datações encontradas dentro da Mesoamérica sugeriram que esse processo ocorreu de forma independente na região a partir de um ancestral que foi muito difundido e polimórfico (KAPLAN, 1965). Evidências de morfologia comparada, distribuição geográfica, ecologia, relação genética e história arqueológica foram a base para Gentry (1969) sugerir que os genótipos silvestres seriam os progenitores do feijão americano há cerca de mil anos. A revisão de Broughton et al. (2003) segue essa tendência e cita que a provável transição entre a forma selvagem de feijão para as formas cultivadas tenha se iniciado entre sete mil e cinco mil anos atrás, além de indicar que a espécie basal de *Phaseolus* seria *P. microcarpus*.

Os achados de *Phaseolus vulgaris* e *Phaseolus lunatus* domesticados na região intermontana dos vales peruanos, datados entre 7,68 e 10 mil anos antes do presente, sustentaram a proposição de que se cultivava feijão nesta região desde os anos 5500 e 8000 antes de Cristo, de forma simultânea (KAPLAN et al., 1973).

Essa longevidade do cultivo de *Phaseolus vulgaris* na região sulamericana, proposta por Kaplan et al. (1973), foi utilizada por Berglund-Brücher & Brücher (1976) em defesa de que *Phaseolus aborigineus* Burk. seria um ancestral sulamericano do feijoeiro comum. Berglund-Brücher & Brücher (1976) relataram expedições dos anos 1950 e 1960 nas quais se observou que famílias de mestiços e índios utilizavam o *P. aborigineus* como fonte de alimento para estoque e consumo. Após várias expedições por todo o continente sulamericano, foi estabelecido um “arco de distribuição” que se estendeu por cinco mil km, numa faixa de altitude de 1000 a 2800 m pelas encostas orientais dos Andes. Para Berglund-Brücher & Brücher (1976), o início da domesticação poderia ser explicado a partir dos índios

seminômades coletores, que possivelmente recolhiam os feijões selvagens e os semeados em torno dos locais de moradia de sua tribo, por diferentes gerações e em diferentes lugares, ao longo desse “arco de distribuição”.

Baseado nos registros botânicos e arqueológicos até então, Kaplan (1981) havia sugerido três possibilidades de conclusões a que se poderia chegar com essas informações sobre a origem do feijoeiro:

a) Assim como sugerido por Gentry (1969), o feijoeiro teria sido domesticado por volta de sete mil anos atrás e se dispersado para a América do Sul via migrações tribais. Entretanto, o baixo registro de fósseis de feijoeiro domesticado na Mesoamérica, contrastando com o já obtido para a América do Sul, desfavorecia essa afirmação.

b) Em contraponto à anterior, seria a origem Sul Americana e introdução na América do Norte, justamente devido aos restos arqueológicos de feijões domesticados serem mais expressivos na América do Sul do que na Mesoamérica, e mais correlacionados com os locais de registro das formas silvestres.

c) Existiam, até então, evidências que poderiam supor a domesticação em eventos distintos na América do Sul e Mesoamérica, com genótipos arqueológicos diferentes entre as duas regiões e dados que sustentavam a ausência de transporte e intercâmbio entre as regiões. Como exemplo, é possível citar o fato de os vestígios de feijão comum na costa seca do Peru não serem anteriores a 2500 anos (KAPLAN, 1965) e não serem encontrados na costa Valdívia no Equador, mais antigos do que 4760–75 antes do presente.

A avaliação da domesticação do feijoeiro através da variabilidade das faseolinas entre populações selvagens e crioulas demonstrou que as raças mesoamericanas foram caracterizadas por apresentarem predomínio de faseolina tipo “S” e sementes pequenas. Já as raças andinas apresentaram ausência de faseolina tipo “S” e sementes grandes, sugerindo a existência de dois centros primários de domesticação (GEPTS et al., 1986). Um estudo apenas com raças mesoamericanas, avaliando a diversidade de feijão silvestre e domesticado, apresentou padrões similares de AFLP, sugerindo um evento de domesticação mesoamericano (PAPA & GEPTS, 2003). Para as raças andinas, no entanto, diferenças morfoagronômicas de aloenzimas e tipos de faseolinas (SINGH et al., 1991a) haviam sido utilizadas a favor de uma interpretação para múltiplos eventos de domesticação, fato contrariado por Beebe et al. (2001), que, baseados em padrões de distribuição geográficas e similaridades em perfis de AFLP, sugeriam, para as raças andinas, a origem a partir de um único evento de domesticação.

Durante os anos de pesquisa evolutiva do feijoeiro comum, foi se tornando consensual o fato de existir duas principais zonas de influência na domesticação desta leguminosa: a região mesoamericana e a andina. Trabalhos mais antigos, utilizando-se de diversos marcadores bioquímicos e moleculares em populações silvestres e cultivadas de *Phaseolus*, sugeriram que estes seriam os dois centros principais de domesticação e diversidade (GEPTS & BLISS, 1986; KOENIG & GEPTS, 1989; SINGH et al., 1991b). Porém, mais recentemente, com a utilização de sequências da proteína faseolina (*Phs*), avaliando-se uma amostra arqueológica e dez amostras modernas, Freitas (2006) sugeriu que o feijoeiro possui um evento evolutivo de deriva gênica a partir de um centro de origem e múltiplos centros de diversidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Rossi et al. (2009), que apontaram, a partir de análises de perfis de AFLP, dois eventos distintos de domesticação. Por conta do grande estrangulamento na diversidade da população andina selvagem antes da domesticação, os autores sugeriram, então, que o centro de origem do feijoeiro teria sido a Mesoamérica.

A partir da análise combinada de dados morfológicos, agrônômicos e moleculares, o conjunto gênico do feijão comum foi organizado em três raças mesoamericanas: Durango, Jalisco, Mesoamérica; e três raças andinas: Nueva Granada, Peru e Chile (SINGH et al.,

1991a). Entretanto, com a utilização de marcadores moleculares RAPD e em função das diferenças apresentadas em relação à resistência à antracnose, à ferrugem, ao mosaico comum e ao hábito de crescimento, a raça Mesoamérica foi subdivida em M1 e M2 (BEEBE et al., 2000). Os resultados indicavam ainda que as raças Durango e Mesomericana poderiam ser subdivididas em duas sub-raças e, além disso, uma raça distinta foi separada a partir da raça Jalisco e nomeada Guatemala, já que acessos de plantas de feijoeiro com hábito escalador, pertencentes ao germoplasma guatemalteco, não se agruparam em nenhuma das três raças (BEEBE et al., 2000).

Algumas características apresentam-se bem distintas entre os conjuntos gênicos mesoamericanos e andinos, dentre as quais foram relatadas o tamanho e forma do folíolo e da bractéola e o tamanho das sementes (SINGH et al., 1991a). O conjunto gênico mesoamericano é constituído por raças com sementes pequenas, cujo peso de 100 sementes não chega a atingir 25 g, com cores muito diversificadas, e todos os tipos de hábitos de crescimento. Em contrapartida, o conjunto andino possui raças com sementes médias, que atingem de 25 a 40 g por 100 sementes; e sementes grandes, onde 100 sementes pesam mais de 40 g. Essas plantas apresentam hábitos de crescimento I, II, III (GEPTS, 1988; SINGH et al., 1991a). Para Kaplan (1981), a sobreposição de habitats pode ter favorecido a hibridação entre *P. coccineus* silvestres e espécies domesticadas de *P. vulgaris*, permitindo o incremento no tamanho das sementes das populações originadas.

Um estudo com a utilização de marcadores microssatélite (SSRs) para 349 acessos de feijoeiro, domesticados e ancestrais silvestres, dos conjuntos gênicos mesoamericano e andino, corroborou com trabalhos anteriores no que tange aos dois eventos de domesticação distintos, além de possuir correspondência com os resultados de trabalhos anteriores que chegaram a conclusões semelhantes baseados em características morfológicas e geográficas (KWAK & GEPTS, 2009). Neste mesmo trabalho, Kwak & Gepts (2009) sugerem níveis semelhantes de diversidade entre os conjuntos mesoamericanos e andinos, em conformidade com o obtido por Blair et al. (2006). Entretanto, trabalhos que utilizaram a técnica AFLP demonstraram maior diversidade no conjunto gênico mesoamericano em comparação com o conjunto andino (PAPA & GEPTS, 2003; ROSSI et al., 2009).

A avaliação da diversidade nucleotídica comprovou clara distinção entre os conjuntos gênicos relacionados com a Mesoamérica e os Andes, com maior diversidade do material mesoamericano (BITOCCHI et al., 2012). Entretanto, a distribuição ancestral não fortalece as observações anteriores baseadas na distribuição das faseolinas, e os haplótipos norte peruanos-equatorianos foram estreitamente relacionados com os mesoamericanos e frequentemente separados da maioria dos demais andinos, suportando a sugestão da origem mesoamericana do feijão comum (BITOCCHI et al., 2012). Além disso, a identificação de quatro grupos genéticos distintos, com diferentes relações com os conjuntos silvestres dos Andes e região norte do Peru e Equador, sugere que houve diferentes eventos de migração para esses dois locais a partir das populações mesoamericanas (BITOCCHI et al., 2012). Mais de 40 anos depois, tais resultados suportam o que foi publicado por Gentry em 1969, que sugeria tanto a origem mexicana de *Phaseolus vulgaris*, baseado em dados arqueológicos que indicavam o cultivo do feijão há sete mil anos, quanto à migração das sementes através de tribos que cruzavam a linha do Equador (GENTRY, 1969).

O conjunto gênico da região mesoamericana obteve duas especulações, fundamentadas em análises moleculares, para a área geográfica de domesticação do feijoeiro comum. Baseados em dados obtidos por marcadores microssatélites SSR, Kwak et al. (2009) propuseram a domesticação do feijoeiro a partir da bacia dos rios Lerma e Grande de Santiago no Centro-Oeste do México, sendo contrariados pelo trabalho de Bitocchi et al. (2013), que sugeriu a região do vale Oaxaca, no México, como berço da domesticação do feijoeiro na Mesoamérica. Bitocchi et al. (2013) também fizeram a mesma avaliação em materiais do

conjunto gênico da região andina e indicaram que a domesticação nessa região teria acontecido no sul da Bolívia e norte da Argentina. Em observação semelhante, Beebe et al. (2001), sugeriram a zona oriental da Bolívia e o norte da Argentina, a partir da análise de perfis de AFLP, porém, contrariando a proposta de Chacón et al. (2005) que, baseada em genes polimórficos de DNA de cloroplasto, propunha a domesticação a partir do centro-sul do Peru.

A proposta mais recente é a de que o local de origem do feijão seja o México e que os genótipos silvestres andinos tenham sido derivados dos genótipos mesoamericanos há cerca de 165 mil anos, com a domesticação paralela dos dois conjuntos gênicos tendo ocorrido há 8000 anos (GAUT, 2014).

2.3. Distribuição Geográfica e Diversidade Genética do Feijoeiro

O feijão comum é encontrado em todos os continentes do mundo - com exceção da Antártica -, principalmente como feijão em grão e feijão-de-vagem (GEPTS, 1998). As formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* se distribuem por regiões de média altitude neotropicals e subtropicals, estendendo-se do norte do México até o nordeste da Argentina (GEPTS & DEBOUCK, 1991). Como apenas uma pequena fração do feijoeiro silvestre foi domesticada, tal fato se refletiu na estreita base genética daquele que atualmente é comercializado (GEPTS et al., 1986). Essa perda de diversidade genética foi constatada, via análises de perfis de M13 DNA, para o feijoeiro mesoamericano e andino (SONNANTE et al., 1994).

O processo de domesticação do feijão na Mesoamérica provocou uma grande redução na diversidade genética, com uma perda global de diversidade de 72%, enquanto para o conjunto gênico andino foi observada uma redução três vezes menor (BITOCCHI et al., 2013). A explicação mais provável para os diferentes níveis de redução da diversidade no germoplasma domesticado é que a domesticação nos Andes surgiu de germoplasma selvagem, que, em contraste com o germoplasma mesoamericano, foi altamente empobrecido em variabilidade genética, como resultado de um gargalo na Cordilheira dos Andes antes da domesticação (ROSSI et al., 2009; NANNI et al., 2011; BITOCCHI et al., 2012).

A domesticação do feijoeiro teria se iniciado após a formação dos dois conjuntos gênicos, mesoamericano e andino, e essa estrutura é evidenciada tanto na forma silvestre como na domesticada (BITOCCHI et al., 2013). Os autores concluíram que ocorreram dois eventos distintos de domesticação - um para cada conjunto gênico -, tendo o vale Oaxaca, no México, como provável origem da domesticação do feijão na Mesoamérica, e o sul da Bolívia e norte da Argentina como origem da domesticação, que foi chamada de Sul Americana (BITOCCHI et al., 2013).

Com a técnica de microssatélites por fluorescência e SSR, foi realizada a análise de 104 genótipos silvestres de feijoeiros representativos do banco de germoplasma do CIAT, sendo possível a identificação de cinco grupos ou conjuntos gênicos de acordo com a distribuição geográfica: Mesoamericano (Mexicano); Guatemalteco; Colombiano; Norte-Equatoriano-Peruano e Andino (BLAIR et al., 2012a). Os autores confirmam o que já vem sendo discutido pela comunidade científica a respeito dos dois extremos de domesticação do feijoeiro: os conjuntos gênicos mesoamericano e andino, considerados centros primários de domesticação. A proposta de cinco conjuntos gênicos, no entanto, surge em função de que os sugeridos conjuntos gênicos Colombiano e Guatemalteco se apresentaram distintos, tanto em relação ao Mesoamericano quanto ao Andino (BLAIR et al., 2012a). Por sua vez, o conjunto gênico Norte-Equatoriano-Peruano aproxima-se mais do conjunto gênico Mesoamericano do que o Andino, o Colombiano ou Guatemalteco. O conjunto gênico Norte-Equatoriano-Peruano é sugerido também como resquíio das primeiras migrações do feijão silvestre para a

América do Sul (BITOCCHI et al., 2012). Há concordância com o trabalho de Rossi et al. (2009), em relação à proposição de um conjunto gênico Colombiano.

Blair et al. (2012a) também fazem dois apontamentos passíveis de serem estudados futuramente. Segundo os autores, as raças cultivadas da Guatemala podem ser frutos de introgressão entre as subpopulações silvestres da Mesoamérica, com raças cultivadas do norte da América do Sul, ou então, que seja um terceiro evento independente de domesticação.

Além dos estudos sobre a origem do feijoeiro, as análises baseadas em perfis de faseolinas tiveram papel fundamental no desenvolvimento de teorias sobre a diversificação e distribuição geográfica do feijoeiro. Gepts et al. (1988) avaliaram os padrões de faseolinas em cultivares americanas e, para as cultivares sulamericanas, representadas por quatro amostras da Venezuela e 72 do Brasil, demonstraram que 60% apresentaram faseolina do tipo “S”. Todas as quatro amostras venezuelanas apresentaram o tipo “S”, e eram sementes pequenas e pretas, enquanto nas amostras brasileiras houve certo equilíbrio entre o tipo “S” e o tipo “T” - este último predominante nas regiões de Minas Gerais e Santa Catarina (GEPTS et al., 1988). A predominância da faseolina tipo “S” reforçava a ideia da influência mesoamericana nos genótipos dessa região. Tendo em vista a existência de cultivares com sementes pequenas e faseolinas tipo “S”, e também cultivares com sementes grandes e faseolina tipo “T”, Gepts & Bliss (1988) sugeriram duas rotas de introdução do feijão comum no Brasil. A primeira rota, resultando na introdução de vários tipos de sementes a partir do centro mesoamericano, teria se iniciado no México, seguido pela costa do Caribe até a Colômbia, Venezuela e, eventualmente, o Brasil, e consistiria de sementes pequenas e pretas, e pequenas e marrons claras. Já a segunda rota poderia ter introduzido as sementes grandes com faseolina tipo “T” nos Andes, com as sementes desse tipo no Brasil derivadas das andinas (GEPTS & BLISS, 1988).

A avaliação genética e por marcadores moleculares de 279 variedades crioulas brasileiras revelou que estas apresentam menor diversidade genética quando comparadas com os genótipos provenientes dos centros primários de diversidade (BURLE et al., 2010). Os resultados revelaram clara distinção entre os conjuntos gênicos mesoamericano e andino, e que, apesar de haver representação de ambos os conjuntos gênicos nas amostras brasileiras, a influência mesoamericana é quatro vezes maior do que a andina (BURLE et al., 2010).

Na Bolívia, por sua vez, quando se avaliou, por marcadores microsatélites fluorescentes, a diversidade genética de 174 acessos de cinco espécies de *Phaseolus* (*P. vulgaris*; *P. lunatus*; *P. coccineus*; *P. augustii*; *P. bolivianus*), os resultados indicaram que os acessos são derivados do conjunto gênico andino e que ocorreu a formação de um grupo disperso de acessos de origem mesoamericana (BLAIR et al., 2012b). Os grupos classificados como de origem andina foram divididos em três raças: Peru subgrupo I, com sementes de cores escuras, algumas salpicadas e outras mosqueadas com as cores preta e vermelha, cores associadas com feijões rasteiros (*weedy*); Peru subgrupo II, com sementes bicolors ou de cores claras; e raça Nova Granada, com sementes alongadas e mosqueadas (BLAIR et al., 2012b). Além disso, as análises por microsatélites permitiram distinguir as espécies dentro do gênero e identificaram relação mais próxima entre *P. vulgaris* e *P. coccineus* do que entre *P. vulgaris* e *P. lunatus* ou seus parentes selvagens, *P. augustii* e *P. bolivianus* (BLAIR et al., 2012b).

Quando foram avaliadas oito variedades caribenhas, também se observou que as faseolinas tipo “S” e “T” apareceram com maior incidência do que a tipo “S”. As cultivares caribenhas com sementes largas e avermelhadas apresentavam faseolinas tipo “T”, enquanto as sementes pequenas, pretas ou marrons, o tipo “S” (GEPTS et al., 1988). Em trabalho mais recente, via marcadores moleculares e análises morfológicas, foi verificado um incremento da influência andina sobre os genótipos caribenhos no sentido oeste para leste na região (DURÁN et al., 2005). Enquanto no material proveniente do Haiti 96,7% apresentavam o

alelo para faseolina tipo “S”, para a República Dominicana essa observação correspondeu a 18,8%, e em Porto Rico 4,3% (DURÁN et al., 2005). As variedades crioulas caribenhas foram agrupadas em dois grupos morfológicos: Um com características mesoamericanas, que incluiu todas as linhas com sementes vermelhas mosqueadas do Haiti e três raças provenientes da República Dominicana, coletadas perto da fronteira do Haiti; e o segundo grupo, com características andinas, abrangeu todas as linhas de Porto Rico e as linhas restantes da República Dominicana (DURÁN et al., 2005). Os polimorfismos apresentados pelos perfis de faseolina e RAPD formaram três grupos: um correspondendo ao mesoamericano obtido, com dados morfológicos; um outro correspondendo ao agrupamento morfológico andino; e um terceiro com materiais andinos aproximados aos mesoamericanos, que os autores utilizaram para sugerir introgressão (DURÁN et al., 2005).

GEPTS & BLISS (1988) verificaram que a Península Ibérica apresentou alta frequência de faseolinas tipo “C” (57%), considerada similar à observada no Chile, e sugeriram adaptabilidade dos genótipos chilenos ao fotoperíodo ibérico. Outra hipótese teria sido a introdução das cultivares atuais do Chile a partir da Península Ibérica (GEPTS & BLISS, 1988). A avaliação de 109 cultivares da Península Ibérica revelou que 43% apresentavam faseolina tipo “C”, 30% o tipo “T”, 26% o tipo “S” e 1% o tipo “H”. As sementes que apresentavam faseolina tipo “C” eram vermelhas a púrpuras, e pequenas ou alongadas; o tipo “T” aparecia em sementes ovaladas, brancas, grandes e alongadas. Já as sementes grandes achatadas, bem como as pequenas e alongadas, e pequenas e arredondadas, todas brancas, apresentavam faseolinas tipo “S”. Os acessos com sementes cremes e estrias vermelhas exibiram faseolinas tipo “T” ou “C” (GEPTS & BLISS, 1988). Essa alta frequência de faseolina tipo “C” esteve presente também quando foram avaliadas 88 variedades crioulas de Portugal, em que a faseolina tipo “C” estava presente em 40,6% dos acessos, e o tipo “T” em 35,5% (RODIÑO et al., 2001). Por sua vez, o tipo “S” foi encontrado em 12,3% do material, e o tipo B em 7,5%, enquanto o tipo “H” esteve presente em 3,8%. A maior frequência observada para os tipos “C” e “T” de faseolinas sugere que os grãos portugueses teriam origem provavelmente na região andina da América do Sul (RODIÑO et al., 2001).

Rodiño et al. (2003) avaliaram características morfológicas, agronômicas e bioquímicas em 286 variedades crioulas da Espanha e 102 de Portugal, e verificaram que 74,7% tinham uma origem andina, 16,8% origem mesoamericana e 8,4% tinham misturas de sementes ou eram recombinantes entre os dois conjuntos gênicos. Os tipos de faseolinas andinas foram mais frequentes, com 36% dos acessos apresentando o tipo “T”. O tipo “C” apareceu em 22% e o tipo “H” em 21% dos acessos; e as faseolinas do tipo “S” e “B”, presentes em acessos de origem mesoamericanos, apareceram em 19% e 2% dos acessos, respectivamente. As características morfológicas mais significativas para identificar a origem andina ou mesoamericana dos acessos foram: tamanho e forma dos folíolos terminais, as bractéolas das flores, as sementes secas, presença ou ausência de faixas na base externa da flor e posição da ponta da vagem (RODIÑO et al., 2003). Rodiño et al. (2003) sugerem que a origem Andina dos acessos europeus possa ter ocorrido pelo fato desses genótipos serem mais capazes de adaptação ao frio do oeste europeu e aos invernos curtos.

Ao norte de Portugal, na região cercada pela barreira montanhosa de Barroso, Peneda-Gerês e do Marão, a diversidade genética de populações nativas de feijão pode ter sido mantida devido ao isolamento geográfico (COELHO et al., 2009). Em 20 acessos crioulos dessa localidade, foram realizadas caracterização agronômica, análise química para o teor de proteínas cruas e análise de diversidade genética com marcadores microssatélites. Os resultados indicaram a formação de dois agrupamentos distintos, um com 14 acessos e outro com quatro acessos, e outros dois formaram grupos isolados (COELHO et al., 2009). Porém, apesar do estudo demonstrar, por microssatélites, a existência de diversidade genética, não foi realizada avaliação da relação com genótipos andinos e mesoamericanos.

Em sua revisão, De Ron et al. (2010) afirmaram que os estudos baseados na morfologia de plantas e sementes, perfis de faseolinas e isoenzimas, e marcadores microssatélites, indicam que o nível da variação genética no feijão comum não sofreu erosão desde sua introdução na Península Ibérica, e que houve diferentes pressões seletivas sobre o feijão no decorrer de 500 anos de introdução do material, de acordo com a preferência e cada localidade, demonstrando clara influência de ambos os ancestrais, andino e mesoamericano, na Península Ibérica (DE RON et al., 2010).

Quando Gepts & Bliss (1988) analisaram 124 amostras da Europa Ocidental para o teor de faseolina, verificaram que 72% das cultivares exibiram o tipo “T” de faseolina, 21% o tipo “S”, e 7% o tipo “C”. No que tange à relação da alta frequência de faseolina tipo “T” no Leste Europeu, foi sugerido que os genótipos originários dos Andes se adaptariam melhor que os mesoamericanos ao frio e ao verão curto, ou que a seleção tenha se dado em função da escolha de materiais para consumo da vagem, muito comum na região (GEPTS & BLISS, 1988).

Angioi et al. (2010) utilizaram marcadores microssatélites para avaliar a diversidade e a estrutura genética de uma coleção europeia de variedades crioulas de *P. vulgaris*. Foram comparadas 307 variedades crioulas com 94 genótipos americanos, sendo 50 mesoamericanos e 44 andinos. Os resultados demonstraram que 67% das variedades analisadas eram originárias dos Andes. Além disso, foi sugerido que 44% desse germoplasma europeu se derivou da introgressão espontânea entre os conjuntos gênicos andino e mesoamericano (ANGIOI et al., 2010).

A observação de uma grande diversidade genética, além da demonstração da hibridação entre os conjuntos gênicos, com distribuição desigual dessa hibridação em toda a Europa, levou Angioi et al. (2010) a sugerirem todo o continente europeu como um centro secundário de diversificação para *P. vulgaris*. A proposta de enquadrar a Europa como centro secundário de diversificação do feijoeiro, baseada nas análises de Angioi et al. (2010), que demonstraram que a diversidade genética europeia poderia ser até maior do que a observada para a Península Ibérica, expandiu a proposição prévia de Santalla et al. (2002) que, baseados em avaliações com o uso de marcadores isoenzimáticos da diversidade genética de 343 acessos de *Phaseolus vulgaris*, haviam sugerido que as formas intermediárias de feijoeiro adaptadas à Península Ibérica eram derivadas de introgressão entre os conjuntos gênicos Andinos e Mesoamericanos.

O continente africano também é considerado um centro secundário de diversidade do feijoeiro (SPERLING, 2001) e a análise de 111 cultivares evidenciou que o tipo “T” de faseolina se apresentava em 69% delas, o tipo “S” em 19%, e o tipo “C” em 12%, em uma grande diversidade de tipos de sementes (GEPTS & BLISS, 1988). Baseados na predominância de faseolina do tipo “T”, Gepts & Bliss (1988) sugerem ser possível que algumas cultivares africanas possam ter tido origem andina e terem sido introduzidas na África via Brasil. Outra possibilidade é a de que comerciantes portugueses possam ter introduzido cultivares de feijão da Península Ibérica ou países da Europa ocidental introduzido cultivares de feijão em suas colônias africanas. Os tipos de sementes comuns na Península Ibérica e África apresentam listras como zebras ou cremes com manchas vermelhas ou vermelhas mosqueadas (GEPTS & BLISS, 1988).

A avaliação morfológica e por marcadores microssatélites da estrutura populacional de 192 variedades crioulas da Etiópia e Quênia permitiu verificar que a maioria dos acessos etíopes possuía bractéolas grandes, cordatas ou ovaladas e sementes pequenas, caracterizando a influência do conjunto gênico mesoamericano, o que foi confirmado pelas análises moleculares de diversidade genética, enquanto a maioria das amostras do Quênia apresentou bractéolas médias a grandes, lanceoladas e triangulares e sementes médias ou largas, características relacionadas aos genótipos andinos, que também foram convergentes com as

avaliações moleculares (ASFAW et al., 2009). Além disso, os agrupamentos genéticos não indicaram fluxo gênico entre os dois países, mas sim moderada introgressão entre os dois conjuntos gênicos, com destaque para uma divergência genética ligeiramente maior às variedades crioulas da Etiópia (ASFAW et al., 2009), reforçando a tese da influência mesoamericana na Etiópia cujos genótipos são mais divergentes que os andinos (BITOCCHI et al., 2012).

Em outro estudo com genótipos da África, que abrangeu a região dos Grandes Lagos da África Central, incluindo Ruanda e países vizinhos como Congo e Uganda, foram analisados 365 genótipos de feijoeiro com o uso de marcadores microssatélites fluorescentes, dos quais 132 genótipos foram considerados pertencentes ao conjunto gênico andino e 195 ao conjunto gênico mesoamericano, enquanto 32 variedades crioulas e 6 intermediárias foram consideradas frutos de introgressão entre os dois conjuntos gênicos (BLAIR et al., 2010). As sementes seguiram os padrões descritos para cada conjunto gênico: sementes grandes e médias para os grupos andinos, e pequenas para os grupos mesoamericanos (BLAIR et al., 2010). Os genótipos andinos não apresentaram muitas sementes pretas, enquanto as sementes marrons foram numerosas, fato atípico em genótipos crioulos andinos de outras regiões. Outra surpresa foi o grande número de sementes amarelas no conjunto gênico mesoamericano. Já no grupo derivado de introgressão, foram identificadas sementes amarelas e mosqueadas, sendo o germoplasma dessa região representante da diversidade secundária integral encontrada no oriente e sul da África (BLAIR et al., 2010).

Zhang et al. (2008), avaliando 229 genótipos crioulos chineses de feijão comum, sugeriram que a China seria um dos centros secundários de diversidade da cultura. Ao utilizarem 30 marcadores microssatélites (SSRs) para acessar a variabilidade genética dos genótipos crioulos, foi possível classificar esses genótipos em dois conjuntos gênicos distintos, um originário dos Andes e outro oriundo da Mesoamérica. Apesar de 75% dos genótipos chineses avaliados terem origem mesoamericana, este trabalho relata maior diversidade no conjunto gênico andino (ZHANG et al., 2008), observação que contraria a ideia dominante de uma maior diversidade no conjunto gênico mesoamericano (BLAIR et al., 2009). No entanto, Zhang et al. (2008) sugeriram a possibilidade de limitação na diversidade do material mesoamericano levado para a China, o que não teria ocorrido com os andinos. A presença dos genótipos pertencentes a esses dois conjuntos gênicos levou os autores a sugerirem que esses dois locais poderiam representar centros de origem, de onde as plantas se disseminaram como parte do intercâmbio de recursos genéticos entre o “novo” e o “velho” mundo na era “pós-colombiana”.

Sumarizando o que foi relatado na revisão de Angioi et al. (2011), o Brasil apresenta em torno de 79% dos seus acessos de feijoeiro pertencentes ao conjunto gênico mesoamericano (BURLE et al., 2010), de forma semelhante à China, que possui cerca de 75% do seu feijoeiro mesoamericano (ZHANG et al., 2008),). Em contrapartida, a Europa apresenta a maioria derivada dos Andes (ANGIOI et al., 2010).

Considerando todo o continente africano, há equitativa representação do conjunto gênico andino e mesoamericano, entretanto. Porém, ao avaliar os países africanos de forma separada, são verificadas situações contrastantes. Asfaw et al. (2009), por exemplo, demonstraram que o conjunto gênico mesoamericano é dominante na Etiópia, assim como em Ruanda (BLAIR et al., 2010), enquanto que no Quênia (ASFAW et al., 2009) e no leste africano (GEPTS & BLISS, 1988) prevalece o conjunto gênico andino.

2.4. Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijoeiro

Os diversos fatores bióticos e abióticos que afetam o estabelecimento e a eficiência da simbiose entre o feijoeiro comum e as bactérias diazotróficas têm sido associados à baixa

capacidade fixadora de N₂ desta leguminosa. Entre os elementos que limitam a FBN em feijoeiro, estão o estresse hídrico (HUNGRIA & VARGAS, 2000), a acidez do solo (ANDRADE et al., 2002), a variabilidade de resposta das cultivares de feijoeiro à inoculação com bactérias diazotróficas e a instabilidade genética bacteriana (HUNGRIA et al., 1997), além da presença nos solos de estirpes nativas com baixa eficiência de fixação de N, capazes de nodular a planta (HARDARSON, 1993; VARGAS et al., 2000; SOARES et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2011).

Até a década de 1980, apenas *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* era definida como espécie capaz de nodular o feijoeiro comum (JORDAN, 1984). A partir da década de 1990, porém, com técnicas de biologia molecular, foram definidas novas espécies no gênero *Rhizobium* (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991; SEGOVIA et al., 1993; AMARGER et al., 1997), bem como a definição de novos gêneros, tais como *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium*, capazes de estabelecer simbiose (HUNGRIA et al., 1993; STRALIOTTO et al., 1999; GRANGE & HUNGRIA, 2004; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), além de reclassificações e contestações (RIBEIRO et al., 2012; ORMEÑO-ORRILLO & MARTÍNEZ-ROMERO, 2013).

As estirpes que atualmente são recomendadas como inoculantes comerciais para feijoeiro no Brasil (SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088) estão neste patamar em função de possuírem estabilidade genética para as condições de clima, temperatura e de acidez dos solos brasileiros (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991; HUNGRIA et al., 2000; PINTO et al., 2007). Todas eram classificadas como *Rhizobium tropici*; no entanto, a estirpe SEMIA 4080 (PRF 81) foi reclassificada como *Rhizobium freirei* (DALL'AGNOL et al., 2013).

Apesar das pressões ambientais favorecerem a adoção de tais espécies como inoculante no Brasil, os dois centros de domesticação do feijoeiro comum, considerados como origem das cultivares adotadas no país, mesoamericano e andino (KAMI et al., 1995; FRANCO et al., 2002; FREITAS, 2006), apresentam *R. etli* como espécie dominante dos isolados obtidos através dessas plantas (BERNAL & GRAHAM, 2001; MARTÍNEZ-ROMERO, 2003; AGUILAR et al., 2004). Em trabalhos realizados no Brasil em condições controladas, *R. etli* e *R. leguminosarum* têm sido dominantes em isolados obtidos a partir da utilização de soluções diluídas de solo como inoculantes (GRANGE & HUNGRIA, 2004; GIONGO et al., 2007; GRANGE et al., 2007; STOCCO et al., 2008). Entretanto *R. tropici* aparece como espécie abundante em isolados obtidos a partir de trabalhos conduzidos em campo (MERCANTE et al., 1998; HUNGRIA et al., 2003; MOSTASSO et al., 2002; PINTO et al., 2007).

Em função dessa particularidade e das condições dos solos brasileiros, considerou-se que *R. tropici* poderia ter sido introduzida no Brasil a partir da Colômbia, que chegou a ser sugerida como um terceiro centro de diversificação do feijoeiro (DEBOUCK, 1986) em função das condições de solo similares e da espécie ter sido obtida de feijoeiro comum naquele país (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991). Entretanto, fortes evidências indicam que o feijoeiro comum não represente o hospedeiro natural desta espécie, uma vez que *R. tropici* já foi encontrada em uma grande diversidade de hospedeiros, em diferentes continentes (GRANGE et al., 2007).

A busca pela otimização da FBN em feijoeiro sempre teve a premissa de se encontrar estirpes de bactérias com vigor competitivo e elevada capacidade de fixação. Porém, estirpes bacterianas selecionadas em trabalhos de laboratório e casa de vegetação podem não apresentar as mesmas taxas de fixação quando levadas ao campo, em função das variações ambientais e, principalmente, em virtude de competição com espécies nativas estabelecidas no solo (SOARES et al., 2006). Além disso, o cultivo sucessivo em uma mesma área pode

favorecer o aumento de populações de diazotróficas nativas, implicando em perda de eficiência no processo de inoculação (VARGAS et al., 2000).

Alguns estudos testando novas estirpes isoladas em simbiose com feijoeiro comum resultaram em produtividades apenas similares daquelas plantas inoculadas com a estirpe comercial SEMIA 4077 (CIAT-899) (MOSTASSO et al., 2002; RAPOSEIRAS et al., 2006; SOARES et al., 2006). Da mesma forma, duas espécies de rizóbios, *R. etli* e *R. tropici*, isoladas de Latossolos brasileiros, apresentaram resultados semelhantes aos obtidos com as estirpes comerciais SEMIA 4077 (CIAT-899) e SEMIA 4080 (PRF-81), mas os valores de produtividade de grãos, o peso seco de parte aérea, e o N total de parte aérea foram maiores no tratamento que recebeu N mineral (GONZÁLEZ et al., 2008), demonstrando um melhor aproveitamento pela planta do N na forma mineral em condições de casa de vegetação. Na mesma linha, em experimento conduzido em campo, em Latossolo Vermelho, no Mato Grosso do Sul, Pelegrin et al. (2009) obtiveram produtividades semelhantes nos tratamentos que receberam N mineral, com aplicações fracionadas ao longo do ciclo, com a inoculação combinada com a aplicação de menores quantidades de N mineral. Ferreira et al. (2009), em experimento conduzido em Minas Gerais em Latossolo Vermelho, ao avaliarem a resposta da cultivar de feijoeiro BRS-MG Talismã à inoculação com estirpes de rizóbios isolados da região Amazônica, relataram que as plantas inoculadas com a estirpe de *R. etli* bv mimosae apresentaram melhor rendimento de grão do que as inoculadas com a estirpe referência SEMIA 4077 (CIAT 899); no entanto, a avaliação ocorreu em apenas um ciclo de cultivo.

A possibilidade do feijoeiro comum estabelecer nodulação com diferentes espécies de *Rhizobium* e até com outros gêneros vem sendo relatada em diversos trabalhos (MARTÍNEZ-ROMERO, 2003; STOCCO et al., 2008; TORRES et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011). As bases bioquímicas dessa promiscuidade ainda são pouco compreendidas, entretanto, cultivares originários de diferentes centros de domesticação tiveram influência sobre a diversidade de diazotróficas associadas sob as mesmas condições experimentais. Nesse caso, as de origem mesoamericana apresentaram maior diversidade que as de origem andina (OLIVEIRA et al., 2011). Resultados similares em relação à influência do genótipo vegetal sobre a diversidade de diazotróficas foram encontrados por Giongo et al. (2007), que demonstraram significativas diferenças entre genótipos de feijoeiro utilizados como plantas iscas, como fator importante para a seleção de estirpes de bactérias eficientes na FBN.

Experimentos em campo em diferentes países da América do Sul verificaram que diferentes cultivares apresentaram contribuições da fixação de N₂ variando entre 35 e 70% (HARDARSON et al., 1993), o que realça, duas décadas atrás, o espaço ainda hoje inexplorado do melhoramento vegetal visando à FBN.

Tais resultados evidenciam que para o sucesso do emprego da FBN no cultivo do feijoeiro comum, além da obtenção de estirpes mais eficientes que as já recomendadas como inoculante, deve ser empregada devida atenção para a seleção de cultivares do feijoeiro com maior capacidade de resposta ao processo simbiótico, nas condições de solos brasileiros. Stralio et al. (2002) citam algumas cultivares de feijoeiro como boas fixadoras de N atmosférico, com Carioca, Aporé, Negro Argel e Ouro Negro. Nesse contexto, Peres et al. (1994) haviam observado boa contribuição da FBN para as cultivares Carioca e Negro Argel. No início dos anos 1990, alguns trabalhos foram realizados exclusivamente para verificar linhagens com boas respostas no processo de FBN (BLISS et al., 1993; PEREIRA et al., 1993); entretanto, o conhecimento sobre estirpes bacterianas fixadoras avançou desde então, e ainda são carentes os estudos voltados à seleção de cultivares de feijoeiro comum que respondam bem à inoculação com essas bactérias (GRAHAM et al., 2003; BEAVER & OSORNO, 2009).

Graham et al. (2003) relataram que, apesar da variação demonstrada por diferentes genótipos de *Phaseolus vulgaris*, ainda são poucos os trabalhos de melhoramento da cultura

que visem ao incremento da fixação de N₂. Os autores também listaram algumas linhagens, de diferentes países, consideradas eficientes na FBN. No mesmo viés, recente revisão sobre o melhoramento do feijoeiro comum destacou o incremento na FBN como uma das principais áreas com limitações (BEAVER & OSORNO, 2009).

Em sua revisão, Hungria et al. (1997) destacaram estudos de meio século passado que já demonstravam a importância do genótipo da planta hospedeira sobre a eficiência da FBN, evidenciando o papel da fotossíntese no processo. Além disso, os mesmos pesquisadores citaram os importantes programas de melhoramento desenvolvidos pelo CIAT e Universidade de Wisconsin, cujas linhagens geradas não foram bem-sucedidas, evidenciando, assim, que múltiplos fatores além do genético devem ser considerados, tal qual o fato de que algumas cultivares foram melhoradas para resistência a determinados microrganismos parasitas, com processos de infecção similares ao do rizóbio.

Os programas de melhoramento vegetal, em sua maioria, priorizam o aumento de produtividade, a resposta à aplicação de fertilizantes e a resistência a doenças (BROUGHTON et al., 2003), não considerando, geralmente, interações entre plantas e microrganismos associativos benéficos, alguns com capacidade de fixar nitrogênio (MONTANEZ et al., 2009).

O uso de fertilizante nitrogenado industrial nos programas de seleção do feijoeiro, ao longo do século passado, pode ter contribuído para a obtenção de cultivares com baixa capacidade simbiótica ou com habilidade para fazer simbiose com organismos menos eficientes na captação do N₂, uma vez que a disponibilidade deste nutriente não exercia essa pressão de seleção, haja vista que uma maior disponibilidade de N no solo pode inibir a formação de nódulos (MARTÍNEZ-ROMERO, 2003; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Tendo em vista que os vegetais buscam otimizar os gastos energéticos e o aproveitamento nutricional, o desenvolvimento de cultivares baseado na aplicação de fertilizante mineral industrial pode ter favorecido a seleção de cultivares menos eficientes nos processos simbióticos, visto que, assimilando o N disponibilizado em detrimento da simbiose, a planta não necessitaria translocar parte dos seus fotoassimilados para a manutenção dos nódulos viáveis.

Os nódulos são conhecidos como drenos fortes de fotoassimilados, recebendo sacarose translocada da parte aérea. Nos nódulos, a sacarose é convertida em ácidos dicarboxílicos, tais como malato e succinato, que são as fontes primárias de carbono para o bacteróide (STACEY, 2007). Além disso, o processo de oxidação da sacarose contribui com a força redutora (NADH⁺ e NADPH⁺) para o processo de fixação de N₂ (KERBAUY, 2008). O custo da FBN pode variar entre 20 e 0,3 g C g⁻¹ N fixado, sendo mais eficiente quanto menor for o consumo de C (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

As leguminosas são divididas em dois grupos com base nos compostos nitrogenados utilizados para o transporte via xilema do N fixado. As plantas de clima temperado translocam glutamina ou asparagina, e as de clima tropical translocam ureídeos, principalmente alantoína e ácido alantóico (BROUGHTON et al., 2003). De maneira geral, os vegetais têm elevadas taxas de transpiração durante o dia com consequente maior translocação dos minerais assimilados neste período em comparação com a noite. Porém, as leguminosas noduladas apresentam um padrão particular de transporte do N fixado para a parte aérea, e a queda acentuada no fluxo de transpiração impulsionada pelo volume do fluxo do xilema durante o período escuro é compensada por um aumento acentuado na concentração de N fixado na seiva do xilema, mantendo a transporte do N fixado constante durante todo o ciclo de claro e escuro (MARSCHENER, 1995).

Além dos fatores relacionados à seleção de linhagens de feijoeiro comum em condições de carência de N para o estímulo ao processo de FBN, um melhor entendimento dos processos fotossintéticos e da partição de fotoassimilados em plantas que estabelecem a

nodulação se faz necessário. Concomitante a isto, deve ser considerado o suprimento adequado de micronutrientes para a cultura, tendo em vista a importância de elementos como ferro e molibdênio para a atividade da nitrogenase (BELLENGER et al., 2011), bem como molibdênio como cofator na atividade da enzima que faz parte do processo de assimilação do nitrogênio, a nitrato redutase (HILLER et al., 2011). Pessoa et al. (2001) descreveram maior atividade da nitrogenase e da nitrato redutase e, conseqüente, melhor produtividade em resposta à adubação foliar com molibdênio. O fornecimento de fosfato e micronutrientes ao solo, em experimento de avaliação de eficiência de isolados, permitiu rendimentos de grãos de 1356 a 3520 kg ha⁻¹ (HUNGRIA et al., 2000). Mostasso et al. (2002), além de fósforo e micronutrientes, fizeram calagem e obtiveram rendimento de grãos entre 1612 a 2600 kg ha⁻¹; e Chagas et al. (2010) demonstraram que feijoeiros obtidos de sementes previamente enriquecidas com P maior contribuição da FBN quando crescidos sob baixa disponibilidade de P no solo.

Em junho de 2010, foi instituído pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) o programa Agricultura de Baixo Carbono (ABC), iniciativa que prevê a produção de alimentos e bioenergia aliada à redução dos gases de efeito estufa como parte estratégica do compromisso assumido voluntariamente pelo Brasil na COP 15, em 2009, de reduzir a emissão desses gases em 38,9% até 2020. Para o setor agropecuário, isso significa um compromisso de reduzir 730 milhões de toneladas na emissão de CO₂. Dentre as seis iniciativas básicas do projeto ABC está a Fixação Biológica de Nitrogênio, com destaque para o potencial de redução das emissões dos gases de efeito estufa e melhoria da fertilidade dos solos, com o incremento do uso de microrganismos diazotróficos (MAPA, 2011).

A identificação e caracterização de novas estirpes fixadoras de N₂ e a decisão sobre o uso das mesmas como inoculantes deve ser uma atividade contínua, levando-se sempre em consideração o potencial patogênico de alguns gêneros e a viabilização dos inoculantes, tanto na produção quanto no controle de qualidade, congregando ações de transferência de tecnologia. Além da constante busca por identificação e isolamento de novas estirpes, é fundamental a avaliação de linhagens de feijoeiro comum que possam oferecer maiores índices de obtenção de N atmosférico a partir da inoculação com as estirpes comerciais de *R. tropici* recomendadas como inoculantes no Brasil.

A interação entre hospedeiro e simbiote representa um traço hereditário, muitas vezes relacionado com a co-evolução, e pode ser selecionado nos programas de melhoramento de plantas (HERRIDGE et al., 2001). Em contrapartida, se a seleção for realizada em solos sem limitações de N, pode haver redução nos benefícios e até mesmo inibição na simbiose com bactérias diazotróficas. O Cerrado é uma região brasileira caracterizada por possuir solos carentes em N, o que o torna ideal para experimentos que busquem o isolamento de estirpes bacterianas eficientes na infestação da planta hospedeira e na capacidade de fixar o N atmosférico, assim como para testar genótipos de plantas que possam responder melhor à simbiose (HUNGRIA et al., 1997). A análise de genótipos de plantas responsivas à FBN é de fundamental importância para a redução da aplicação de fertilizantes nitrogenados em várias culturas de importância econômica (BALDANI et al., 1997; REIS et al., 2000).

3. CAPÍTULO I

NODULAÇÃO EM GENÓTIPOS MESOAMERICANOS E ANDINOS DE FEIJOEIRO EM CASA DE VEGETAÇÃO

3.1 RESUMO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem sido considerado uma espécie com baixa capacidade de fixação biológica de nitrogênio, sendo necessários trabalhos que visem à identificação de genótipos de plantas mais eficientes na obtenção de N₂ por via simbiótica. Diante desse panorama, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genotípica da capacidade de nodulação em materiais dos conjuntos gênicos de diversidade andino e mesoamericano do feijoeiro, presentes nas coleções nucleares da Embrapa Arroz e Feijão. Foram conduzidos experimentos em casa de vegetação, em blocos casualizados com três repetições, em duas fases, nas quais se avaliaram 879 genótipos de feijoeiro em resposta à inoculação com as estirpes comerciais de *Rhizobium* (SEMIA 4077, SEMIA 4080 e SEMIA 4088). A cultivar Ouro Negro foi utilizada como referência de genótipo nodulante eficiente. Sementes esterilizadas pré-germinadas foram plantadas em vasos de 3 L com areia e vermiculita autoclavadas (2:1). Sete dias após emergência (DAE), as plantas foram inoculadas com uma mistura das três estirpes comerciais de *Rhizobium*, e uma vez por semana, receberam solução nutritiva de Norris isenta de N. Aos 35 DAE, foram realizadas coletas para determinação do número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo. Foram estabelecidos os percentuais de genótipos que superaram a referência Ouro Negro, com 21% superiores em número de nódulos, 46% em massa seca de nódulos, 32% em massa seca de um nódulo, e 43% para o índice relativo de nodulação. Foram escolhidos, ainda, 116 genótipos e realizado outro experimento em casa de vegetação, no qual se efetuou uma análise conjunta entre os dados obtidos na primeira e segunda fases para esses 116 genótipos. A partir desses dados, foram elegidos 15 genótipos, que apresentaram maior nodulação, de maneira estável nas duas fases, para serem utilizados em futuras investigações em condições de campo. A maioria dos genótipos selecionados pertence ao conjunto gênico mesoamericano.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. Banco ativo de germoplasma. Diversidade.

3.2 ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) has been considered a species with low biological nitrogen fixation capacity, and works aimed to identify more efficient plant genotype to get N₂ symbiotically are necessary. The aim of this study was to evaluate the genotypic diversity for nodulation capacity in materials of Andean and Mesoamerican gene pools present in the core collections of Embrapa Rice and Beans. Greenhouse experiments were conducted in randomized block design with three replications in two phases in which 879 genotypes were evaluated in response to inoculation with commercial *Rhizobium* strains (SEMIA 4077, SEMIA 4080, SEMIA 4088). The cultivar Ouro Negro was used as efficient nodulating genotype reference. Sterile pre-germinated seeds were seeded in 3 L pots filled with sterile sand and vermiculite (2:1). Seven days after emergence (DAE), plants were inoculated with a mixture of the three *Rhizobium* commercial strains. Once a week, the Norris nutrient solution without N was added. Plants were harvested 35 DAE and the number of nodules, nodule dry weight and one nodule dry weight, were determined. The percentage of genotypes that exceeded the reference Ouro Negro was established, as 21% in number of nodules, 46% in nodule dry weight, 32% in one nodule dry weight, and 43% in relative nodulation index. We selected 116 genotypes and another experiment was held in a greenhouse, and a joint analysis of the data obtained in the first and second phases for these 116 genotypes was performed. From these data 15 more nodulation efficient and stable genotypes were selected for further studies at field conditions. Most selected genotypes belong to the Mesoamerican gene pool.

Keywords: Biological nitrogen fixation. Active germoplasm bank. Diversity.

3.3 INTRODUÇÃO

A biodiversidade é a soma das diferenças genéticas e fenotípicas dos organismos vivos aos níveis moleculares, de indivíduo, de população e dos ecossistemas, e tem papel preponderante na agricultura para desenvolvimento de cultivares melhoradas (GEPTS, 2004).

A diversificação genética do feijoeiro tem dois principais centros de domesticação - andino e mesoamericano (BITOCCHI et al., 2013), e algumas características distinguem bem esses dois conjuntos gênicos. Uma das mais marcantes se dá devido a um isolamento reprodutivo incompleto, que gera famílias F1 inviáveis na maioria dos cruzamentos entre os indivíduos dos dois conjuntos gênicos. Essa inviabilidade é controlada por dois genes semidominantes complementares *D11*, mesoamericano e *D12*, andino (SHII et al., 1980; HANNAH et al., 2000). A epistasia para as características número de vagens, número de sementes e peso de grãos por planta foi observada para progênes derivadas de cruzamentos entre genótipos andinos e mesoamericanos de feijoeiro comum e foi sugerida como um dos fatores determinantes no insucesso do cruzamento entre genótipos de origens distintas (MORETO et al., 2012).

Caracteres morfológicos também distinguem os conjuntos gênicos mesoamericanos e andinos, dentre as quais foram relatados o tamanho e forma do folíolo e da bractéola e o tamanho das sementes, presença ou ausência de faixas na base externa da flor e posição da ponta da vagem (SINGH et al., 1991a; RODIÑO et al., 2003). O conjunto gênico mesoamericano é constituído por raças com sementes pequenas, das quais 100 sementes chegam a atingir 25g, com cores muito diversificadas, e todos os tipos de hábitos de crescimentos; enquanto o conjunto Andino possui raças com sementes médias, que atingem de 25 a 40 g 100 sementes⁻¹, e sementes grandes, onde 100 sementes pesam mais de 40 g. Essas plantas apresentam hábitos de crescimento I, II, III (GEPTS, 1988; SINGH et al., 1991a).

Diversas abordagens moleculares também demonstraram o distanciamento genético entre os conjuntos andinos e mesoamericanos (BEEBE et al., 2000; BLAIR et al., 2006, 2009; KWAK & GEPTS, 2009; ROSSI et al., 2009; BITOCCHI et al., 2013). Apesar deste distanciamento provocado por dois processos paralelos de domesticação, acredita-se que o feijoeiro tenha uma origem comum mesoamericana, milhares de anos antes dos processos de domesticação (GAUT, 2014), evidenciando a importância de se acessar a maior diversidade possível dentro dos dois conjuntos para avaliação de características desejáveis.

O feijoeiro é uma leguminosa reconhecidamente fixadora de nitrogênio, embora o resultado da sua simbiose seja considerado baixo (SOARES et al., 2006). Outro agravante ao processo de FBN para o feijoeiro é que as cultivares comerciais disponíveis no mercado foram desenvolvidas sob condições ótimas de adubação mineral, favorecendo genótipos mais responsivos à condição de disponibilidade de N (MERCANTE et al., 1999).

A avaliação de plantas em condições de carência de N propicia a verificação de materiais que consigam maior sinergismo com a inoculação por bactérias diazotróficas, respondendo com maiores taxas de fixação do N₂; e a utilização de variáveis relacionadas com a nodulação, principalmente número e massa de nódulos, tem sido importante parâmetro para estimar a ação do processo simbiótico na obtenção do N₂ (SOUZA et al., 2008).

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genotípica da capacidade de nodulação, sob ausência de suprimento de N, em materiais dos conjuntos gênicos de diversidade andino e mesoamericano do feijoeiro, presentes em duas coleções nucleares da Embrapa Arroz e Feijão.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

Genótipos oriundos dos dois grandes centros de domesticação do feijoeiro comum, mesoamericano e andino, foram avaliados em resposta à inoculação com as estirpes que atualmente são recomendadas como inoculante comercial para a cultura do feijoeiro, sendo as estirpes SEMIA 4077 (CIAT-899) e SEMIA 4088 de *Rhizobium tropici* e SEMIA 4080 de *R. freirei*. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas em casa de vegetação na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás (GO).

A primeira etapa consistiu na avaliação de 879 genótipos, sendo 261 genótipos mesoamericanos e andinos provenientes da Coleção Nuclear do México; e 618 genótipos, de ambos os conjuntos gênicos, provenientes da Coleção Nuclear do CIAT, obtidos junto ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão. A Coleção Nuclear do México consiste de materiais, em sua grande maioria, de linhas puras, obtidas pela Embrapa Arroz e Feijão junto ao USDA, sendo oriundos de uma reprodução da coleção original mexicana do CMMYT, em posse do USDA. Os materiais da Coleção Nuclear do CIAT, por sua vez, foram obtidos junto ao CIAT. Em ambas as coleções existem materiais mesoamericanos e andinos.

Já a segunda etapa se concentrou em um experimento similar ao da primeira etapa, com os 116 genótipos que apresentaram maior nodulação, para uma seleção de 15 genótipos com maior nodulação e de comportamento mais uniforme nas duas etapas.

3.4.1 Primeira etapa: avaliação de 879 genótipos

Na primeira etapa, foi realizada uma triagem dos 879 genótipos em experimentos em casa de vegetação, com delineamento em blocos ao acaso e três repetições, em oito plantios sucessivos, entre os meses de setembro de 2011 e março de 2012. A relação dos genótipos avaliados em cada experimento encontra-se no anexo desta tese. Em cada um dos oito plantios, a cultivar Ouro Negro foi utilizada como referência; e para o crescimento das plantas, foram utilizados potes de 3 kg preenchidos com areia e vermiculita autoclavadas na proporção 2:1 m:m.

As sementes foram obtidas de câmara fria à -10 °C, o que gerou a necessidade de proceder escarificação das mesmas, que foi realizada com lixamento parcial do tegumento para facilitar a quebra de dormência. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em papéis germiteste umidificados com água estéril para pré-germinação e mantidas em condições de baixa luminosidade em câmaras de germinação no Laboratório de Sanidade de Sementes da Embrapa Arroz e Feijão. Após a emissão da radícula, as sementes foram então transplantadas para os potes contendo areia e vermiculita, sendo semeadas cinco sementes por pote. Sete dias após emergência (DAE), foi efetuado o desbaste deixando três plantas por vaso e cada uma das três plantas remanescentes foi inoculada com 1 mL de uma mistura 1:1:1 das estirpes de *Rhizobium* crescidas em meio de cultura YM (VINCENT, 1970) líquido, com concentração de 10^9 células mL⁻¹. Durante o período de desenvolvimento, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, onde a temperatura era monitorada e a luminosidade regulada com um sistema de sombrite. Uma vez por semana, foram aplicados 200 mL por vaso de solução líquida da formulação de Norris (1964) isenta de N, com água autoclavada estéril e irrigação a cada dois dias com 200 mL de água estéril por vaso.

A coleta foi efetuada quando as plantas atingiram 35 DAE, ocasião em que as raízes foram recuperadas, separadas cuidadosamente do substrato, lavadas em água corrente e secas em papel toalha. Após a contagem do número de nódulos (NN), os mesmos foram mantidos em estufa com circulação forçada de ar (65 °C, 48 h), pesados para quantificação da massa seca de nódulos por planta (MSN).

Foi obtida a massa seca de um nódulo (MSIN) pela razão entre a massa de nódulos e o número de nódulos por planta, e os dados foram utilizados para gerar o índice relativo de nodulação (IRN), através da fórmula adaptada de trabalho de FERREIRA et al. (2010): $(MSIN.1,5 + MSN.1 + NN.0,5) / 3$.

Os valores obtidos para a cultivar Ouro Negro em cada um dos oito plantios foram submetidos a uma análise de variância para avaliar a padronização dos plantios.

Com os dados obtidos para os 879 genótipos, daqueles que nodularam, acrescidos da cultivar referência Ouro Negro, foi realizada uma análise de variância conjunta e as médias avaliadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância. A partir das comparações de médias e baseando-se no IRN, foram selecionados 116 genótipos para a etapa subsequente.

3.4.2. Segunda etapa: avaliação de 116 genótipos

Nesta fase, além dos 116 genótipos escolhidos na primeira etapa, foram avaliadas também as cultivares Pérola, cultivar com grão do tipo carioca muito plantada no Brasil, Ouro Negro, cultivar com grão do tipo preto e boa capacidade de nodulação (HENSON et al., 1993) e a linhagem não nodulante NORH 54 (MÜLLER & PEREIRA, 1995), como controles positivos e negativos de nodulação.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com delineamento em blocos ao acaso com três repetições, e o plantio ocorreu em 21 de agosto de 2012. Para o crescimento das plantas, foram utilizados vasos de 3 kg com areia e vermiculita autoclavadas na proporção 2:1. Antes da semeadura, as sementes foram escarificadas e acondicionadas em papéis germiteste, umidificados com água estéril para pré-germinação e mantidos em condições de baixa luminosidade em câmaras de germinação. Após a emissão da radícula, as sementes foram transplantadas para os potes contendo areia e vermiculita, sendo plantadas cinco sementes por pote. O desbaste foi efetuado sete dias após emergência (DAE), deixando três plantas por vaso, e cada uma das três plantas remanescentes foi inoculada com 1 mL de uma mistura 1:1:1 das estirpes de *Rhizobium* crescidas em meio de cultura YM (VINCENT, 1970) líquido, com concentração de 10^9 células mL⁻¹. Durante o período de desenvolvimento, as plantas foram mantidas em casa de vegetação com condições controladas de temperatura e luminosidade, e uma vez por semana, foram aplicados 200 mL por vaso de solução nutritiva, formulação de Norris (1964) isenta de N, com água estéril, além de feita irrigação a cada dois dias com 200 mL de água estéril por vaso.

A coleta foi realizada na fase R5 (pré-floração) de desenvolvimento fisiológico. Nessa ocasião, as plantas foram cortadas 1 cm acima do substrato e as raízes foram cuidadosamente removidas dos vasos, separadas do substrato, lavadas e secas em papel toalha. Os nódulos foram retirados, contados e, em seguida, levados para estufa de circulação forçada de ar (65 °C por 48 h) para secagem, possibilitando, assim, a determinação da massa seca.

Os dados obtidos para os 116 genótipos nessa segunda fase, juntamente com os dados que haviam sido obtidos na primeira etapa de avaliação de 879 genótipos, foram utilizados em uma análise de variância conjunta, considerando um fatorial duplo entre etapa e genótipo, sendo as médias comparadas pelo teste t de Student (LSD) a 5% de significância. Essa análise conjunta foi empregada como um indicador de estabilidade dos materiais para a seleção daqueles genótipos que se mantiveram com altos índices de nodulação nas duas avaliações. A partir disto, foram selecionados os 15 genótipos mais eficientes quanto à nodulação para serem avaliados em condições de campo.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Primeira etapa: triagem de 879 genótipos

Nessa primeira etapa, todos os genótipos foram avaliados em comparação à cultivar Ouro Negro, com alta capacidade de FBN (HENSON et al., 1993). Dos 879 genótipos avaliados, 686 deles apresentaram alguma nodulação.

Os diferentes pesos utilizados para determinar o impacto de cada parâmetro na determinação do índice relativo de nodulação (IRN) se basearam nas evidências de uma correlação positiva entre a massa de nódulos e a quantidade de N acumulada por leguminosas (DÖBEREINER, 1966). Por sua vez, o maior número de nódulos não necessariamente implica em maior capacidade de fixação de N₂ (CARVALHO, 2002).

Da análise de variância, realizada com os dados obtidos para a cultivar referência Ouro Negro, para comparar os oito plantios, verificou-se que não houve efeito de plantio (Tabela 1), indicando uniformidade entre os oito plantios sucessivos, reforçado pelo teste de médias (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância dos dados de nodulação (valores de quadrado médio) para número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtida na avaliação da cultivar Ouro Negro, que foi utilizada como referência nos plantios dos genótipos de feijoeiro em casa de vegetação.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo	Índice relativo de nodulação
Bloco	2	28,101 ^{ns}	361,591 ^{ns}	0,152 ^{ns}	65,109 ^{ns}
Plantios	7	193,721 ^{ns}	124,693 ^{ns}	0,039 ^{ns}	25,502 ^{ns}
Resíduo	14	114,084	199,197	0,023	38,209

ns: não-significativo pelo Teste F.

Tabela 2. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtidos da cultivar Ouro Negro, nos oito plantios em que foi utilizada como referência.

Plantio	Número de nódulos (planta ⁻¹)	Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)	Massa seca de um nódulo (mg)	Índice relativo de nodulação
1	124 a	143,19 a	1,16 a	77,81 a
2	98 a	135,42 a	1,39 a	69,80 a
3	107 a	130,21 a	1,22 a	69,69 a
4	107 a	137,06 a	1,29 a	72,20 a
5	115 a	136,71 a	1,19 a	73,57 a
6	101 a	150,12 a	1,50 a	75,96 a
7	107 a	144,07 a	1,35 a	74,87 a
8	108 a	145,09 a	1,36 a	75,33 a
CV (%)	9,86	10,06	11,65	8,39

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

A análise de variância com os dados obtidos dos 686 genótipos que nodularam, juntamente com a cultivar referência Ouro Negro, demonstrou diferença entre os genótipos para o número de nódulos por planta (NN), a massa seca de nódulos por planta, a massa seca de um nódulo (MSIN) e o índice relativo de nodulação (IRN) (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância dos dados de nodulação (valores de quadrado médio) para número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtida na avaliação de 686 genótipos de feijoeiro, juntamente com a cultivar referência Ouro Negro, em casa de vegetação.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo	Índice relativo de nodulação
Repetição	2	13091,891	20890,399*	0,159	5701,801*
Genótipo	686	7050,634***	35641,409***	2,032***	9041,261***
Resíduo	1372	5854,000	6487,367	0,567	1701,971
CV (%)		55,77	48,52	57,90	46,42

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Com base no teste de médias (Tukey, 5%), as diferenças obtidas para os parâmetros de nodulação avaliados foram utilizadas para formar classes distintas (Figura 1 A, B, C, D).

Na avaliação do número de nódulos, observou-se que 21,55% dos genótipos que nodularam apresentaram valores mais elevados que a cultivar referência, Ouro Negro (Figura 1 A). A massa seca de nódulos por planta foi maior em 46% dos genótipos (Figura 1 B), e 32,76% dos genótipos apresentaram valores maiores que a cultivar referência para a massa seca de um nódulo (Figura 1 C).

Os valores obtidos nessa etapa para número de nódulos (Figura 1 A) e massa seca de nódulos (Figura 1 B) são promissores quando comparados com outros resultados recentes. Moraes et al. (2010), utilizando vários isolados de rizóbios em genótipo de feijoeiro eficiente para FBN, obtiveram, em condições controladas, valores para número de nódulos por planta entre 56 e 477.

Utilizando-se solo como substrato, principalmente em condições de campo, há uma tendência de redução expressiva nesses valores de nodulação (GRAHAM, 1981; GRAHAM & VANCE, 2000). No entanto, considerando os dados obtidos em trabalhos recentes (PELEGRIN et al., 2009; PACHECO et al., 2012; HUNGRIA et al., 2013), mesmo que a redução na formação de nódulos em campo seja brusca, com manutenção de 50% da nodulação obtida em casa de vegetação para alguns dos genótipos avaliados nesse trabalho, tais valores podem ser considerados promissores para identificação de genótipos com elevada nodulação.

A partir dos índices relativos de nodulação gerados (IRN), com base nas diferenças entre as médias, foi possível verificar que 43,24% dos genótipos apresentavam índices maiores do que a cultivar referência Ouro Negro, enquanto 31,88% apresentaram índices similares e 24,89% índices menores (Figura 1 D). As diferenças entre as médias, dos 43,24% genótipos com maior IRN, permitiu a formação de quatro classes distintas, com destaque para um grupo extremo formado por três genótipos com os maiores valores médios para IRN, correspondentes a 0,44% do total de genótipos que nodularam (Figura 1 D).

Com os índices de nodulação obtidos, foram escolhidos 116 genótipos (Tabela 4). Após um período de reprodução das sementes em campo, o material coletado foi preparado para montagem de novo ensaio em casa de vegetação.

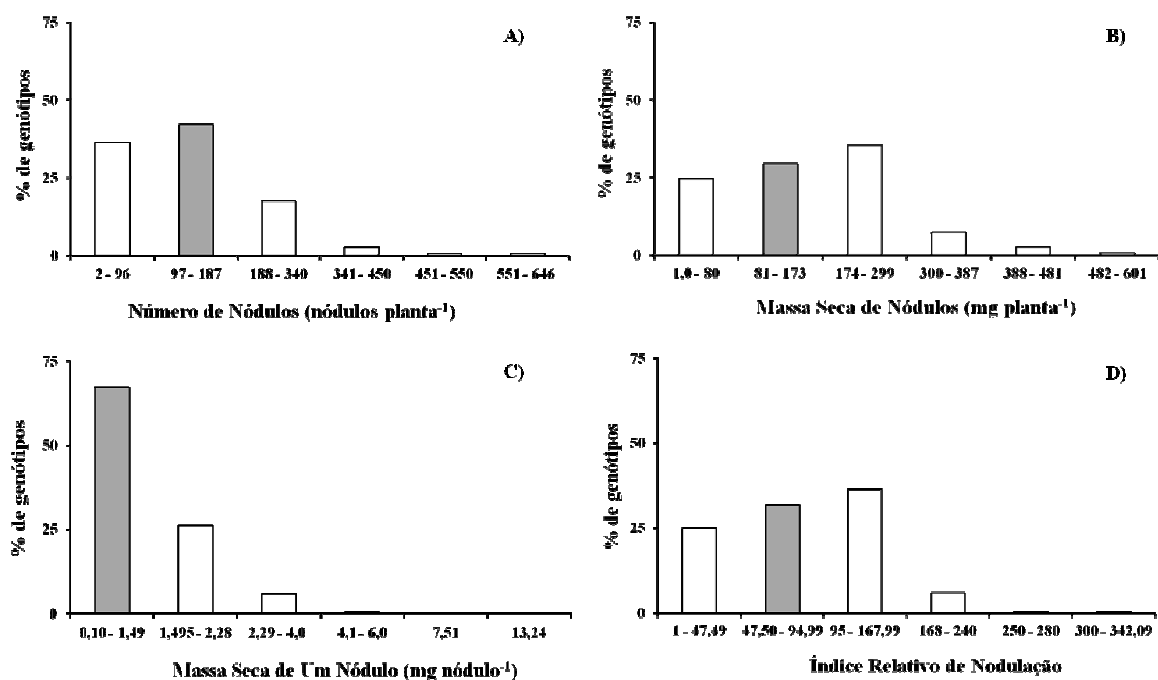


Figura 1. Percentual de distribuição dos 686 genótipos que nodularam, mais a cultivar Ouro Negro, de acordo com o número de nódulos por planta (A), massa seca de nódulos por planta (B), massa seca de um nódulo (C) e índice relativo de nodulação (D), em experimentos em casa de vegetação. A coluna hachurada indica a posição da cultivar Ouro Negro, utilizada como genótipo referência. Classes de distribuição baseadas nas diferenças obtidas pelo teste de médias.

A massa de nódulo foi o fator de nodulação que mais influenciou na escolha dos genótipos para o avanço das etapas, devido à sua importante relação com o acúmulo de N (DÖBEREINER, 1966). A dispersão dos valores de massa seca de nódulos em interação com o número de nódulos dos 686 genótipos que nodularam permite a verificação dos 116 genótipos escolhidos para avançar à etapa seguinte de avaliação em casa de vegetação (Figura 2).

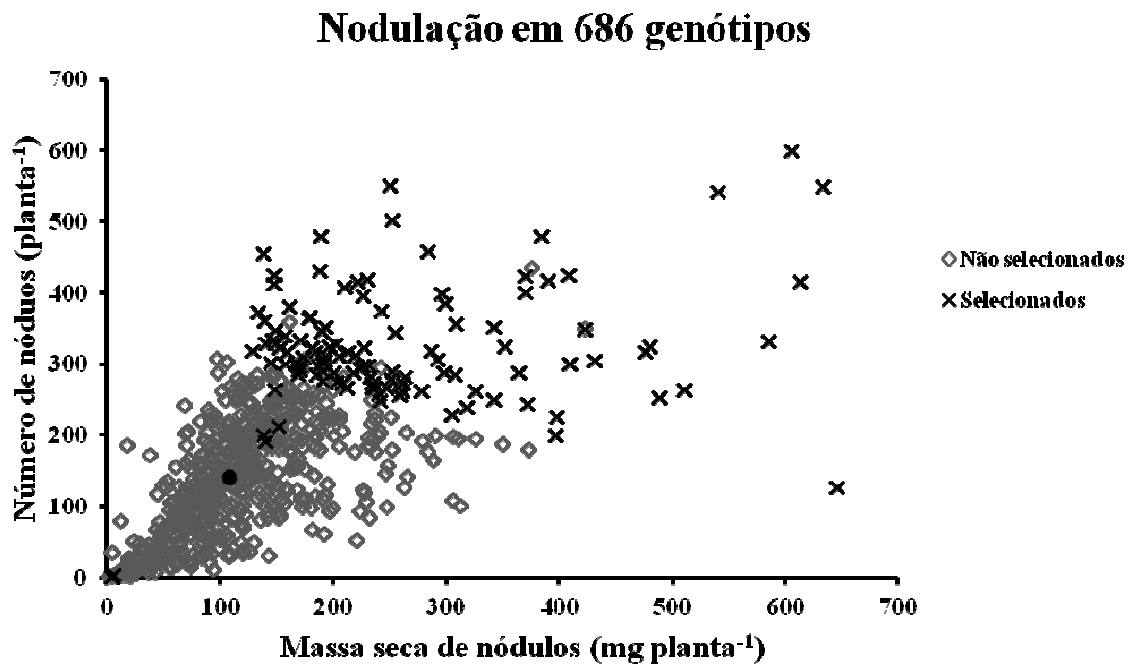


Figura 2. Dispersão dos valores de número de nódulos x massa seca de nódulos dos 686 genótipos que nodularam, destacando-se a cultivar Ouro Negro e os 116 genótipos selecionados para a sequência de avaliação.

Tabela 4. Identificação dos 116 genótipos selecionados em resposta à nodulação provocada por inoculação com *Rizhobium* em casa de vegetação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
253	PI 207336	36	PI 313397	127	PI 406940
586	PI 209491	566	PI 313495	3	PI 417654
237	PI 241794	137	PI 313501	8	PI 417754
29	PI 263596	139	PI 313524	23	PI 430204
132	PI 308908	569	PI 313597	24	PI 430206
135	PI 309701	249	PI 313633	15	PI 451917
591	PI 310599	144	PI 313709	16	PI 451921
475	PI 310850	244	PI 313727	18	PI 476693
369	PI 311843	582	PI 313830	2	PI 512003
129	PI 311907	570	PI 313835	340	PI 533363
125	PI 312031	343	PI 325732	564	PI 533498
141	PI 313254	19	PI 325750		
581	PI 313386	448	PI 387865		

Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
38	CNF0010993	157	CNF0011086	322	CNF0011235
39	CNF0010995	160	CNF0011089	325	CNF0011239
40	CNF0010996	164	CNF0011093	326	CNF0011240
46	CNF0011003	166	CNF0011095	329	CNF0011244
48	CNF0011005	167	CNF0011096	332	CNF0011247
53	CNF0011011	168	CNF0011097	334	CNF0011249
55	CNF0011013	170	CNF0011101	371	CNF0011252
57	CNF0011015	171	CNF0011102	372	CNF0011253
58	CNF0011016	178	CNF0011111	384	CNF0011581
68	CNF0011026	179	CNF0011112	485	CNF0011450
69	CNF0011027	193	CNF0011128	486	CNF0011451
70	CNF0011028	199	CNF0011135	496	CNF0011463
72	CNF0011031	200	CNF0011137	498	CNF0011465
76	CNF0011037	213	CNF0011151	500	CNF0011467
77	CNF0011038	218	CNF0011156	501	CNF0011468
87	CNF0011049	219	CNF0011157	593	CNF0011556
91	CNF0011053	224	CNF0011162	594	CNF0011557
92	CNF0011054	260	CNF0011164	596	CNF0011559
93	CNF0011055	285	CNF0011191	635	CNF0011295
104	CNF0011067	294	CNF0011203	642	CNF0011302
109	CNF0011073	295	CNF0011204	647	CNF0011307
111	CNF0011075	298	CNF0011207	656	CNF0011318
112	CNF0011076	300	CNF0011209	712	CNF0011346
151	CNF0011079	310	CNF0011220	738	CNF0011376
152	CNF0011080	315	CNF0011228	831	CNF 2019
153	CNF0011081	316	CNF0011229		
156	CNF0011085	321	CNF0011234		

3.5.2 Triagem de 116 genótipos

Nessa fase, os 116 genótipos selecionados na primeira etapa (Figura 2; Tabela 4) foram avaliados em novo experimento em casa de vegetação, para avaliação da nodulação. Os dados obtidos foram submetidos a uma análise conjunta com aqueles alcançados para os mesmos genótipos na primeira etapa. A análise de variância demonstrou diferença significativa entre os genótipos para o número de nódulos por planta, a massa seca de nódulos por planta, a massa seca de um nódulo e o índice relativo de nodulação, bem como efeito significativo da interação entre genótipos e a etapa de avaliação (Tabela 5).

Tabela 5. Valores de quadrado médio da análise de variância dos dados de nodulação de 116 genótipos de feijoeiro, em duas etapas de avaliação em casa de vegetação.

Fonte de variação	GL	Número de nódulos	Massa de nódulos	Massa seca de um nódulo	Índice relativo de nodulação
Repetição	2	$4,55 \times 10^4^*$	$5,26 \times 10^{4***}$	0,04	$1,60 \times 10^4^{**}$
Genótipo	115	$4,43 \times 10^4^{***}$	$4,70 \times 10^4^{***}$	0,73***	$1,17 \times 10^4^{***}$
Etapa	1	$7,28 \times 10^5^{***}$	$8,93 \times 10^5^{**}$	51,46***	$2,71 \times 10^5^{***}$
Genótipo x Etapa	115	$3,16 \times 10^4^{***}$	$3,52 \times 10^4^{***}$	0,72***	8294***
Resíduo	462	$1,14 \times 10^4$	$1,06 \times 10^4$	0,11	2821
CV		47,46 %	36,25 %	28,32 %	35,55 %

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1 % pelo Teste F, respectivamente.

A partir da análise conjunta dos dados obtidos nas duas fases de avaliação em casa de vegetação (Tabela 6), para a fase de avaliação em condições de campo, foram selecionados os 15 genótipos que apresentaram melhores resultados para o índice relativo de nodulação e que demonstraram maior estabilidade entre as duas etapas de avaliação em casa de vegetação (Tabela 6), ou seja, com similaridades entre as médias dos dois períodos na maioria das quatro variáveis avaliadas.

O diagrama de dispersão dos valores de massa seca de nódulos em função do número de nódulos dos 116 genótipos, nas duas fases de avaliação, permite evidenciar os 15 genótipos escolhidos para a fase de avaliação em campo (Figura 3).

Dos genótipos selecionados, 11 pertencem à coleção nuclear do CIAT e quatro à coleção nuclear do México (Tabela 7), sendo seis do conjunto gênico andino e nove pertencente ao conjunto gênico mesoamericano (Tabela 8; Figura 4).

Tabela 6. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação, obtidos para 116 genótipos de feijoeiro, nas duas etapas de avaliação em casa de vegetação.

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg)		Índice relativo de nodulação	
	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II
CNF0010993	408 A b	120 B c	425 A a	295 A c	1,04 A d	0,41 B c	238 A b	132 B c
CNF0010995	179 A c	216 A c	368 A a	267 A d	2,13 A c	0,90 B c	172 A c	142 A c
CNF0010996	190 A c	270 A b	346 A b	334 A c	1,81 A c	0,90 B c	166 A c	177 A b
CNF0011003	159 A c	163 A c	318 A b	330 A c	2,00 A c	0,50 B c	149 A c	154 A c
CNF0011005	326 A c	94 B c	263 A b	138 A d	1,23 A d	0,73 A c	162 A c	70 B d
CNF0011011	171 A c	139 A c	334 A b	264 A d	1,96 A c	0,52 B c	158 A c	125 A c
CNF0011013	342 A b	77 B c	353 A b	84 B e	1,06 A d	0,90 A c	198 A b	47 B d
CNF0011015	178 A c	339 A b	364 A a	336 A c	1,98 A c	1,08 B c	170 A c	192 A b
CNF0011016	476 A b	231 B c	317 A b	211 A d	0,67 B e	1,41 A b	212 A c	124 B c
CNF 0011026	188 A c	291 A b	431 A a	485 A b	2,33 A b	0,60 B c	197 A b	237 A b
CNF0011027	296 A c	280 A b	399 A a	345 A c	1,67 A c	0,88 B c	206 A b	183 A b
CNF 0011028	364 A b	327 A b	289 A b	407 A c	0,96 A d	0,81 A c	179 A c	215 A b
CNF0011031	153 A c	194 A c	324 A b	273 A d	2,19 A b	0,71 B c	150 A c	139 A c
CNF0011037	167 A c	49 A c	302 A b	44 B e	1,81 A c	1,11 B b	145 A c	26 B d
CNF0011038	185 A c	243 A b	285 A b	216 A d	1,57 A c	1,15 A b	142 A c	129 A c
CNF0011049	149 A c	57 A c	330 A b	54 B e	2,13 A c	1,05 B c	152 A c	32 B d
CNF0011053	231 A c	243 A b	297 A b	341 A c	1,33 A d	0,75 B c	155 A c	174 A b
CNF0011054	174 A c	132 A c	310 A b	300 A c	1,76 A c	0,44 B c	149 A c	137 A c
CNF0011055	261 A c	85 B c	263 A b	78 B e	1,13 A d	1,12 A b	149 A c	46 B d
CNF0011067	242 A c	260 A b	249 A b	302 A c	1,04 A d	0,86 A c	140 A c	163 A b
CNF0011073	292 A c	174 A c	307 A b	242 A d	1,13 A d	0,72 A c	171 A c	124 A c
CNF 0011075	262 A c	266 A b	273 B b	450 A b	1,05 A d	0,60 A c	153 A c	218 A b
CNF0011076	342 A b	110 B c	251 A b	158 A d	0,76 A e	0,70 A c	161 A c	80 A d
CNF0011079	193 A c	169 A c	312 A b	445 A b	1,61 A c	0,38 B c	154 A c	197 A b
CNF0011080	243 A c	83 A c	376 A a	87 B e	1,55 A c	0,96 B c	187 A b	49 B d
CNF0011081	264 A c	132 A c	283 A b	167 A d	1,13 A d	0,80 A c	157 A c	88 A d
CNF0011085	202 A c	163 A c	328 A b	169 A d	1,55 A c	0,96 B c	161 A c	95 A d
CNF 0011086	203 A c	374 A b	275 A b	358 A c	1,36 A d	1,05 A c	142 A c	207 A b
CNF0011089	252 A c	218 A c	503 A a	223 B d	1,96 A c	0,98 B c	235 A b	126 B c
CNF0011093	220 A c	138 A c	313 A b	140 B e	1,45 A d	1,02 A c	159 A c	79 A d
CNF 0011095	222 A c	196 A c	417 A a	486 A b	1,88 A c	0,40 B c	198 A b	217 A b
CNF0011096	200 A c	213 A c	289 A b	170 A d	1,46 A d	1,25 A b	147 A c	106 A c
CNF0011097	278 A c	246 A b	263 A b	427 A c	1,07 A d	0,57 A c	153 A c	206 A b
CNF0011101	197 A c	113 A c	325 A b	174 A d	1,64 A c	0,66 B c	159 A c	87 A d
CNF0011102	308 A c	371 A b	285 A b	319 A c	0,93 A e	1,16 A b	167 A c	192 A b
CNF0011111	208 A c	161 A c	273 A b	201 A d	1,41 A d	0,80 B c	142 A c	106 A c
CNF0011112	241 A c	181 A c	258 A b	253 A d	1,06 A d	0,76 A c	143 A c	129 A c
CNF0011128	235 A c	157 A c	267 A b	229 A d	1,13 A d	0,69 A c	145 A c	116 A c
CNF 0011137	170 B c	521 A a	291 A b	323 A c	1,72 A c	1,68 A a	141 A c	223 A b
CNF0011135	157 A c	218 A c	300 A b	281 A d	1,90 A c	0,78 B c	142 A c	147 A c
CNF0011151	181 A c	148 A c	323 A b	170 A d	1,77 A c	0,87 B c	156 A c	93 A d
CNF0011156	252 A c	143 A c	290 A b	187 A d	1,16 A d	0,76 A c	157 A c	98 A d
CNF0011157	305 A c	356 A b	230 A b	231 A d	0,74 B e	1,55 A a	146 A c	157 A b
CNF0011162	140 A c	115 A c	192 A b	181 A e	0,73 A e	0,63 A c	99 A c	89 A d
CNF0011164	255 A c	101 A c	345 A b	85 B e	1,41 A d	1,24 A b	178 A c	52 B d
CNF0011191	230 A c	119 A c	419 A a	188 B d	1,87 A c	0,62 B c	201 A b	93 B d
CNF0011203	149 A c	192 A c	265 A b	218 A d	1,90 A c	0,89 B c	128 A c	119 A c
CNF0011204	139 A c	131 A c	362 A a	180 B d	2,41 A b	0,73 B c	162 A c	93 A d
CNF0011207	259 A c	151 A c	256 A b	201 A d	1,02 A d	0,72 A c	146 A c	104 A c
CNF0011209	212 A c	253 A b	267 A b	276 A d	1,19 A d	0,94 A c	141 A c	152 A c
CNF 0011228	384 A b	246 A b	480 A a	538 A b	1,25 A d	0,44 B c	253 A b	246 A b
CNF0011229	227 A c	184 A c	324 A b	293 A c	1,42 A d	0,62 B c	165 A c	145 A c
CNF0011232	423 A b	125 B c	350 A b	194 A d	0,83 A e	0,67 A c	213 A b	97 B d
CNF 0011234	633 A a	497 A a	550 A a	685 A a	0,89 A e	0,73 A c	329 A a	351 A a
CNF0011235	147 A c	67 A c	334 A b	151 B e	1,82 A c	0,46 B c	153 A c	69 A d
CNF0011239	192 A c	344 A b	306 B b	634 A a	1,53 A c	0,54 B c	151 B c	302 A a
CNF 0011240	226 A c	257 A b	397 A a	447 A b	1,74 A c	0,59 B c	192 A b	216 A b
CNF0011244	370 A b	142 B c	424 A a	243 B d	1,16 A d	0,57 B c	230 A b	118 B c
CNF0011247	233 A c	143 A c	282 A b	316 A c	1,21 A d	0,47 B c	151 A c	145 A c

Tabela 6. Continuação...

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg)		Índice relativo de nodulação	
	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II
CNF0011249	210 A c	141 A c	408 A a	216 B d	1,89 A c	0,65 B c	192 A b	108 A c
CNF0011252	237 A c	292 A b	267 A b	369 A c	1,11 A d	0,79 A c	146 A c	194 A b
CNF0011253	370 A b	258 A b	401 A a	262 A d	1,16 A d	1,00 A c	222 A b	148 A c
CNF0011581	157 A c	108 A c	341 A b	213 A d	2,19 A b	0,51 B c	157 A c	100 A c
CNF0011450	287 A c	242 A b	319 A b	309 A c	1,09 A d	0,78 A c	175 A c	162 A b
CNF0011451	251 A c	316 A b	280 A b	331 A c	1,13 A d	0,95 A c	153 A c	185 A b
CNF0011463	189 A c	192 A c	480 A a	274 B d	2,71 A a	0,69 B c	215 A b	139 A c
CNF0011465	540 A a	150 B c	542 A a	287 B c	1,05 A d	0,52 A c	307 A a	136 B c
CNF0011467	480 A b	253 B b	325 A b	254 A d	0,68 A e	1,01 A c	215 A b	144 A c
CNF0011468	309 A c	181 A c	357 A a	100 B e	1,16 B d	1,95 A a	193 A b	74 B d
CNF0011559	585 A a	630 A a	332 B b	593 A a	0,57 A e	1,05 A c	239 B b	344 A a
CNF0011556	140 A c	85 A c	330 A b	59 B e	2,33 A b	1,50 B b	150 A c	39 B d
CNF0011557	511 A a	135 B c	264 A b	169 A d	0,51 A e	0,80 A c	199 A b	89 B d
CNF0011220	372 A b	138 B c	244 A b	280 A d	0,64 A e	0,52 A c	164 A c	131 A c
CNF0011295	298 A c	86 B c	288 A b	70 B e	1,06 A d	1,23 A b	166 A c	43 B d
CNF0011302	4 B c	240 A b	1 B b	263 A d	0,27 B e	0,91 A c	1 B d	145 A c
CNF0011307	5 B c	174 A c	2 B b	242 A d	0,58 A e	0,72 A c	2 B d	124 A c
CNF0011318	152 A c	318 A b	212 A b	236 A d	1,40 A d	1,35 A b	109 B c	151 A c
CNF0011346	148 A c	174 A c	425 A a	233 B d	3,12 A a	0,76 B c	187 A b	120 A c
CNF0011376	284 A c	146 A c	459 A a	98 B e	1,62 A c	1,49 A b	226 A b	66 B d
CNF0011556	6 B c	173 A c	4 B b	108 A e	0,79 B e	1,60 A a	3 B d	75 A d
CNF0011557	191 A c	135 A c	276 A b	78 B e	1,46 A d	1,73 A a	140 A c	56 A d
CNF0011220	138 A c	175 A c	200 A b	319 A c	1,56 A c	0,57 B c	102 A c	152 A c
CNF0011295	191 A c	267 A b	290 A	366 A c	1,43 A d	0,74 B c	145 A c	188 A b
CNF0011302	318 A c	201 A c	240 A b	138 A e	0,77 B e	1,62 A a	152 A c	92 A d
CNF0011307	606 A a	61 B c	601 A a	185 B d	1,00 A d	0,32 B c	342 A a	80 B d
CNF0011318	205 A c	58 A c	311 A b	50 B e	1,29 A d	1,26 A b	156 A c	30 B d
CNF0011346	247 A c	178 A c	267 A b	261 A d	1,09 A d	0,95 A c	148 A c	132 A c
CNF0011376	145 B c	319 A b	302 A b	360 A c	2,22 A b	0,87 B c	141 A c	196 A b
CNF0011556	129 A c	189 A c	319 A b	315 A c	2,52 A b	0,61 B c	144 A c	153 A c
PI 209491	409 A b	256 A b	301 B b	670 A a	0,74 A e	0,38 A c	193 B b	297 A d
PI 313386	431 A b	140 B c	305 A b	159 A d	0,71 A e	0,88 A c	198 A b	87 B d
PI 313397	133 A c	101 A c	374 A a	99 B e	2,78 A a	1,02 B c	165 A c	57 B d
PI 313495	250 A c	223 A c	551 A a	355 B c	2,12 A c	0,67 B c	253 A b	175 A b
PI 313501	235 A c	55 B c	274 A b	76 B e	1,23 A d	0,74 A c	148 A c	39 B d
PI 313524	226 A c	151 A c	297 A b	109 B e	1,34 A d	1,39 A b	155 A c	71 A d
PI 313597	397 A b	105 B c	200 A b	132 A e	0,50 A e	0,86 A c	153 A c	70 A d
PI 313633	187 A c	319 A b	298 A b	396 A c	2,09 A c	0,75 B c	148 A c	210 A b
PI 313709	184 A c	141 A c	317 A b	90 B e	1,71 A c	1,59 A a	154 A c	62 A d
PI 313727	352 A b	291 A b	325 A b	293 A c	0,92 A d	1,00 A c	190 A b	166 A b
PI 313830	489 A b	166 B c	253 A b	192 A d	0,49 A e	0,87 A c	191 A b	104 B d
PI 313835	398 A b	122 B c	227 A b	189 A d	0,58 A e	0,63 A c	163 A c	94 A d
PI 325732	149 A c	178 A c	348 A b	280 A d	2,27 A b	0,63 B c	158 A c	139 A c
PI 325750	218 A c	218 A c	288 B b	457 A b	1,28 A d	0,48 B c	150 A c	211 A b
PI 387865	390 A b	327 A b	418 A a	508 A b	1,02 A d	0,64 A c	232 A b	252 A b
PI 406940	213 A c	96 A c	318 A b	110 B e	1,47 A d	0,88 B c	160 A c	60 B d
PI 417654	148 A c	130 A c	414 A a	138 B e	2,82 A a	0,92 B c	183 A c	77 B d
PI 417754	169 A c	260 A b	286 A b	351 A c	1,73 A c	0,82 B c	140 A c	181 A b
PI 430204	223 A c	128 A c	295 A b	62 B e	1,32 B d	2,06 A a	153 A c	49 B d
PI 430206	170 A c	136 A c	297 A b	202 A d	1,75 A c	0,67 B c	144 A c	102 A c
PI 451917	161 A c	145 A c	382 A a	117 A e	2,35 A b	1,45 B b	173 A c	73 B d
PI 451921	191 A c	172 A c	300 A b	125 B e	1,62 A c	1,37 A b	149 A c	81 A d
PI 476693	299 A c	90 B c	386 A a	63 B e	1,43 A d	1,43 A b	202 A b	42 B d
PI 512003	138 A c	37 A c	456 A a	21 B e	3,18 A a	1,71 B a	196 A b	16 B d
PI 533363	646 A a	211 B c	128 A b	164 A d	0,98 A d	1,35 A b	177 A c	103 A c
PI 533498	193 A c	183 A c	353 A b	256 A d	1,83 A c	0,71 B c	169 A	131 A c
CNF 2019	613 A a	174 B c	417 A a	251 B d	0,65 A e	0,71 A c	276 A a	127 B c
Média	257 A	192 B	319 A	248 B	1,44 A	0,90 B	169 A	130 B
CV (%)	47,46		36,25		28,32		35,55	

Médias seguidas pela mesma letra (maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas) não diferem ao nível de 5% pelo Teste t de Student (LSD).

Triagem 116 genótipos

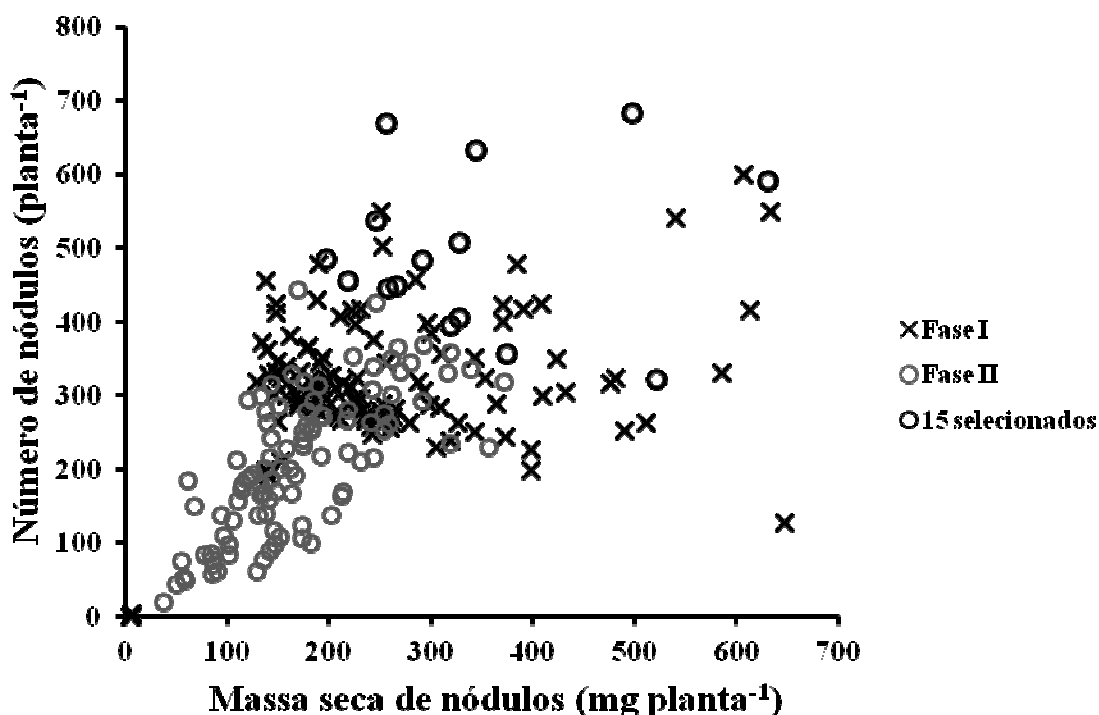


Figura 3. Dispersão do número de nódulos x massa seca de nódulos dos 116 genótipos nas duas fases, destacando os 15 genótipos selecionados para avaliação em campo.

Tabela 7. Número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de um nódulo e índice relativo de nodulação de 15 genótipos de feijoeiro, selecionados após duas etapas de avaliação em casa de vegetação.

Genótipo	CN ¹	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg)		Índice relativo de nodulação	
		Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II	Etapa I	Etapa II
CNF 0011234	C	633 A	497 A	550 A	685 A	0,89 A	0,73 A	329 A	351 A
CNF 0011559	C	585 A	630 A	332 B	593 A	0,57 A	1,05 A	239 B	344 A
CNF 0011239	C	192 A	344 A	306 B	634 A	1,53 A	0,54 B	151 B	302 A
PI 209491	M	409 A	256 A	301 B	670 A	0,74 A	0,38 A	193 B	297 A
PI 387865	M	390 A	327 A	418 A	508 A	1,02 A	0,64 B	232 A	253 A
CNF 0011228	C	384 A	246 A	480 A	538 A	1,25 A	0,44 B	254 A	246 A
CNF 0011026	C	188 A	291 A	431 A	485 A	2,33 A	0,60 B	197 A	237 A
CNF 0011137	C	170 B	521 A	291 A	323 A	1,72 A	1,68 A	141 A	223 A
CNF 0011075	C	262 A	266 A	273 B	450 A	1,05 A	0,60 A	153 A	218 A
CNF 0011095	C	222 A	196 A	417 A	486 A	1,88 A	0,40 B	198 A	217 A
CNF 0011240	C	226 A	257 A	397 A	447 A	1,74 A	0,59 B	192 A	216 A
CNF 0011028	C	364 A	327 A	289 A	407 A	0,96 A	0,81 A	179 A	215 A
PI 325750	M	218 A	218 A	288 B	457 A	1,28 A	0,48 B	150 A	211 A
PI 313633	M	187 A	319 A	299 A	396 A	2,09 A	0,75 B	148 A	210 A
CNF 0011086	C	203 A	374 A	275 A	358 A	1,36 A	1,05 A	142 A	207 A

¹ CN: Coleção nuclear, C do CIAT e M do México.

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem pelo Teste t de Student (LSD) a 5% de significância.

Tabela 8. Algumas características verificadas em campo para os genótipos de feijoeiro utilizados nos experimentos posteriores; médias de quatro experimentos, excetuando-se verão em Santo Antônio de Goiás (GO).

Genótipos	Outra Identificação	Área de coleta	Conjunto gênico (1)	Hábito de crescimento	Floração (dias após plantio)	Colheita	Massa de 100 grãos (g)
01. CNF 0011234	Mahalagi	Congo	A	Tipo III	45	90	39,5
02. CNF 0011559	Alcahuete	Equador	A	Tipo III	42	90	32,5
03. CNF0011239		Equador	A	Tipo II	35	80	21,0
04. PI 209491	G18800	Costa Rica	M	Tipo II	38	88	22,8
05. PI 387865*	W-941 d	Bolívia	A	Tipo III	40	88	47,0
06. CNF 0011228	Mexico0149	México	M	Tipo II	50	120	17,7
07. CNF 0011026*	Pinto	México	M	Tipo IV	40	90	20,2
08. CNF 0011137	Crema Ilindrico	México	M	Tipo IV	35	84	36,7
09. CNF 0011075	A 0686	Guatemala	M	Tipo II	40	88	25,5
10. CNF 0011095	Kentucky Wonder	EUA	M	Tipo III	50	118	20,7
11. CNF 0011240	Guatemala 1334	Guatemala	M	Tipo IV	35	88	21,5
12. CNF 0011028*	G19497	Peru	A	Tipo III	50	100	24,0
13. PI 325750	G19187	México	M	Tipo III	40	80	35,4
14. PI 313633	Narino 47	Colômbia	A	Tipo III	46	87	37,7
15. CNF 0011086	Chiapas 73	México	M	Tipo IV	36	86	17,4
16. Pérola			M	Tipo III	43	91	27,0
17. Ouro Negro			M	Tipo III	42	88	24,4
18. NORH 54			M	Tipo I	40	88	19,7

(1) A Andino e M Mesoamericano;

*Genótipos que não foram avaliados em Ponta Grossa (PR), pois não completaram o ciclo.



Figura 4. Sementes dos 15 genótipos selecionados para o experimento em campo e das cultivares utilizadas como referência, Pérola, Ouro Negro e NORH54.

3.6. CONCLUSÕES

Houve grande variabilidade nos indicadores de nodulação entre os materiais avaliados.

Mais de 20% dos genótipos apresentaram maior número de nódulos em comparação a cultivar de referência Ouro Negro, indicando o potencial desses genótipos para seleção de materiais eficientes no estabelecimento de simbiose com bactérias diazotróficas.

Genótipos do conjunto gênico mesoamericano apresentaram maior nodulação que os genótipos do conjunto gênico andino.

4. CAPÍTULO II

RESPOSTA À INOCULAÇÃO DE GENÓTIPOS MESOAMERICANOS E ANDINOS DE FEIJOEIRO EM TRÊS LOCALIDADES BRASILEIRAS

4.1 RESUMO

Uma das grandes dificuldades encontradas para a fixação biológica de nitrogênio (FBN) no feijoeiro comum é a falta de consistência da resposta das plantas à inoculação com rizóbio, para a recomendação apropriada do uso de inoculação, combinada ou não com fornecimento de N mineral. Nesse contexto, a exploração da diversidade genética dos dois conjuntos gênicos do feijoeiro - andino e mesoamericano - em condições de campo pode fornecer informações valiosas acerca desta relação simbiótica. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar, em condições de campo, 15 genótipos eficientes na nodulação que haviam sido previamente selecionados em casa de vegetação. Foram realizados cinco experimentos nas localidades de Santo Antônio de Goiás (GO), Ponta Grossa (PR), e Seropédica (RJ). Os 15 genótipos e as cultivares comerciais Pérola e Ouro Negro foram avaliadas sob duas fontes de N, inoculação das sementes com *Rhizobium* ou aplicação de N mineral (80 kg N ha⁻¹). O delineamento se deu em blocos ao acaso em parcelas subdivididas, as fontes de N dispostas nas parcelas e os genótipos nas subparcelas. Foram avaliados nodulação, biomassa e produtividade; e em alguns experimentos, teores de N-ureídicos na seiva e contribuição da FBN via abundância natural de ¹⁵N. Foram identificadas diferenças de comportamento entre os genótipos e de genótipos em relação à região geográfica; no entanto, todos os genótipos nodularam, mesmo quando receberam N mineral. Os teores de N-ureído nas seivas foram maiores nas plantas inoculadas e podem estar relacionados com a FBN e a remobilização interna do N. A maioria dos genótipos apresentaram produtividades similares às das cultivares comerciais, e as diferenças mais pronunciadas foram detectadas no experimento de Goiás, no inverno de 2013, enquanto as maiores similaridades foram observadas no inverno de 2014. Os genótipos adubados tiveram produtividades que variaram de 167 a 3567 kg ha⁻¹, e os inoculados variaram de 180 a 3307 kg ha⁻¹. Em ambos os casos, porém, os menores valores foram verificados no Paraná e os maiores valores no inverno de 2014, em Goiás, refletindo o obtido na média geral de produtividade para as localidades. As médias de produtividade dos genótipos sob adubação foram 1918, 2871, 1798 e 2201 kg ha⁻¹, e sob inoculação foram 1802, 2300, 1383 e 1570 kg ha⁻¹, no inverno de 2013 e inverno de 2014, em Goiás, no Paraná e no Rio de Janeiro, respectivamente. A técnica de abundância natural de ¹⁵N demonstrou que os genótipos mesoamericanos mais eficientes em fixar N₂ foram CNF 0011228 e CNF 0011086, com quase 70% de FBN, e os genótipos andinos mais eficientes foram CNF 0011234 e CNF 0011559, apresentando cerca de 40% de FBN. Os genótipos mais eficientes na avaliação de nodulação e na obtenção de N via fixação biológica foram CNF 0011234, CNF 0011028, CNF 0011559 e PI 387865, andinos, e CNF 0011075, CNF 0011137, CNF 0011240, PI 325750, mesoamericanos.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris*. Diversidade. Melhoramento de plantas.

4.2 ABSTRACT

One of the great difficulties for biological nitrogen fixation (BNF) in common beans is the lack of consistent responses to inoculation for appropriate recommendation to the use of inoculation, combined or not with mineral N supply. In this context, the exploitation of the genetic diversity of the two gene pools of beans, Andean and Mesoamerican, under field conditions, can provide valuable information about this symbiotic relationship. The aim of this study was to evaluate, in field conditions, 15 genotypes efficient for nodulation that had been previously selected in greenhouse. Five experiments were carried out in Santo Antônio de Goiás – GO (GO), Ponta Grossa – PR (PR), and Seropédica – RJ (RJ). The 15 genotypes and commercial cultivars Pérola and Ouro Negro were evaluated under two N sources, seed inoculation with *Rhizobium* or N fertilization (80 kg N ha⁻¹). A split plot design arranged in randomized complete block was used with N sources as main plots and genotypes as subplots. The nodulation, biomass, and grain yield were evaluated, and in some experiments ureides sap content and BNF contribution by ¹⁵N natural abundance technique. All genotypes showed nodules, even those who received N fertilization. Ureides sap concentrations were higher in inoculated plants and can be associated to the BNF and the internal N remobilization. Most genotypes showed similar grain yields to commercial cultivars. The most pronounced differences were detected in the Santo Antônio de Goiás experiment, in 2013 winter, and the greatest similarities, in 2014 winter. The fertilized genotypes had yields ranging from 167 to 3567 kg ha⁻¹ and inoculated genotypes ranged 180 to 3307 kg ha⁻¹. In both cases, the lowest values were found in PR and the highest values in the winter of 2014 in GO, reflecting the general yields average obtained in the locations. The average grain yields of the genotypes under fertilization were 1918, 2871, 1798 and 2201 kg ha⁻¹ and the inoculated genotypes were 1802, 2300, 1383 and 1570 kg ha⁻¹ in winter 2013 and winter 2014, in GO, in PR and RJ, respectively. The natural abundance of ¹⁵N technique showed that the most efficient Mesoamerican genotypes in obtaining atmospheric N were CNF 0011228 and CNF 0011086, with almost 70% of BNF, and the most efficient Andean genotypes were CNF 0011234 and CNF 0011559, with about 40% of BNF. The most efficient genotypes in nodulation and in obtaining N by biological fixation were CNF 0011234, CNF 0011028, CNF 0011559 and PI 387865, Andean genotypes, and CNF 0011075, CNF 0011137, CNF 0011240, PI 325750, Mesoamerican genotypes.

Key words: *Phaseolus vulgaris*. Diversity. Plant breeding.

4.3. INTRODUÇÃO

O feijão é um alimento tradicional para milhões de pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento, além de ter papel fundamental como fonte de proteína acessível a relativo baixo custo. No Brasil, o feijoeiro é cultivado principalmente por agricultores familiares (IBGE, 2006), geralmente com baixo emprego de insumos. No entanto, nos últimos anos, grandes produtores, com acesso a tecnologias como o uso de irrigação e insumos agrícolas, têm aumentado a participação no mercado e alcançado grande produtividade com a cultura, principalmente em períodos de entressafra.

Nesse contexto, a utilização da fixação biológica de nitrogênio (FBN) como fonte parcial ou total de suprimento do N poderia atender às duas demandas, representando uma maior produtividade possível de ser alcançada pelo agricultor familiar com a adoção de inoculantes, além de uma economia no uso de recursos por parte do produtor tecnificado, em substituição ao adubo mineral. Em ambos os casos, ainda haveria o ganho ambiental à medida que se usaria um recurso menos impactante que o adubo mineral, já que a cadeia de produção deste último demanda a queima de recursos fósseis e provoca a liberação de gases que acentuam o efeito estufa.

O feijoeiro, no entanto, apresenta uma relação de promiscuidade na simbiose, na qual uma gama abrangente de microorganismos nativos pode competir com as bactérias presentes no inoculante (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; PEIX et al., 2015). Tal fato tem tornado difícil a recomendação da inoculação como suprimento total de N, ou combinada com adubação mineral, para a cultura do feijão.

Além desse aspecto no que tange à simbiose, o melhoramento do feijoeiro vem sendo realizado priorizando características como resistência a patógenos, porte da planta e alta produtividade (BROUGHTON et al., 2003). Além disso, os programas de melhoramento são conduzidos com suprimento abundante de N mineral, favorecendo genótipos que respondam à adubação mineral em detrimento daqueles que pudessem ter mais capacidade de obtenção de N via FBN. No início dos anos 1990, alguns trabalhos foram realizados para desenvolvimento de cultivares de feijoeiro com boas respostas ao processo de FBN (BLISS et al., 1993; PEREIRA et al., 1993), mas esses esforços pouco avançaram, acentuados pela carência de estudos voltados à seleção de cultivares de feijoeiro comum que respondam bem à FBN (GRAHAM et al., 2003; BEAVER & OSORNO, 2009). Além de aliar as características atualmente desejáveis ao feijoeiro, como resistência a patógenos, qualidade de grãos e produtividade, o melhoramento que vise incrementar a FBN deve aliar a investigação de microrganismos eficientes com genótipos de plantas eficientes na simbiose (RANALLI & CUBERO, 1997).

A domesticação resulta no processo denominado “efeito de afunilamento”, que consiste na perda de diversidade genética em que alguns genes vão sendo mantidos e outros eliminados em função da seleção de características específicas (SONNANTE et al., 1994). A exploração da diversidade genética é fundamental para identificar plantas que sejam capazes de melhores respostas à inoculação com bactérias eficientes, para servirem como possíveis genitores no melhoramento voltado para aumento da contribuição do N de origem simbiótica.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições de campo em diferentes regiões climáticas do Brasil, a resposta de genótipos de feijoeiro dos conjuntos gênicos andino e mesoamericano, previamente avaliados em casa de vegetação, à inoculação com estirpes comerciais de rizóbio, em comparação à adubação nitrogenada.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

Com 15 genótipos selecionados previamente em experimentos em casa de vegetação, foram conduzidos cinco experimentos em condições de campo em três distintas regiões produtoras brasileiras: Centro-Oeste, Sul e Sudeste. Os genótipos foram avaliados em relação à resposta à inoculação, características agronômicas e monitoramento das condições fisiológicas. Como referência, foram avaliadas as cultivares Pérola e Ouro Negro, além da linhagem não nodulante de feijoeiro NORH 54, utilizada como testemunha não nodulante.

Foram executados três experimentos no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, verão de 2013/2014 e inverno de 2014, com manejo convencional. Outro experimento foi realizado no campo experimental do IAPAR em Ponta Grossa (PR), no verão de 2014, com manejo adotando a semeadura direta. Em Seropédica (RJ), o procedimento conduzido consistiu em um experimento no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, no inverno de 2014, em sistema convencional de manejo.

Em cada experimento, os genótipos e as cultivares comerciais foram avaliados sob duas fontes de N, inoculação das sementes com estirpes comerciais de rizóbio ou aplicação de N mineral (80 kg ha⁻¹ de N), em delineamento de blocos ao acaso em parcelas subdivididas, sendo as fontes de N dispostas nas parcelas e os genótipos nas subparcelas. O experimento desenvolvido no inverno (3^a safra) de 2013 em Goiás possuía três repetições, enquanto os demais eram compostos por quatro repetições.

Foram analisados a nodulação, acúmulo de biomassa e de N nos tecidos vegetais na floração e os aspectos agronômicos relacionados à produtividade. A contribuição da FBN foi determinada pelo método da abundância natural de ¹⁵N, no experimento do inverno de 2013 de Santo Antônio de Goiás (GO). Além disso, nos três experimentos conduzidos em Santo Antônio de Goiás, foram avaliados os teores de N-uréido na seiva das plantas. Nos experimentos de inverno foram ainda avaliados alguns aspectos fisiológicos das plantas.

4.4.1. Instalação dos experimentos

O experimento consistiu da avaliação dos 15 genótipos selecionados, além das cultivares comerciais Ouro Negro (grãos pretos) e Pérola (grãos do tipo carioca), e do genótipo não nodulante NORH54, utilizados como referências.

a) Santo Antônio de Goiás(GO), inverno de 2013

Foi realizado em um Latossolo Vermelho no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, latitude 16°30'21.80"S, longitude 49°16'32.11"O, altitude de 784 m, em Santo Antônio de Goiás, GO, cujo clima é tropical de savana e megatérmico, tipo Aw, no inverno de 2013, com plantio realizado em 2 de julho de 2013.

A análise de solo na profundidade de 0-20 cm foi efetuada de acordo com EMBRAPA (1997), para determinação das características químicas e físicas antes do plantio: pH em água 5,8; pH em KCl (1M) 5,1; pH em CaCl₂ (0,01M) 4,6; 3,2 cmol_c Ca dm⁻³; 1,2 cmol_c Mg dm⁻³; 0,0 cmol_c Al dm⁻³; 4,1 cmol_c H⁺Al dm⁻³; 17,9 mg P dm⁻³; 250 mg K dm⁻³; 1,8 mg Cu dm⁻³; 3,3 mg Zn dm⁻³; 21,2 mg Fe dm⁻³; 58 mg Mn dm⁻³; 28,15 g kg⁻¹ de matéria orgânica; textura argilosa (argila 55,4%, silte 15,4%, areia 29,1%).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com três repetições, com fatorial 2x18 em parcelas divididas entre duas fontes de N (dispostas nas parcelas) e 18

genótipos (dispostos nas subparcelas). Cada subparcela, separadas entre si por 1 m, foi constituída por quatro linhas de 4 m e 0,45 m entre linhas, com densidade de 12 sementes por metro linear de sulco. A irrigação foi realizada por autopropelido.

As fontes de N avaliadas foram adubação com nitrogênio mineral (ureia) e inoculação com rizóbio. O tratamento adubado consistiu em 80 kg N ha⁻¹ (cuja aplicação foi fracionada em duas doses de 40 kg N ha⁻¹, no plantio e aos 25 dias após emergência), enquanto o tratamento sob inoculação deu-se por aplicação de inoculante turfoso com as estirpes SEMIA 4077 e 4088 (*R. tropici*) e SEMIA 4080 (*R. freirei*) e, na proporção de 500 g de turfa (10⁹ células g⁻¹ de turfa) para 50 kg de sementes, acrescentando-se 300 mL de solução açucarada a 10 % (p:v), visando à melhoria de sua aderência às sementes. As subparcelas que receberam a linhagem NORH 54 não receberam os tratamentos, já que este genótipo foi utilizado como controle não fixador de N. Em todo o experimento, foi realizada adubação no plantio com 150 kg ha⁻¹ da formulação 0-20-20 de NPK e 62 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na forma de super fosfato triplo (Tabela 9).

b) Santo Antônio de Goiás (GO), verão de 2013/2014

Foi realizado em um Latossolo Vermelho no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, latitude 16°29'51.60"S, longitude 49°16'45.43"O, altitude de 816 m, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão de 2013/2014, com plantio em 27 de dezembro de 2013.

A análise de solo foi efetuada de acordo com EMBRAPA (1997) para determinação das características químicas e físicas antes do plantio: pH em água 5,6; pH em KCl (1M) 4,7; pH em CaCl₂ (0,01M) 4,3; 2,1 cmol_c Ca dm⁻³; 0,8 cmol_c Mg dm⁻³; 0,1 cmol_c Al dm⁻³; 4,2 cmol_c H⁺Al dm⁻³; 4,17 mg P dm⁻³; 156 mg K dm⁻³; 2,9 mg Cu dm⁻³; 3,4 mg Zn dm⁻³; 66,6 mg Fe dm⁻³; 57 mg Mn dm⁻³; 30,02 g kg⁻¹ de matéria orgânica; textura muito argilosa (argila 63,4%, silte 13,4%, areia 23,1%).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, com fatorial 2x18 em parcelas divididas entre duas fontes de N (dispostas nas parcelas) e 18 genótipos (dispostos nas subparcelas). Cada subparcela, separadas entre si por 1 m, foi constituída por quatro linhas de 4 m e 0,45 m entre linhas, com densidade de 12 sementes por metro linear de sulco, sem aplicação de irrigação e os dados de precipitação e temperatura foram monitorados durante o período de condução do experimento (Figura 5). A adubação complementar adotada foi a mesma descrita no experimento anterior (Tabela 9).

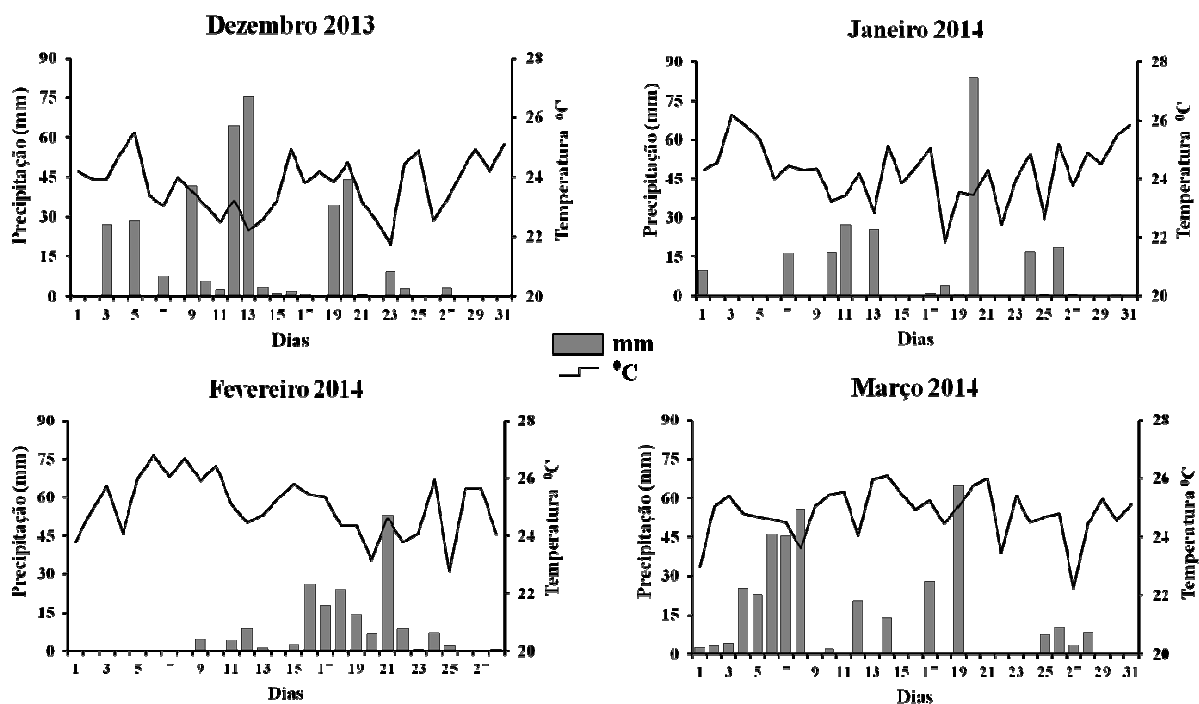


Figura 5. Precipitação total e temperatura média no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão em Santo Antônio de Goiás (GO), no período de condução do experimento de verão (2013/2014). Fonte: Embrapa Arroz e Feijão.

c) Santo Antônio de Goiás (GO), inverno de 2014

Realizou-se um experimento em um Latossolo Vermelho no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, latitude 16°29'11.22"S, longitude 49°17'58.15"O, altitude de 773 m, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno (3ª safra), com plantio em 26 de maio de 2014.

A análise de solo foi efetuada de acordo com EMBRAPA (1997) para determinação das características químicas e físicas antes do plantio: pH em água 5,8; pH em KCl (1M) 4,6; pH em CaCl₂ (0,01M) 4,5; 1,1 cmol_c Ca dm⁻³; 0,7 cmol_c Mg dm⁻³; 0,1 cmol_c Al dm⁻³; 5,6 cmol_c H⁺Al dm⁻³; 20,2 mg P dm⁻³; 172 mg K dm⁻³; 1,6 mg Cu dm⁻³; 3,3 mg Zn dm⁻³; 39,8 mg Fe dm⁻³; 6,5 mg Mn dm⁻³; 28,82 g kg⁻¹ de matéria orgânica; textura argilo-arenosa (argila 44,6%, silte 9,6%, areia 45,8%). Além disso, foi realizada a análise do teor de N no solo pelo método de Dumas (Analisador Elemental Perkin Elmer CNHS/O2400 Série II) e o resultado foi 0,12%.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, em fatorial 2x18 em parcelas divididas entre duas fontes de N (dispostas nas parcelas) e 18 genótipos (dispostos nas subparcelas). Cada subparcela, separadas entre si por 1 m, foi constituída por quatro linhas de 4 m e 0,45 cm entre linhas, com densidade de 12 sementes por metro linear de sulco. A irrigação foi realizada por pivot central. Os tratamentos adotados foram os mesmos descritos nos experimentos anteriores, exceto para a linhagem NORH 54, que nas subparcelas do tratamento inoculação não receberam o tratamento, e as adubadas, que receberam N-mineral como as demais. Em todo o experimento, foi realizada adubação no plantio com 400 kg ha⁻¹ da formulação 0-20-20 de NPK (Tabela 9).

d) Ponta Grossa (PR)

O experimento foi implantado em um Latosso Vermelho no campo experimental do IAPAR, latitude 25°10'0.77"S, longitude 50°9'59.28"O, altitude de 804 m, em Ponta Grossa (PR), com clima subtropical úmido mesotérmico, tipo Cfb, cujo plantio ocorreu no dia 15 de janeiro de 2014.

A análise de solo foi efetuada de acordo com EMBRAPA (1997) para determinação das características químicas e físicas antes do plantio: pH em água 6,1; pH em KCl (1M) 5,4; pH em CaCl₂ (0,01M) 4,8; 4,4 cmol_c Ca dm⁻³; 2,7 cmol_c Mg dm⁻³; 0,0 cmol_c Al dm⁻³; 5,2 cmol_c H⁺Al dm⁻³; 23,08 mg P dm⁻³; 203 mg K dm⁻³; 1,4 mg Cu dm⁻³; 1,0 mg Zn dm⁻³; 23 mg Fe dm⁻³; 42,2 mg Mn dm⁻³; 51,25 g kg⁻¹ de matéria orgânica; textura argilosa (argila 53,4%, silte 23,4%, areia 23,1%).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, em fatorial 2x18 com parcelas divididas entre duas fontes de N (dispostas nas parcelas) e 18 genótipos (dispostos nas subparcelas). Cada subparcela, separadas entre si por 1 m, foi constituída por quatro linhas de 4 m e 0,45 m entre linhas, com densidade de 12 sementes por metro linear de sulco, sem aplicação de irrigação e os dados de precipitação e temperatura foram monitorados durante o período de condução do experimento (Figura 6). Os tratamentos adotados foram os mesmos descritos nos experimentos anteriores na Região Centro-Oeste. Em todo o experimento, foi realizada adubação no plantio com 280 kg ha⁻¹ da formulação 0-20-20 de NPK (Tabela 9).

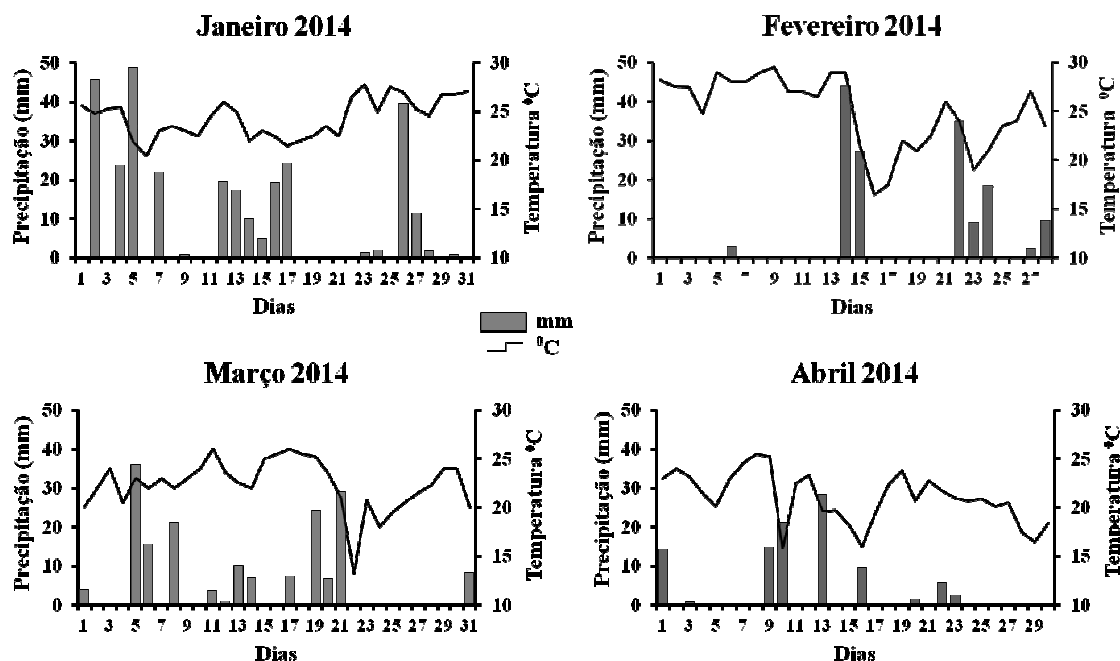


Figura 6. Precipitação total e temperatura média na estação experimental do IAPAR, em Ponta Grossa (PR), durante o período de condução do experimento. Fonte: Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR).

e) Seropédica (RJ)

O experimento foi implantado em Argissolo Vermelho Amarelo, localizado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, no terraço, latitude 22°45'3.34" S, longitude 43°40'2.60" O, elevação 41 m, Seropédica (RJ) O clima é tropical semi-úmido, tipo Aw, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. O plantio ocorreu no dia 29 de abril de 2014.

A análise de solo foi efetuada de acordo com o manual de análises de solo (EMBRAPA, 1997) para determinação das características químicas e físicas antes do plantio: pH em água 5,3; 3,2 cmol_c Ca dm⁻³; 2,1 cmol_c Mg dm⁻³; 0,0 cmol_c Al dm⁻³; 4,6 cmol_c H⁺Al dm⁻³; 7,1 mg P dm⁻³; 73 mg K dm⁻³; textura argilosa.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, em fatorial 2x18 em parcelas divididas entre duas fontes de N (dispostas nas parcelas) e 18 genótipos (dispostos nas subparcelas). Cada subparcela, separadas entre si por 1 m, foi constituída por quatro linhas de 4 m e 0,50 m entre linhas, com densidade de 12 sementes por metro linear de sulco, irrigado com aspersores. Os tratamentos adotados foram os mesmos descritos nos experimentos anteriores na Região Centro-Oeste. Em todo o experimento, foi realizada adubação no plantio com 90 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato triplo e 80 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio (Tabela 9).

Tabela 9. Resumo dos experimentos de campo para avaliação de 18 genótipos de feijoeiro, crescidos sob adubação nitrogenada e inoculação com rizóbios.

Local do Experimento	Época	Solo*	Adubação complementar (ha ⁻¹)	Manejo	Irrigação
Santo Antônio de Goiás (GO)	Inverno 2013	LV	150 kg NPK (0-20-20); 62 kg P ₂ O ₄ (super fosfato triplo)	C	Autopropelido
Santo Antônio de Goiás (GO)	Inverno 2014	LV	150 kg NPK (0-20-20); 62 kg P ₂ O ₄ (super fosfato triplo)	C	Pivô
Santo Antônio de Goiás (GO)	Verão 2013/14	LV	400 kg NPK (0-20-20)	C	Não irrigado
Ponta Grossa (PR)	Verão 2014	LV	280 kg NPK (0-20-20)	SD	Não irrigado
Seropédica (RJ)	Inverno 2014	PV	90 kg P ₂ O ₄ (super fosfato triplo); 80 kg K ₂ O (cloreto de potássio)	C	Aspersores

*Sistema Brasileiro de Classificação de Solos: LV Latossolo Vermelho, PV Argissolo Vermelho Amarelo.

4.4.2 Avaliações

a) Nodulação, biomassa, produção de grãos e acumulação de N

Em todos os experimentos de campo, foram coletadas aleatoriamente quatro plantas em cada subparcela na fase de desenvolvimento fisiológico R6, correspondente à floração plena (FERNÁNDES et al., 1986). As raízes foram coletadas com o auxílio de pá reta, e as plantas foram separadas em parte aérea e sistema radicular. As raízes foram, então, lavadas e os nódulos retirados e contados; os nódulos e a parte aérea foram secos em estufa com circulação de ar forçada (65 °C por 48 h) para determinação da massa seca de nódulos e massa seca de parte aérea, e as amostras de parte aérea foram moídas em moinhos tipo Willey, para determinação do teor de N pelo método semimicro Kjeldhal após digestão sulfúrica (Malavolta et al., 1997). A quantidade de N acumulado na parte aérea foi obtida pelo produto entre o teor e a massa seca de parte aérea.

Em uma área de 1 m² nas duas linhas centrais de cada parcela, as plantas foram coletadas na maturação para determinação da produtividade. As plantas foram arrancadas do solo e colocadas em sacos de pano, disponibilizados em um galpão coberto e suspensos por arame para secagem. Nas plantas colhidas, foram determinados o número de plantas e o número de vagens, e as vagens foram trilhadas manualmente. Os grãos de cada parcela foram pesados, e foi retirada uma amostra de 100 grãos que foi pesada, seca em estufa e pesada novamente, obtendo-se o teor de umidade dos grãos de cada parcela. Assim, o rendimento de grãos de cada parcela foi padronizado para 13% de teor de umidade.

b) Teores de N-ureído na seiva das plantas no período da floração

A quantificação dos teores de N-ureído na seiva do xilema das plantas de feijoeiro dos experimentos do Centro-Oeste seguiu o método de Vogels & Van Der Drift (1970), descrito em Hungria & Araújo (1994).

As coletas foram realizadas entre 7 e 10 h da manhã, quando as plantas estavam no estágio R6 (floração). Foram sorteados três blocos de cada tratamento para a realização da coleta, haja vista a limitação do tempo para se extrair a seiva.

O caule de cada planta foi cortado na altura do nó cotiledonar, lavado com água destilada e seco com papel toalha. Foram utilizados tubos capilares de 1 mm para coleta da seiva, que foi transferida para tubo tipo eppendorf e mantida sob congelamento até o momento da análise.

A primeira etapa da análise consistiu na hidrólise alcalina da alantoína: em tubos de ensaio, adicionou-se uma amostra de 50 µL de seiva seguida de 700 µL de água destilada e 250 µL de NaOH, 0,5 N. Procedeu-se agitação em agitador tipo vórtex, seguindo-se com aquecimento a 100 °C em banho-maria durante oito minutos, e uma etapa posterior de resfriamento.

A segunda etapa consistiu na hidrólise ácida do ácido alantóico: após o período de resfriamento, adicionou-se 250 µL de HCl 0,65 N, seguido de novo aquecimento de 100 °C durante quatro minutos em banho-maria. Após nova fase de resfriamento, foi adicionado 250 µL de tampão fosfato pH 7,0 (0,4 M) e 250 µL de fenilhidrazina 0,33%, deixando os tubos à temperatura ambiente por cinco minutos.

Posteriormente ao resfriamento, transferiu-se os tubos para um banho de gelo, acrescentou-se 1,25 mL de HCl concentrado previamente gelado e 250 µL de ferricianeto de potássio 1,65%. Terminado o procedimento, retiraram-se os tubos do banho de gelo, mantendo-os à temperatura ambiente por 10 minutos.

A concentração de ureídeos foi estimada por leitura da absorbância da solução em espectrofotômetro ($\lambda = 535 \text{ nm}$), tendo como referência uma curva padrão formulada a partir de alantoína 0,5 mM, cujas concentrações variaram de 0 a 125 nmol de alantoína.

c) Aspectos fotossintéticos

Nos experimentos implantados durante as duas estações de inverno no Centro-Oeste, as trocas gasosas das plantas foram avaliadas na fase de início de formação das primeiras vagens (R7), época ativa dos drenos por fotoassimilados e compostos nitrogenados. Uma primeira amostragem foi realizada quando havia pelo menos metade das plantas com início de formação de vagens, e outra uma semana depois, quando todas as plantas já possuíam vagens pequenas.

As medições ocorreram no período entre 8 e 11 h em uma planta distinta por subparcela, nas folhas intermediárias completamente expandidas. Foram analisados três blocos por tratamento em função da limitação no tempo de amostragem. Para monitoramento das trocas gasosas, foi utilizado o aparelho IRGA LCpro+ (ADC Bio Scientific Ltda), obtendo a taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e a transpiração (E , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), e estimando a eficiência de uso da água ($A.E^{-1}$) (VON CAEMMERER & FARQUHAR, 1981).

d) Abundância natural de ^{15}N

Nos experimentos conduzidos no inverno de 2013 no Centro-Oeste, foram realizadas determinações da abundância natural de $\delta^{15}\text{N}$ na fase fenológica R6 (floração). As amostras da parte aérea das plantas foram levadas para moinho de rolagem até a pulverização (SMITH & UM, 1990). Após a pulverização das amostras, foram realizadas análises da abundância natural de ^{15}N com auxílio do espectrômetro de massa Europa Scientific Hydra 20-20 IRMS, acoplado com autoanalisador ANCA GSL no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA-USP, em Piracicaba (SP). No processo, foi considerado como testemunha o genótipo não nodulante de feijoeiro NORH 54.

A estimativa da contribuição da FBN pela técnica de abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$), conforme descrito em Shearer & Kohl (1986) e Peoples et al. (2002), foi obtida de acordo com a fórmula:

$$\%FBN = \left(\frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta teste}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - B)} \right) \times 100$$

sendo: $\delta^{15}\text{N}$ da planta testemunha – valor de $\delta^{15}\text{N}$ do solo obtido através de plantas não fixadoras, utilizadas como referência; $\delta^{15}\text{N}$ da planta teste – valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta fixadora de N_2 (genótipos de feijoeiro); B – valor da discriminação isotópica de ^{15}N feita pelas plantas durante o processo de FBN.

Neste trabalho, foi adotado o valor B de -1,2 obtido por Pacheco (2014), que em sua pesquisa de doutorado avaliou, em casa de vegetação, três cultivares de feijoeiro (Radiante, Ouro Negro, Grafite), obtendo um valor B médio da parte aérea de -1,229‰. O valor da contribuição da FBN foi multiplicado pela quantidade de N acumulado na parte aérea de cada parcela, obtendo-se a quantidade de N derivado da FBN.

e) Análises estatísticas

Os dados obtidos em cada experimento foram submetidos à análise de variância como um fatorial duplo em subparcela, com as fontes de N consideradas como parcela e os genótipos como subparcela.

Após a realização da análise de variância, foi realizado o desdobramento da interação entre genótipos e as fontes de N, com a reorganização das somas dos quadrados de forma a avaliar o efeito das fontes de N dentro de cada genótipo, e os efeitos de genótipos dentro de cada fonte de N. Tal desdobramento foi efetuado mesmo quando a análise de variância identificou que a interação genótipo x fonte de N não foi significativa, conforme procedimento adotado em livros clássicos de análise de variância experimental (COCHRAN & COX, 1957), pois os efeitos significativos dos fatores isolados estão também inseridos nos desdobramentos. A Tabela 10 apresenta um exemplo desde desdobramento da interação.

Para os dados de estimativa da FBN pela abundância natural de ^{15}N , a análise de variância foi efetuada como um único fator (genótipo). As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância; e as análises foram efetuadas com o software Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011).

Tabela 10. Exemplo de análise de variância dos dados de produtividade, obtida no experimento de Seropédica (RJ), com desdobramento das interações.

FV	GL	SQ	QM	F	Prob.
Repetição	3	4251198	1417066	4,27	0,0069
Fonte N	1	14315503	14315503	43,11	0,0000
Genótipo	17	25024895	1472053	4,43	0,0000
Genótipo x Fonte N	17	6091125	358301	1,08	0,3839
Fonte N	1	14315503	14315503	43,11	0,0000
Gen / N1	17	18290654	1075921	3,24	0,0001
Gen / N2	17	12825367	754433	2,27	0,0060
Genótipo	17	25024895	1472053	4,43	0,0000
Fonte N / G 1	1	327241	327241	0,99	0,3232
Fonte N / G 2	1	226465	226465	0,68	0,4108
Fonte N / G 3	1	1598472	1598472	4,81	0,0304
Fonte N / G 4	1	396495	396495	1,19	0,2770
Fonte N / G 5	1	909901	909901	2,74	0,1009
Fonte N / G 6	1	3391710	3391710	10,21	0,0018
Fonte N / G 7	1	895791	895791	2,67	0,1035
Fonte N / G 8	1	807721	807721	2,43	0,1219
Fonte N / G 9	1	3797768	3797768	11,44	0,0010
Fonte N / G 10	1	2910078	2910078	8,76	0,0038
Fonte N / G 11	1	1149128	1149128	3,46	0,0657
Fonte N / G 12	1	107648	107648	0,32	0,5703
Fonte N / G 13	1	1162813	1162813	3,50	0,0641
Fonte N / G 14	1	462241	462241	1,39	0,2408
Fonte N / G 15	1	465130	465130	1,40	0,2393
Fonte N / G 16	1	54615	54615	0,16	0,6859
Fonte N / G 17	1	778752	778752	2,35	0,1287
Fonte N / G 18	1	964661	964661	2,91	0,0913
Erro	105	34870113	332096		

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Santo Antônio de Goiás (GO), inverno de 2013

a) Nodulação

Houve efeito entre os genótipos e as fontes de N e da interação genótipo x fonte de N (Tabela 11).

Tabela 11. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6) coletadas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013. Dados transformados para raiz quadrada.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Blocos	2	50,20 ^{ns}	59,55 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Fonte N (F)	1	586,04*	887,25*	3,46*
Resíduo	2	41,86	51,86	0,06
Genótipos (G)	17	49,91**	37,23**	0,30**
Interação GxF	17	16,88*	16,53*	0,12**
Resíduo	36	6,93	7,30	0,03

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Exceto pelo genótipo referência não nodulante NORH 54, todos os genótipos apresentaram alguma nodulação (Tabela 12). O desmembramento da interação genótipo x fonte de N permitiu a observação de que, para oito genótipos, houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos, com maiores valores obtidos daqueles inoculados (Tabela 12). Assim sendo, a verificação de nodulação nas parcelas que receberam N mineral, e que não haviam sido inoculadas, sugere eficiência na capacidade de infestação das bactérias presentes no solo (VARGAS et al., 2000; KANEKO et al., 2010).

Diferenças entre genótipos distintos sob mesma fonte de N também foram observadas, resultando em uma média de 22 nódulos planta⁻¹ sob adubação, e 97 nódulos planta⁻¹ sob inoculação (Tabela 12). Os valores variaram de ausência de nódulos, observada em NORH 54 nos dois tratamentos; e na cultivar comercial Pérola (grão tipo carioca) adubada com uréia, até 265 nódulos planta⁻¹ no genótipo CNF 0011028, sob inoculação.

A inibição de nodulação com a adubação de N mineral tem sido comumente relatada na literatura (FERREIRA et al., 2000; SOUZA et al., 2011). Por outro lado, o fato de haver nodulação mesmo sob aplicação de N mineral indica eficiência da capacidade de nodulação desses genótipos com bactérias presentes no solo, em condições de N disponível e sem inoculação. Outros trabalhos obtiveram a mesma nodulação entre tratamentos inoculados e adubados (VARGAS et al., 2000; HUNGRIA et al., 2003), e, ainda, igualdade entre as nodulações em tratamentos inoculados, nitrogenados e testemunha absoluta, porém, sendo verificada correlação entre o aumento no suprimento de N mineral com a diminuição no número de nódulos (PELEGRIN et al., 2009).

A massa seca de nódulos (MSN) foi ainda mais divergente entre os genótipos submetidos a diferentes fontes de N. Praticamente todos os genótipos inoculados superaram os nitrogenados em MSN, evidenciado pela diferença na média geral entre os tratamentos, com 8,33 mg planta⁻¹ no tratamento adubado e 87,12 mg planta⁻¹ no inoculado (Tabela 12). Entre genótipos distintos sob mesma fonte de N, também houve diferença para MSN (Tabela 12).

A cultivar comercial Ouro Negro, o genótipo não nodulante NORH e os genótipos CNF 0011234, CNF 0011026, CNF 0011137 e PI 387865 não divergiram estatisticamente na MSN para as fontes de N (Tabela 12). O maior valor observado para MSN foi de 275 mg planta⁻¹, alcançado pelo genótipo CNF 0011095 sob inoculação. Este genótipo inoculado havia apresentado 254 nódulos planta⁻¹, e a sua média para massa seca de um nódulo (MSIN) foi de 1,17 mg nódulo⁻¹ (Tabela 12). A despeito do maior número de nódulos, a MSN para o genótipo CNF 0011028 sob inoculação foi de 156 mg planta⁻¹ e a MSIN foi de 0,65 mg nódulo⁻¹ (Tabela 12).

Em um experimento no qual foram testados genótipos de feijoeiro com grãos tipo carioca sob adubação e inoculação, foi observado que a MSN não variou entre os genótipos sob mesma adubação, não corroborando com o presente trabalho (OTSUBO et al., 2013). No entanto, a verificação de alguns genótipos inoculados com maiores valores de MSN, em comparação com os mesmos adubados, assemelha-se com o encontrado neste estudo (OTSUBO et al., 2013).

Nove genótipos inoculados apresentaram valores de MSIN maiores que seus equivalentes adubados, sendo o maior desses valores obtido por CNF 0011239, com 1,90 mg nódulo⁻¹ (Tabela 12).

Quatro genótipos, além da cultivar Ouro Negro, apresentaram ainda média maior que 100 nódulos planta⁻¹ e as maiores médias para MSN (Tabela 12). Além dos dois já citados, os outros foram CNF 0011075 e CNF 0011240. O clássico trabalho de Johanna Döbereiner com plantas de soja e feijoeiro já estabelecia correlação entre aumento na massa de nódulos com o aumento do nitrogênio acumulado nas plantas via FBN (DÖBEREINER, 1966). No entanto, nesta pesquisa só foi verificada correlação entre as variáveis NN e MSN (Tabela 22).

Tabela 12. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg nódulo ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	14 abc	66 c	2,87 ab	42,43 cdef	0,20 abc	0,46 c
02. CNF 0011559	58 ab	83 abc	2,14 ab	60,94 bcde*	0,04 bc	0,70 bc*
03. CNF 0011239	5 bc	26 cd	1,48 ab	51,76 bcdef*	0,34 ab	1,90 a*
04. PI 209491	39 abc	95 abc	11,53 ab	55,93 bcde*	0,30 ab	0,61 bc
05. PI 387865	10 abc	37 cd	3,18 ab	30,50 def	0,28 ab	0,61 bc
06. CNF 0011228	10 abc	97 abc*	3,67 ab	91,67 bcde*	0,34 ab	0,86 abc*
07. CNF 0011026	7 bc	28 cd	1,93 ab	25,20 cdef	0,29 ab	0,90 abc*
08. CNF 0011137	4 bc	20 cd	1,44 ab	20,01 ef	0,35 ab	1,39 abc*
09. CNF 0011075	32 abc	117 abc	13,35 ab	172,82 abcd*	0,42 ab	1,57 ab*
10. CNF 0011095	16 abc	254 ab*	3,68 ab	275,46 a*	0,22 abc	1,17 abc*
11. CNF 0011240	48 abc	220 ab*	20,20 ab	173,84 ab*	0,42 ab	0,82 abc
12. CNF 0011028	12 abc	265 a*	5,55 ab	156,24 abc*	0,46 ab	0,65 bc
13. PI 325750	3 bc	45 cd*	2,68 ab	36,36 cdef	0,86 a	0,65 c
14. PI 313633	19 abc	88 abc*	8,07 ab	60,05 bcde*	0,39 ab	0,65 bc
15. CNF 0011086	24 abc	82 abc*	9,27 ab	96,11 abcde*	0,30 ab	1,28 abc*
16. Pérola	0 c	89 bc*	0,00 b	86,32 bcde*	0,00 c	0,76 bc*
17. Ouro Negro	93 a	130 abc	58,95 a	132,48 abcde	0,62 a	0,93 abc
18. NORH 54**	0 c	0 d	0,00 b	0,00 f	0,00 c	0,00 d
Média	22	97*	8,33	87,12*	0,32	0,88*
CV (%)	33,69		40,93		25,36	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

b) Biomassa

Houve efeito de genótipos para massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N na parte aérea (NT) e N acumulado na parte aérea (NAPA), não sendo observado efeito das fontes de N (Tabela 13). Pelegrin et al. (2009) também não encontraram diferença na MSPA e NT entre testemunha, inoculação e adubação, enquanto em outro trabalho testando estirpes bacterianas, *R. etli* e *R. tropici*, GONZÁLEZ et al. (2008) observaram igualdade de resultados para a inoculação entre as duas espécies bacteriana, que por sua vez, foram menores que o tratamento de recebeu N mineral.

Entre os genótipos adubados, CNF 0011240 foi o que mais produziu MSPA com 18,28 g planta⁻¹; e o que menos produziu foi PI 387865, com 4,92 g planta⁻¹ (Tabela 14). No desdobramento da interação, foi verificada diferença entre os tratamentos para os genótipos CNF 0011228, CNF 0011240, CNF 0011086 e a cultivar comercial Pérola, nos quais os maiores valores de MSPA foram conferidos para adubação (Tabela 14).

O genótipo CNF 0011075 e a cultivar comercial Pérola possuíam maiores valores de NT sob inoculação em relação aos correspondentes adubados (Tabela 14). No que tange ao NAPA, apenas cinco genótipos, sob inoculação, foram inferiores aos correspondentes adubados (Tabela 14).

Tabela 13. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro, na floração (estádio R6), coletadas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Fonte de Variação	GL	Massa seca de parte aérea	Teor de nitrogênio na parte aérea	Nitrogênio acumulado na parte aérea
Blocos	2	6,36 ^{ns}	80,47 ^{ns}	4,13 x 10 ^{4ns}
Fonte N (F)	1	190,78 ^{ns}	2,00 ^{ns}	2,45 x 10 ^{5 ns}
Resíduo	2	12,31	44,22	2,17 X 10 ⁴
Genótipos (G)	17	44,03**	70,73*	8,82 x 10 ^{4**}
Interação GxF	17	13,81 ^{ns}	39,92 ^{ns}	1,46 x 10 ^{4ns}
Resíduo	36	8,42	33,96	1,46 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Tabela 14. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)		Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	8,36 bcde	7,42 a	37,38 a	35,07 abc	317 bcd	259 b
02. CNF 0011559	9,47 bcde	8,78 a	38,67 a	42,07 ab	368 abcd	381 ab
03. CNF 0011239	9,23 bcde	9,32 a	36,85 a	42,41 ab	337 bcd	397 ab
04. PI 209491	8,78 bcde	7,09 a	36,81 a	35,37 abc	314 bcd	258 b
05. PI 387865	4,92 e	5,72 a	36,69 a	31,23 bc	183 d	182 b
06. CNF 0011228	13,00 abcde	7,11 a*	38,01 a	36,47 abc	491 abcd	276 ab*
07. CNF 0011026	7,36 cde	4,54 a	36,54 a	34,92 abc	274 bcd	165 b
08. CNF 0011137	10,51 abcde	7,54 a	35,68 a	38,18 abc	374 abcd	297 ab
09. CNF 0011075	15,33 abc	13,02 a	38,58 a	48,59 a*	615 ab	641 a
10. CNF 0011095	13,70 abcd	10,53 a	39,88 a	37,30 abc	559 abc	391 ab
11. CNF 0011240	18,28 a	12,36 a*	39,67 a	38,03 abc	718 a	471 ab*
12. CNF 0011028	14,70 abcd	10,30 a	40,69 a	36,13 abc	588 ab	381 ab*
13. PI 325750	9,26 bcde	8,06 a	43,39 a	35,91 abc	398 abcd	283 ab
14. PI 313633	12,48 abcde	10,08 a	35,73 a	34,87 abc	456 abcd	348 ab
15. CNF 0011086	16,08 ab	8,09 a*	32,65 a	36,94 abc	522 abcd	298 ab*
16. Pérola	16,94 ab	8,06 a*	32,45 a	41,77 ab*	543 abcd	331 ab*
17. Ouro Negro	10,22 abcde	9,99 a	42,37 a	39,92 abc	431 abcd	398 ab
18. NORH 54**	6,38 de	9,14 a	31,63 a	23,60 c	196 cd	213 b
Médias	11,39	8,73*	37,43	37,15	427 A	332 A
CV (%)	29,13		15,10		33,04	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo Teste Tukey ao nível de 5%.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

c) Aspectos fotossintéticos

A luminosidade, concentração de gás carbônico, temperatura, teor de N nas folhas, umidade, espécie vegetal e características genéticas individuais são fatores que determinam variações na atividade fotossintética (SALISBURY & ROSS, 2012).

A avaliação da atividade fotossintética de plantas adubadas e inoculadas foi comparada na época de início de formação dos grãos em dois momentos: 56 dias após o plantio (DAP), quando havia pelo menos metade das plantas com início de formação de vagens; e 63 DAP, quando todas as plantas já possuíam vagens pequenas.

A análise dos dados observados aos 56 DAP, para taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*) e eficiência de uso da água (E.U.A.) indicou que as diferenças para essas características foram influenciadas pelo genótipo, enquanto que a fonte de N teve efeito nas taxas de transpiração e E.U.A. Houve interação genótipo x fonte de N para *A*, *gs* e *E* (Tabela 15).

Tabela 15. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas em experimento em campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 56 dias após plantio.

Fonte de variação	GL	Taxa fotossintética	Condutância estomática	Transpiração	Eficiência de uso da água
Blocos	2	3,75 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,57 ^{ns}
Fonte de N (F)	1	5,58 ^{ns}	0,03 ^{ns}	2,11 ^{**}	3,86 [*]
Resíduo	2	2,75	0,12	0,20	0,25
Genótipo (G)	17	7,68 ^{**}	0,29 [*]	0,54 ^{**}	0,63 ^{**}
Interação GxF	17	7,92 [*]	0,33 [*]	0,49 [*]	0,34 ^{ns}
Resíduo	36	3,25	0,16	0,24	0,32

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A taxa fotossintética não variou entre os genótipos adubados, enquanto que para os inoculados houve variação, sendo o mesmo observado para condutância estomática. Já a transpiração variou entre os genótipos adubados (Tabela 16).

NORH 54, Pérola e PI 209491 inoculados apresentaram menores taxas de fotossíntese (A) no período avaliado em relação aos seus equivalentes adubados (Tabela 16). Esses genótipos fazem parte do pool gênico mesoamericano, e os valores observados indicaram que, no momento da avaliação, as trocas gasosas estavam abaixo do que se sugere como ideal. Pimentel et al. (2011) propuseram que para genótipos que têm origem mesoamericana, que é o caso da maioria do pool gênico brasileiro (ANGIOI et al., 2011) e dos genótipos em avaliação, a taxa de fotossíntese (A) para plantas não submetidas a estresses deveria ser $20,5 \pm 2,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Em PI 209491 inoculado, a condutância estomática (gs) também foi inferior à observada no adubado (Tabela 16). No entanto, o genótipo CNF 0011137 teve uma taxa fotossintética (A) 15% maior do que quando adubado, e a transpiração foi superior em 30% (Tabela 16). Isso indica que com um mesmo padrão de abertura estomática as taxas de transpiração e trocas gasosas podem ser alteradas. Um trabalho que avaliou apenas a condutância estomática em *Phaseolus vulgaris* demonstrou que esta não variou em diferentes níveis de limitação hídrica, ocorrendo fechamento dos estômatos apenas sob nível mais severo de limitação (PAIVA et al., 2005).

Os genótipos CNF 0011026 e CNF 0011075 inoculados em relação aos adubados mantiveram a taxa fotossintética, aumentaram a condutância estomática, e foram menos eficientes no uso da água, sendo os únicos que apresentaram diferenças nesta variável, que se manteve estável para os demais genótipos, para os dois tipos de fonte de N (Tabela 16). O genótipo CNF 0011240 inoculado teve comportamento semelhante, porém sem apresentar diferença na E.U.A. (Tabela 16).

Tabela 16. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 56 dias após plantio.

Genótipo	Taxa fotossintética (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Condutância estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Transpiração (E, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Eficiência de uso da água (A.E ⁻¹)	
	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.
01. CNF 0011234	20,1 a	19,4 abcd	1,25 a	1,09 abc	4,9 ab	4,8 a	4,1 a	4,1 a
02. CNF 0011559	20,5 a	19,8 abcd	0,82 a	0,84 abc	4,8 ab	5,1 a	4,3 a	4,2 a
03. CNF 0011239	21,7 a	23,1 ab	0,93 a	1,18 abc	4,8 ab	4,5 a	4,5 a	4,5 a
04. PI 209491	21,8 a	16,6 d*	1,40 a	0,62 c*	4,8 ab	4,5 a	4,5 a	3,7 a
05. PI 387865	19,1 a	19,9 abcd	0,74 a	1,16 abc	4,3 ab	5,3 a*	4,6 a	3,8 a
06. CNF 0011228	21,7 a	19,3 abcd	1,31 a	1,13 abc	5,0 ab	4,8 a	4,3 a	4,1 a
07. CNF 0011026	21,4 a	23,2 ab	0,66 a	1,47 abc*	4,0 b	5,2 a*	5,5 a	4,5 a*
08. CNF 0011137	20,2 a	23,6 a*	1,04 a	1,07 abc	3,9 b	4,9 a*	5,2 a	4,9 a
09. CNF 0011075	20,5 a	19,9 abcd	0,99 a	1,73 ab*	4,0 b	5,3 a*	5,2 a	3,8 a*
10. CNF 0011095	22,1 a	21,5 abcd	1,43 a	1,30 abc	5,5 a	5,2 a	4,1 a	4,1 a
11. CNF 0011240	21,0 a	21,3 abcd	1,11 a	1,89 a*	4,5 ab	5,3 a*	4,7 a	4,0 a
12. CNF 0011028	19,4 a	19,6 abcd	0,63 a	0,71 bc	4,0 b	4,6 a	4,8 a	4,3 a
13. PI 325750	20,6 a	22,6 abc	1,14 a	1,08 abc	4,4 ab	4,6 a	4,7 a	4,9 a
14. PI 313633	19,7 a	20,5 abcd	0,72 a	0,80 abc	4,1 b	4,0 a	4,8 a	5,2 a
15. CNF 0011086	20,8 a	21,1 abcd	1,41 a	0,96 abc	4,8 ab	4,8 a	4,3 a	4,5 a
16. Pérola	22,1 a	17,6 cd*	1,47 a	1,22 abc	4,7 ab	5,6 a	4,8 a	3,9 a
17. Ouro Negro	23,2 a	22,4 abc	1,10 a	1,38 abc	5,0 ab	5,3 a	4,7 a	4,2 a
18. NORH 54**	22,1 a	18,2 bcd*	1,64 a	0,82 abc*	5,0 ab	4,5 a	4,2 a	4,1 a
Média	21,0	20,5	1,10	1,14	4,6	4,9*	4,6	4,3*
CV (%)	8,32		33,13		9,59		11,74	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

Dos dados obtidos aos 63 DAP, os valores para taxa fotossintética (A) e condutância estomática (gs) foram influenciados pela fonte de N (F) e pelos genótipos das plantas (G), havendo interação GxF (Tabela 17); enquanto transpiração (E) foi influenciada pelos genótipos. Não foi observada influência de nenhuma fonte de variação para os dados obtidos para E.U.A. (Tabela 17).

Tabela 17. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas de feijoeiro, em experimento em campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, 63 dias após plantio.

Fonte de Variação	GL	Taxa fotossintética	Condutância estomática	Transpiração	Eficiência de uso da água
Blocos	2	0,87 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,50 ^{ns}
Fonte de N (F)	1	14,87*	10,53**	2,09 ^{ns}	0,32 ^{ns}
Resíduo	2	1,62	0,39	0,43	0,25
Genótipo (G)	17	28,79**	1,01**	2,00**	0,44 ^{ns}
Interação GxF	17	13,71**	0,90*	1,37 ^{ns}	0,45 ^{ns}
Resíduo	36	3,06	0,46	0,75	0,27

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Sete genótipos apresentaram diferença para os valores de taxa fotossintética (*A*) entre o tratamento adubado e inoculado, além de Pérola e NORH. O genótipo andino CNF 0011559 adubado apresentou $A = 15,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, enquanto inoculado $A = 20,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabela 18). Entretanto, os genótipos que apresentaram valores abaixo dos considerados ideais foram PI 325750, com $A = 15,9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, quando inoculado, e Pérola com $A = 17,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, quando adubado (Tabela 19), já que são genótipos mesoamericanos (PIMENTEL et al., 2011). O observado para Pérola foi o inverso do que havia sido verificado aos 56 DAP, cujo menor valor havia sido sob inoculação (Tabela 16), sugerindo que a faixa de trocas gasosas para o genótipo Pérola pode normalmente variar entre os valores apresentados, não sendo, necessariamente uma condição de estresse.

Os demais genótipos que apresentaram diferenças para a taxa de fotossíntese entre os dois tratamentos foram CNF 0011239 e PI 387865, andinos, além de PI 209491, CNF 0011075 e CNF 0011240, mesoamericanos. A taxa foi menor quando inoculado para o primeiro e adubado para os outros três (Tabela 18); no entanto, os valores estão dentro do estabelecido, como a faixa de normalidade (PIMENTEL et al., 2011).

A diferença na condutância estomática (*g_s*) entre os tratamentos, em três genótipos, se deu a uma maior *g_s* dos genótipos inoculados (Tabela 18), sendo verificada em PI 209491, CNF 0011240 e CNF 0011086 (Tabela 18). Apesar de não ser estatisticamente significativa, tendência de uma maior *g_s* foi observada para os genótipos inoculados, o que pode ser verificado para os valores absolutos, refletindo na diferença verificada na média geral (Tabela 18). Um dos fatores que causam mais influência na abertura estomática, chegando a ser mais influente do que a concentração de CO₂ foliar e a qualidade da luz, é o potencial hídrico dentro da folha (LONG et al., 2006; SALISBURY & ROSS, 2012).

Quando o potencial hídrico é baixo no interior da folha, tende a ocorrer uma redução do *g_s*, e o contrário quando é adequado (SALISBURY & ROSS, 2012). Como as condições hídricas foram adequadas nesse experimento, à luz da regulação hormonal sobre a abertura e fechamento dos estômatos, principalmente o ABA (TAIZ & ZEIGER, 2013), é possível supor que, nessa fase, nos genótipos inoculados, poderia ocorrer uma maior atuação das bactérias diazotróficas no balanço hormonal, sendo essa influência dos rizóbios no balanço hormonal um fator comumente difundido (ORMEÑO-ORRILLO et al., 2012; FERGUSON & MATHESIUS, 2014).

Apenas os genótipos CNF 0011559 e PI 209491 inoculados transpiraram mais que o adubado; entretanto, a menor eficiência de uso da água foi verificada apenas para o genótipo CNF 0011559 (Tabela 18). Para os demais genótipos, não houve diferença nessas observações (Tabela 18).

Tabela 18. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013, aos 63 dias após plantio.

Genótipo	Taxa Fotossintética (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Condutância Estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Transpiração (E, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Eficiência Uso H ₂ O ($A.E^{-1}$)	
	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.
01. CNF 0011234	20,8 abc	21,4 bc	0,74 a	0,99 c	5,3 ab	5,7 ab	4,0 a	3,8 a
02. CNF 0011559	15,1 de	20,1 bcde*	0,21 a	1,20 bc	3,4 a	6,2 ab*	4,5 a	3,3 a*
03. CNF 0011239	25,3 a	21,7 bc*	0,92 a	0,97 c	5,7 ab	5,5 ab	4,5 a	4,0 a
04. PI 209491	19,1 bcd	22,1 bc*	0,69 a	1,86 abc*	5,0 ab	6,4 ab*	3,9 a	3,5 a
05. PI 387865	22,7 ab	18,7 bcde*	0,93 a	0,69 c	6,2 a	5,1 ab	3,7 a	3,7 a
06. CNF 0011228	21,6 abc	23,6 ab	0,69 a	1,44 abc	5,1 ab	6,1 ab	4,3 a	3,9 a
07. CNF 0011026	22,6 ab	22,1 bc	0,83 a	1,15 bc	6,1 a	5,8 ab	3,7 a	3,9 a
08. CNF 0011137	22,5 ab	23,4 ab	1,00 a	1,26 abc	5,8 a	5,8 ab	3,9 a	4,1 a
09. CNF 0011075	22,1 ab	26,9 a*	1,06 a	2,00 abc	5,8 a	5,9 ab	3,8 a	4,6 a
10. CNF 0011095	19,9 bc	21,0 bcd	0,81 a	1,11 bc	5,5 ab	5,7 ab	3,6 a	3,7 a
11. CNF 0011240	19,6 bcd	23,1 ab*	0,63 a	3,17 a*	6,3 a	6,9 a	3,1 a	3,4 a
12. CNF 0011028	18,9 bcd	19,9 bcde	0,68 a	0,67 c	5,5 ab	5,1 ab	3,5 a	3,9 a
13. PI 325750	21,6 abc	15,9 e*	0,82 a	0,36 c	5,6 ab	4,5 b	3,9 a	3,6 a
14. PI 313633	22,2 ab	19,9 bcde	0,72 a	1,45 abc	5,3 ab	6,2 ab	4,6 a	3,2 a*
15. CNF 0011086	20,5 bc	20,8 bcd	0,68 a	2,94 ab*	6,2 a	6,1 ab	3,3 a	3,4 a
16. Pérola	17,5 cde	21,0 bcd*	0,41 a	1,30 c	5,0 ab	5,4 ab	3,5 a	3,9 a
17. Ouro Negro	19,7 bc	20,5 bcd	0,70 a	1,30 abc	6,8 a	6,0 ab	3,2 a	3,4 a
18. NORH**	13,9 e	16,7 de*	0,18 a	0,42 c	3,5 b	4,6 ab	4,0 a	3,6 a
Média	20,3	21,0	0,71	1,32*	5,4	5,7	3,8 A	3,7 A
CV (%)	7,47		64,79		13,74		13,41	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

d) Abundância natural de ^{15}N

A abundância natural de ^{15}N foi avaliada apenas nos genótipos inoculados. Sendo assim, adotou-se o delineamento em blocos casualizados, fazendo com que as subparcelas assumissem a função de parcelas. A análise de variância indicou que houve efeito de blocos e dos genótipos sobre os resultados observados (Tabela 19).

Tabela 19. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de $\delta^{15}\text{N}$ (‰), percentual de nitrogênio proveniente da FBN (Ndfa %) e nitrogênio derivado da FBN na parte aérea, obtidos de plantas de feijoeiro inoculadas com rizóbios no período da floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Fonte de Variação	GL	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Ndfa (%)	N derivado da FBN na parte aérea
Blocos	2	2,29**	881,31**	$2,76 \times 10^{4**}$
Genótipos	16 ^Δ	2,12**	496,96**	$1,45 \times 10^{4**}$
Resíduo	34	10,87	120,61	$4,50 \times 10^3$

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

^Δ GL pra genótipos em $\delta^{15}\text{N}$ (‰) = 17.

O genótipo não nodulante NORH 54 foi utilizado como testemunha, em função da técnica ter como principal exigência a distribuição e exploração do solo similares entre a planta testemunha e os genótipos em avaliação (BODDEY et al., 1996).

A comparação entre as médias de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) dos genótipos de feijoeiro com o genótipo NORH 54 demonstrou diferença significativa, na qual as médias dos genótipos em teste foram menores do que a observada para NORH 54 (Tabela 20). Tal constatação demonstra diluição do N absorvido do solo pelo N proveniente da fixação biológica, condição necessária para o emprego do método da diluição isotópica (HARDARSON et al., 1988; ALVES et al., 2005).

A diluição isotópica foi observada para todas as plantas inoculadas, cujas médias de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) estiveram entre 2,83 e 0,37, este último equivalendo a uma contribuição de 69,97% da FBN para a aquisição de N no genótipo CNF 0011228 (Tabela 20). No entanto, enquanto CNF 0011228 acumulou 198 mg N planta⁻¹ derivado da FBN, quem mais acumulou N via FBN foi o genótipo CNF 0011075, com 329 mg N planta⁻¹, proveniente de uma contribuição de 48,28% de N via FBN (Tabela 20). Isso ocorreu em função do alto acúmulo de N na parte aérea, demonstrado por CNF 0011075 nesse experimento, mesmo sem ter apresentado valor elevado para massa seca de parte aérea (Tabela 13).

Outro genótipo que se destacou no percentual de N obtido via FBN foi CNF 0011086, alcançando 67,37%, o que corresponde a 196 mg N planta⁻¹ (Tabela 20). Esse percentual de fixação pode ser considerado alto, ao se ponderar experimentos de campo na América do Sul nos quais diferentes genótipos de feijoeiro apresentaram taxas de 35 a 70% (HARDARSON et al., 1993).

Utilizando-se de uréia enriquecida com ^{15}N em experimento em casa de vegetação, com vasos preenchidos com solo, foi demonstrado que a cultivar Carioca de feijão comum alcançou 71,9% de fixação do N, 10% menos do que caupi (BRITO et al., 2011). Caupi é reconhecidamente uma planta eficiente na FBN (XAVIER et al., 2006); sendo assim, as taxas de quase de 70% de FBN alcançadas sob condições de campo pelos genótipos CNF 0011228 e CNF 0011086, neste estudo, se confirmadas em novas experimentações, tornarão esses genótipos promissores para investigações mais específicas voltadas ao programa de melhoramento do feijoeiro.

Os genótipos que se destacaram no percentual de N (Ndfa) e no acúmulo de N na parte aérea, derivados da FBN, pertencem ao conjunto gênico mesoamericano (Tabela 8). Os genótipos andinos que apresentaram os melhores resultados foram CNF 0011234 e CNF 0011559, com 41,41% e 42,56% de Ndfa, e 110,95 e 150,07 mg N planta⁻¹ derivado da FBN, respectivamente (Tabela 20).

Tabela 20. Delta $\delta^{15}\text{N}$ (‰), percentual de nitrogênio proveniente da FBN (Ndfa %) e nitrogênio derivado da FBN na parte aérea de plantas de feijoeiro, no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Ndfa (%)	N derivado da FBN na parte aérea (mg planta ⁻¹)
01. CNF 0011234	1,87 abc	41,41 abc	110,95 b
02. CNF 0011559	1,81 abc	42,56 abc	150,07 ab
03. CNF 0011239	2,05 abc	37,91 abc	147,33 ab
04. PI 209491	2,42 cd	30,98 c	83,11 b
05. PI 387865	2,36 cd	32,12 c	61,02 b
06. CNF 0011228	0,37 a	69,97 a	198,34 ab
07. CNF 0011026	2,20 bc	35,05 bc	51,86 b
08. CNF 0011137	2,33 cd	32,70 c	82,82 b
09. CNF 0011075	1,51 abc	48,28 abc	329,40 a
10. CNF 0011095	2,04 abc	38,23 abc	142,44 ab
11. CNF 0011240	1,56 abc	47,26 abc	217,00 ab
12. CNF 0011028	2,52 cd	29,01 c	112,10 b
13. PI 325750	1,44 abc	49,62 abc	138,63 ab
14. PI 313633	2,83 cd	23,09 c	81,82 b
15. CNF 0011086	0,51 ab	67,37 ab	195,97 ab
16. Pérola	1,14 abc	55,22 abc	182,90 ab
17. Ouro Negro	1,58 abc	46,88 abc	184,95 ab
18. NORH 54 (1)	4,04 d		
CV (%)	29,42	25,66	46,13

(1) Genótipo não nodulante utilizado como referência.

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

e) Teor de N-ureído na seiva das plantas

A estimativa do N-ureído é outra técnica importante para estimar a FBN, haja vista que em leguminosas tropicais como soja, feijão e caupi, a amônia derivada da FBN é convertida principalmente em ureídos (alantoina e ácido alantóico), que são transportados para a parte aérea (TAJIMA et al., 2004; ATKINS & SMITH, 2007).

Neste estudo, são apresentados os dados dos teores de N-ureído obtidos da seiva das plantas, apenas para a verificação da atividade de transporte de N-ureído contrastando com as plantas sob adubação, uma vez que o fornecimento de N-mineral tende a inibir o transporte de N na forma de N-ureído em leguminosas tropicais (PATE et al., 1980; LEIDI & RODRIGUEZ-NAVARRO, 2000). No entanto, é válido destacar que a nodulação dos genótipos que foram adubados com N-mineral, sem receber inoculação, teve influência nos teores de N-ureído verificados (Tabela 22). Por outro lado, a verificação de teores de N-ureído nas plantas de NORH54, que não nodulou nem recebeu N-mineral, indica que uma parte do N-ureído detectada provém de alguma via de remobilização do N nestas plantas (DIÁZ-LEAL et al., 2012).

A análise de variância indicou que as diferenças estatísticas verificadas para os teores de N-ureído na seiva das plantas tiveram influência dos genótipos, das fontes de N e da interação entre genótipos e fontes de N (Tabela 21).

Tabela 21. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teor de N-ureído na seiva, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Fonte de variação	GL	Teor de N-ureído na seiva
Blocos	2	6,04 ^{ns}
Fonte de N (F)	1	797,05**
Resíduo A	2	9,47
Genótipo (G)	17	338,15**
Interação GxF	17	343,35**
Resíduo B	36	6,13

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A média geral observada nos tratamentos inoculados foi significativamente maior do que nos genótipos adubados, confirmando maior atividade de translocação no xilema de N na forma de N-ureído nas plantas inoculadas (Tabela 22). Nas plantas inoculadas, o maior teor de N-ureído foi observado para o genótipo CNF 0011559, que obteve 47,90 nmol mL⁻¹, enquanto que PI 209491 obteve 41,65 nmol mL⁻¹, o maior valor entre os adubados (Tabela 22).

Para o genótipo CNF 0011228, o conteúdo de N-ureído na seiva da planta foi maior sob inoculação em relação à adubação, entretanto o valor ficou entre os mais baixos (Tabela 22), não corroborando com o melhor percentual de FBN demonstrado pela técnica de abundância natural de ¹⁵N (Tabela 20). Do mesmo modo, o genótipo CNF 0011075, que foi o mais acumulou N via FBN (Tabela 20), apresentou valor de N-ureído abaixo da média dos demais genótipos inoculados (Tabela 22).

Foi detectado ureído nas plantas não nodulantes (NORH 54); porém, os valores são significativamente inferiores a todos os demais genótipos (Tabela 22), sugerindo que para todos os genótipos, mesmo sob adubação, ocorreu alguma fixação biológica de N. Em contraste, a cultivar Pérola, sob adubação, apresentou 17,59 nmol mL⁻¹ de ureídos na seiva (Tabela 22), mesmo sem apresentar nódulos (Tabela 12).

Além do que foi verificado na cultivar Pérola, a detecção de N-ureído no genótipo não nodulante indica que parte do ureído observada pode não ser advinda da FBN. Díaz-Leal et al. (2012), em um experimento em casa de vegetação, observaram teores de ureído em plantas de feijoeiro não noduladas, que tiveram nitrato de potássio como fonte de N. No período de floração, foram identificados na seiva teores de ureído próximos a 50% dos observados para plantas inoculadas noduladas (DIÁZ-LEAL et al., 2012). Como a maior parte dos ureídos estava na forma de ácido alantóico, com atividade da enzima alantoinase nas raízes das plantas sob efeito do N-mineral, foi sugerido que o ácido alantóico fazia parte da via de remobilização de N na planta (DIÁZ-LEAL et al., 2012). O ureído, que no nódulo tem sua origem na síntese *de novo* das purinas, nas plantas não noduladas pode ter tido sua formação a partir de purinas oriundas do metabolismo de nucleotídeos (ZRENNER et al., 2006).

Tabela 22. Teores de N-ureído na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	Teor de N-ureído na seiva (nmol mL ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	25,10 bc	37,89 bc*
02. CNF 0011559	12,98 efg	47,90 a*
03. CNF 0011239	9,87 fg	14,92 g*
04. PI 209491	41,65 a	19,90 fg*
05. PI 387865	26,31 b	25,09 def
06. CNF 0011228	15,22 def	19,98 fg*
07. CNF 0011026	26,25 b	40,79 ab*
08. CNF 0011137	23,05 bcd	21,16 efg
09. CNF 0011075	16,25 def	13,62 g
10. CNF 0011095	20,36 bcde	20,85 efg
11. CNF 0011240	12,19 efg	31,88 cd*
12. CNF 0011028	15,35 def	24,11 def*
13. PI 325750	21,19 bcd	28,55 fg*
14. PI 313633	41,52 a	18,81 fg*
15. CNF 0011086	15,92 def	14,38 ab
16. Pérola	17,59 cdef	44,94 bc*
17. Ouro Negro	28,26 b	36,83 efg*
18. NORH 54**	6,61 g	4,63 h
Média	20,87	25,90*
CV (%)		11,87

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

Tabela 23. Matriz de correlação entre os dados de nodulação e de contribuição de FBN pela técnica de diluição isotópica do ¹⁵N e N-ureído, das plantas de feijoeiro inoculadas com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Ndfa (%)	N-ureído	N derivado da FBN na parte área
Número de nódulos	-		0,171	0,081	0,390
Massa seca de nódulos	0,896*	-	0,303	-0,031	0,599*
Ndfa (%)	0,171	0,304	-	0,295	0,737*
N-ureído	0,081	-0,031	0,295	-	0,068
N derivado da FBN na parte área	0,390	0,599*	0,737*	0,068	-

*Correlação de Pearson significativa pelo Teste t (p<0,05).

f) Produtividade

Houve efeito dos genótipos para os três componentes de produtividade, e apenas para número de vagens por planta ocorreu interação entre genótipos e fontes de N (Tabela 24). Para produtividade, houve diferença entre genótipos, fontes de N, bem como na interação entre esses elementos (Tabela 24).

Tabela 24. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 sementes e produtividade de grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Fonte de Variação	GL	Número de vagens por planta	Número de grãos por vagem	Massa de 100 grãos	Produtividade
Blocos	2	352,53 ^{ns}	1,62 ^{ns}	0,20 ^{ns}	1,06 x 10 ⁶ ^{ns}
Fonte N (F)	1	197,37 ^{ns}	2,83 ^{ns}	20,84 ^{ns}	3,65 x 10 ⁵ **
Resíduo	2	33,34	0,68	3,41	2,00 x 10 ⁵
Genótipos (G)	17	128,45**	3,93**	333,07**	3,70 x 10 ⁶ *
Interação GxF	17	25,72*	0,88 ^{ns}	4,77 ^{ns}	1,68 x 10 ⁵ *
Resíduo	36	13,23	0,72	4,74	7,72 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Os genótipos CNF 0011239 e PI 209491, além da cultivar Ouro Negro, todos sob inoculação, apresentaram menos vagens por planta quando comparados com seus equivalentes sob adubação com uréia (Tabela 25). Essas diferenças podem estar relacionadas com um incremento provocado pela aplicação de N mineral nas parcelas adubadas (MOREIRA et al., 2013); no entanto, existem relatos para feijoeiro que, mesmo após o incremento de doses de N mineral, não apresentaram aumento no número de vagens (MEIRA et al., 2005; SILVA et al., 2009), podendo este efeito ser intrínseco ao genótipo.

O menor valor para número de vagens por planta foi observado no genótipo inoculado PI 209491, cujo valor correspondeu a 58,33% das vagens por planta dos genótipos adubados (Tabela 25). CNF 0011239 inoculado possuía o equivalente a 73,38% e Ouro Negro, também inoculado, apresentou 64% das vagens observadas para seu correspondente adubado (Tabela 25).

A redução percentual no número de vagens foi acompanhada de uma redução equivalente em produtividade apenas para o genótipo CNF 0011239. Tal genótipo, sob inoculação, apresentou 73,38% do número de vagens observadas nas plantas sob adubação, com produtividade relativa de 79,67% (Tabela 26). Outro genótipo em que essas variáveis se aproximaram foi o CNF 0011240, com 65,57% do número de vagens observados no mesmo genótipo adubado, e 77,05% da produtividade (Tabela 26).

As cultivares de referência Ouro Negro e Pérola atingiram as maiores produtividades, de 3186 e 3370 kg ha⁻¹, respectivamente, quando adubadas com uréia; e 3313 e 2936 kg ha⁻¹ quando inoculadas (Tabela 26). O genótipo que mais se aproximou dessas cultivares foi o CNF 0011075, com 2946 kg ha⁻¹ quando recebeu adubação, e 2469 kg ha⁻¹ quando inoculado (Tabela 26).

Os genótipos CNF 0011239, CNF 0011228 e CNF 0011095 e PI 325750 alcançaram produtividades superiores aos 2000 kg ha⁻¹ sob inoculação (Tabela 26). Considerando que a média de produtividade de feijoeiro no Brasil na terceira safra (inverno) de 2013/2014 foi de 2868 kg ha⁻¹ (CONAB, 2014), os valores obtidos por esses genótipos são promissores, tendo em vista que a terceira safra no Brasil é realizada principalmente com adoção de tecnologia e aplicação de insumos.

A produtividade relativa é equivalente à produtividade obtida pelas plantas dos genótipos que receberam inoculante em relação às plantas do mesmo genótipo que receberam adubação como fonte de N. O genótipo CNF 0011095 apresentou maior produtividade relativa quando inoculado, equivalente a 132,56% em relação ao tratamento adubado, consistindo na maior produtividade relativa (Tabela 26).

Apesar de o genótipo CNF 0011028 apresentar produtividade relativa de 170,95%, a grande margem de diferença entre o genótipo adubado e o inoculado ocorreu mais em função

do baixo vigor que esse genótipo apresentou nesta avaliação do que por um efeito incrementar da inoculação. Em ambos os tratamentos, as plantas não tiveram um bom desenvolvimento, gerando plantas frágeis que refletiram na baixa produtividade verificada (Tabela 26).

A menor produtividade relativa foi observada para o genótipo CNF 0011234, com um índice de 66,87% (Tabela 26). No entanto, a produtividade desse genótipo inoculado não foi considerada estatisticamente diferente em relação ao mesmo genótipo adubado. Apesar desse fato, uma redução acima de 30% na produtividade é considerável para o produtor agrícola, e deve ser levada em conta na avaliação de genótipos para futuro uso no melhoramento do feijoeiro. Nesse panorama, é comum, para a cultura do feijoeiro, alcançar maior produtividade quando se aplica N mineral (SORATTO et al., 2006; GONZÁLEZ et al., 2008; PELEGRIN et al., 2009), evidenciando a importância da obtenção de genótipos com produtividades relativas próximas ou superiores a 100%.

Os dados de produtividade foram estatisticamente menores apenas para os genótipos CNF 0011239, CNF 0011137 e CNF 0011075, cujas produtividades relativas foram de 79,67%, 73,25% e 83,83%, respectivamente (Tabela 26).

A maioria dos genótipos apresentou produtividade relativa acima de 80% (Tabela 26), o que é um indício de suprimento adequado de N pelas plantas sob inoculação.

Tabela 25. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, de 18 genótipos crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	Número de vagens por planta		Número de grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	11,3 def	12,3 a	3,3 bc	2,8 ab	33,1 bc	30,7 bc
02. CNF 0011559	7,6 ef	10,7 a	4,4 abc	3,7 ab	24,8 def	26,7 cde
03. CNF 0011239	26,3 a	19,3 a*	5,0 ab	4,9 a	23,1defg	21,6 defgh
04. PI 209491	24,0 abc	14,0 a*	4,4 abc	4,4 ab	20,9defg	21,1 defgh
05. PI 387865	14,3 abcdef	11,0 a	2,1 c	2,1 b	45,8 a	40,7 a*
06. CNF 0011228	26,3 a	19,7 a	4,6 abc	4,4 ab	17,6 g	16,9 gh
07. CNF 0011026	14,0 bcdef	14,0 a	4,0 abc	3,3 ab	20,8 defg	19,1 fgh
08. CNF 0011137	11,3 def	13,3 a	3,4 bc	3,2 ab	32,9 bc	32,2 bc
09. CNF 0011075	23,0 abcd	19,0 a	5,0 ab	4,7 a	25,2 de	23,4 defg
10. CNF 0011095	20,0 abcd	19,3 a	4,2 ab	4,9 a	18,1 g	20,0 efgh
11. CNF 0011240	18,3 abcde	12,0 a	5,1 ab	5,0 a	21,4 defg	19,2 fgh
12. CNF 0011028	12,3 cdef	11,0 a	3,3 bc	3,1 ab	18,4 fg	18,1 gh
13. PI 325750	19,0 abcde	12,7 a	3,6 bc	3,6 ab	33,6 bc	32,0 bc
14. PI 313633	13,0 bcdef	9,3 a	6,2 a	3,3 ab*	38,1 b	35,1 ab
15. CNF 0011086	15,3 abcdef	16,0 a	4,4 abc	4,8 a	17,3 g	16,4 h
16. Pérola	16,0 abcdef	15,7 a	3,8 abc	4,2 ab	27,0 cd	27,0 cd
17. Ouro Negro	25,0 ab	26,0 a*	4,9 ab	4,7 a	25,0 def	25,5 cdef
18. NORH**	6,0 f	9,3 a	5,3 ab	4,3 ab	18,9 efg	20,4 defgh
Média	16,8	14,1*	4,3	4,0	25,7	24,8*
CV (%)	27,12		20,47		9,34	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

Tabela 26. Produtividade de grãos de 18 genótipos de feijoeiro crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2013.

Genótipo	Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produtividade relativa [△]
	Adubação	Inoculação	%
01. CNF 0011234	1217 fg	814 hi	66,87
02. CNF 0011559	858 gh	987 ghi	115,04
03. CNF 0011239	2780 abc	2215 bcde*	79,67
04. PI 209491	1824 def	1913 cdef	104,87
05. PI 387865	1906 def	1775 cdef	93,10
06. CNF 0011228	2241 bcde	2102 cde	93,81
07. CNF 0011026	923 gh	887 hi	96,07
08. CNF 0011137	2278 bcde	1669 defg*	73,25
09. CNF 0011075	2946 ab	2469 bc*	83,83
10. CNF 0011095	1821 def	2413 bcd*	132,56
11. CNF 0011240	1986 de	1530 efgh*	77,05
12. CNF 0011028	338 h	577 i	170,95
13. PI 325750	2405 bcd	2350 bcd	97,68
14. PI 313633	2031 cde	1778 cdef	87,55
15. CNF 0011086	1591 efg	1536 efgh	96,54
16. Pérola	3370 a	2936 ab*	87,12
17. Ouro Negro	3186 a	3313 a	104,00
18. NORH 54	824 gh	1168 fghi	141,76
Média	1918	1802*	
CV (%)	12,83		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

[△] Percentual de produtividade dos genótipos inoculados em relação aos adubados.

4.5.2. Região Centro-Oeste no inverno de 2014

a) Nodulação

Houve efeito de fonte de N, genótipo e da interação genótipo x fonte de N para os três componentes de nodulação (Tabela 27).

Tabela 27. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014. Dados transformados para a raiz quadrada.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Blocos	3	4,40 ^{ns}	12,24 ^{ns}	0,15 ^{ns}
Fonte N (F)	1	331,46**	408,74**	0,84**
Resíduo	3	1,46	2,04	0,02
Genótipos (G)	17	22,20**	20,95**	0,22**
Interação GxF	17	16,14**	17,17**	0,18**
Resíduo	54	4,85	6,74	0,04

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

O genótipo não nodulante NORH 54 apresentou quatro nódulos planta⁻¹ nas subparcelas adubadas e três nódulos planta⁻¹ nas subparcelas sob inoculação (Tabela 28). Nesse experimento, o NORH ocupou subparcelas nos blocos destinados à inoculação, porém sem receber inoculação. A observação de nódulos, mesmo que insignificante neste genótipo demonstra a capacidade de infestação das bactérias presentes na área de estudo.

A média de número de nódulos (NN) dos genótipos inoculados foi 51 e de 13 nódulos planta⁻¹, quando inoculados e adubados com uréia, respectivamente. Em seis genótipos, mais as cultivares comerciais Ouro Negro e Pérola, os valores para NN foram estatisticamente superiores naqueles que receberam inoculação em relação aos adubados (Tabela 28). Já os maiores valores de NN foram observados em PI 387865, PI 313633 e Ouro Negro, com 121, 121 e 119 nódulos planta⁻¹, respectivamente. Ao contrário, excetuando-se o genótipo NORH 54, os menores valores de NN foram observados em CNF 0011239, CNF 0011075 e PI 209491, com 7, 13 e 16 nódulos planta⁻¹, respectivamente (Tabela 28). São comuns as variações entre as capacidades de nodulação entre genótipos distintos, e variações transcricionais e funcionais de genes envolvidos na formação e infecção dos nódulos já foram demonstradas para genótipos andinos e mesoamericanos de feijoeiro com efeitos positivos e negativos na formação de nódulos e na especificidade da relação de infestação (MAZZIOTTA et al., 2013).

O genótipo CNF 0011239 foi o único que não nodulou sob adubação com uréia, sendo o maior valor de NN encontrado neste tratamento correspondente a 30 nódulos planta⁻¹, em CNF 0011075. Esse mesmo genótipo apresentou valores próximos nas outras duas avaliações ocorridas no Centro-Oeste, sendo 32 nódulos planta⁻¹ no inverno de 2013 (Tabela 12) e 36 nódulos planta⁻¹ no verão (Tabela 42). Considerando que o N mineral inibe a nodulação (MENDES et al., 2008), a nodulação espontânea em área de plantio convencional, em genótipos adubados, é importante de ser levada em conta.

A massa seca de nódulos (MSN), assim como NN, foi superior nos mesmos oito genótipos sob inoculação acrescidos do genótipo CNF 0011137 que, para NN, não havia apresentado diferença entre os tratamentos (Tabela 28). Os valores para MSN em CNF 0011137 foram de 52,38 mg planta⁻¹ no tratamento inoculado, e 9,09 mg planta⁻¹ no adubado (Tabela 28).

Apesar de ter apresentado valores intermediários para NN, o valor elevado de 1,17 mg nódulo⁻¹ para o genótipo CNF 0011137 reflete um alto valor de MSN, indicando nódulos grandes. Essa robustez dos nódulos para tal genótipo já havia sido observada no experimento de inverno de 2013, onde o valor para MSN foi 20,01 mg planta⁻¹ e MSIN foi 1,39 mg nódulo⁻¹ (Tabela 12). Embora não tenha produzido uma massa de nódulos suficiente para altas taxas de FBN, com 32,70% do N obtido, assim determinado por abundância natural de ¹⁵N no experimento de inverno de 2013 (Tabela 20), se este genótipo mantiver essa relação, pode servir como fonte de exploração para características bioquímicas e genéticas relacionadas ao desenvolvimento nodular.

A média de MSN entre os genótipos inoculados foi 50,79 mg planta⁻¹, e entre os adubados foi 9,80 mg planta⁻¹. Já sob inoculação, os valores de MSN variaram entre 6,59 e 183,31 mg planta⁻¹, observados em CNF 0011239 e Ouro Negro, respectivamente. Nenhum genótipo ficou acima da referência Ouro Negro, e o que mais se aproximou foi PI 313633, com 128,52 mg planta⁻¹ (Tabela 28).

Não foi constatada discrepância entre os tamanhos dos nódulos em cada tratamento, já que apenas quatro genótipos (PI 325750, CNF 0011137, CNF 0011239 e CNF 0011559) e as referências Ouro Negro, sob inoculação, foram superiores aos equivalentes adubados, com 1,76; 1,17; 0,87 e 0,72 mg nódulo⁻¹, respectivamente (Tabela 28). O genótipo não nodulante NORH apresentou valor maior de MSIN no tratamento adubado (Tabela 28). A média geral de MSIN nas fontes de nitrogênio foram 0,89 mg nódulo⁻¹, sob adubação; e 0,65 mg nódulo⁻¹,

sob inoculação (Tabela 28). Foi observada ainda correlação entre as variáveis NN e MSN (Tabela 29).

Tabela 28. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg nódulo ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	15 a	19 def	5,02 a	14,94 cd	0,38 ab	0,47 bc
02. CNF 0011559	13 a	77 abcd*	2,18 a	52,79 abcd*	0,17 bc	0,72 abc*
03. CNF 0011239	0 a	7 ef	0,00 a	6,59 cd	0,00 c	0,87 ab*
04. PI 209491	10 a	16 def	7,18 a	12,10 cd	0,77 ab	0,79 abc
05. PI 387865	9 a	121 a*	3,58 a	64,36 abcd*	0,78 ab	0,42 bc
06. CNF 0011228	5 a	26 abcdef	3,03 a	21,06 bcd	0,63 ab	0,82 abc
07. CNF 0011026	10 a	102 abc*	8,79 a	79,63 abc*	0,91 a	0,84 abc
08. CNF 0011137	18 a	47 abcde	9,09 a	52,38 abcd*	0,51 ab	1,17 ab*
09. CNF 0011075	30 a	13 def	33,60 a	9,54 cd	0,85 ab	0,92 ab
10. CNF 0011095	20 a	77 abcd*	19,31 a	77,91 abc*	0,84 ab	1,09 ab
11. CNF 0011240	18 a	47 abcde	7,68 a	40,31 abcd	0,43 ab	0,84 ab
12. CNF 0011028	27 a	27 cdef	23,23 a	34,89 bcd	0,76 ab	0,97 ab
13. PI 325750	7 a	34 abcdef*	5,92 a	67,67 abc*	0,68 ab	1,76 a*
14. PI 313633	21 a	121 ab*	14,71 a	128,52 ab*	0,69 ab	0,83 abc
15. CNF 0011086	25 a	25 bcdef	20,81 a	23,76 bcd	0,85 ab	0,97 ab
16. Pérola	3 a	41 abcdef*	2,87 a	43,14 abcd*	1,08 a	0,94 ab
17. Ouro Negro	7 a	119 ab*	4,61 a	183,31 a*	0,64 ab	1,37 ab*
18. NORH 54**	4 a	3 f	2,57 a	1,29 d	0,71 ab	0,25 c*
Média	13	51*	9,68	50,79*	0,65	0,89*
CV (%)		44,41		60,63		26,79

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

** NORH Recebeu N mineral nos blocos adubados e não recebeu inoculação.

Tabela 29. Matriz de correlação dos dados de nodulação para as duas fontes de nitrogênio, adubação com (40 +40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, no experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

80 kg N ha ⁻¹			
	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Número de nódulos			
Massa seca de nódulos	0,896*		
Massa seca de um nódulo	0,216	0,427	
Inoculação			
Número de nódulos			
Massa seca de nódulos	0,856*		
Massa seca de um nódulo	0,095	0,447	

* Correlação significativa (p<0,05) pelo Teste de Pearson.

b) Biomassa

Os resultados de massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N total na parte aérea (NT) e N acumulado na parte aérea (NAPA) tiveram efeito da fonte de N e dos genótipos, mas não evidenciaram efeito para a interação dos genótipos e as fontes (Tabela 30).

Nesse experimento, também não se repetiu a tendência verificada no inverno de 2013, com ausência de efeito da fonte de N nas respostas obtidas (Tabela 14), reforçando para esses genótipos uma tendência em feijoeiro de comportamento diversificado em relação à inoculação e suprimento de N. Em muitos casos, há diferenças entre a inoculação e adubação (CARVALHO et al., 2001; GONZÁLEZ et al., 2008), enquanto que, em outros, não são perceptíveis diferenças entre os tratamentos (HUNGRIA et al., 2003; PELEGRIN et al., 2009).

Tabela 30. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Fonte de Variação	GL	Massa seca de parte aérea	Teor de nitrogênio na parte aérea	Nitrogênio acumulado na parte aérea
Blocos	3	13,73 ^{ns}	51,35 ^{ns}	1,25 x 10 ^{4ns}
Fonte N (F)	1	795,16 ^{**}	2,68 x 10 ^{3**}	2,73 x 10 ^{6**}
Resíduo	3	19,27	28,89	2,87 x 10 ⁴
Genótipos (G)	17	76,25 ^{**}	62,82 ^{**}	5,78 x 10 ^{4**}
Interação GxF	17	10,72 ^{ns}	14,22 ^{ns}	1,91 x 10 ^{4**}
Resíduo	54	19,78	13,13	2,41 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A média de MSPA do tratamento que recebeu adubação foi de 17,57 g planta⁻¹, com valores variando de 10,60 sendo obtido por NORH 54, até 25,87 g planta⁻¹ verificado em CNF 0011137 (Tabela 31). A média do tratamento inoculado foi 12,87 g planta⁻¹, valor estatisticamente menor do que a média do tratamento adubado (Tabela 31). Em seis genótipos sob inoculação, MSPA foi inferior ao equivalente adubado, cinco mesoamericanos e o CNF 0011028 andino (Tabela 31).

A média geral de NT entre os genótipos adubados foi de 35,67 g N kg⁻¹, e entre os inoculados foi de 27,03 g N kg⁻¹ (Tabela 31). Além das cultivares Ouro Negro e Pérola, e do genótipo não nodulante NORH 54, outros 12 genótipos apresentaram maiores valores de NT sob adubação em relação aos inoculados (Tabela 31). O genótipo CNF 0011137 destacou-se com o maior acúmulo de N na parte aérea (NAPA), quando adubado, alcançando o valor de 881 mg N planta⁻¹. Os valores de NAPA entre os genótipos não foram estatisticamente significativos quando o tratamento foi inoculação (Tabela 31).

A média de NAPA foi 621 mg N planta⁻¹ quando a fonte de N foi ureia e 345 mg N planta⁻¹ quando a fonte de N foi o inoculante (Tabela 31). Além das cultivares Pérola e Ouro Negro, outros 11 genótipos tiveram maiores valores de NAPA quando adubados (Tabela 31).

As plantas que receberam adubação foram mais eficientes em acumular nitrogênio na parte aérea do que as inoculadas, devido a uma maior quantidade de MSPA, de maneira semelhante ao verificado por Silveira & Damasceno (1993), também em experimento sob pivô central. Além disso, foi relacionada uma maior disponibilidade de N no solo com o incremento dessas variáveis (SILVEIRA & DAMASCENO, 1993), também constatado por Arf et al. (2004). Sendo assim, no inverno de 2014, desenvolvido sob pivô central, pode-se supor que houve maior disponibilidade de N no solo para as plantas no tratamento adubação.

Tabela 31. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Genótipo	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)		Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	17,40 abc	12,29 a	35,98 ab	29,56 abc*	626 abc	359 a*
02. CNF 0011559	13,92 c	11,12 a	40,67 a	29,84 abc	565 abc	332 a*
03. CNF 0011239	17,47 abc	13,40 a	36,31 ab	32,99 A a	640 abc	444 a
04. PI 209491	20,40 abc	14,04 a*	34,67 ab	23,59 bc*	714 abc	331 a*
05. PI 387865	13,03 c	11,32 a	38,93 ab	29,24 abc*	495 bc	330 a
06. CNF 0011228	18,02 abc	14,28 a	35,87 ab	28,49 abc*	643 abc	402 a*
07. CNF 0011026	17,34 abc	10,77 a*	38,10 ab	29,56 abc*	657 abc	314 a*
08. CNF 0011137	25,87 a	16,68 a*	33,90 ab	26,17 abc*	881 a	443 a*
09. CNF 0011075	18,78 abc	12,98 a	30,23 b	22,72 c*	559 abc	294 a*
10. CNF 0011095	17,83 abc	11,67 a*	33,85 ab	24,07 abc*	614 abc	278 a*
11. CNF 0011240	16,24 abc	12,91 a	38,16 ab	29,71 abc*	619 abc	386 a*
12. CNF 0011028	20,87 abc	14,48 a*	36,60 ab	26,06 abc*	768 ab	377 a*
13. PI 325750	25,57 ab	17,37 a*	29,86 b	21,64 c*	754 abc	374 a*
14. PI 313633	11,48 c	10,41 a	34,86 ab	27,97 abc*	402 bc	295 a
15. CNF 0011086	14,60 bc	9,89 a	35,42 ab	31,99 ab	512 abc	311 a
16. Pérola	19,61 abc	14,25 a	38,60 ab	25,40 abc*	756 abc	361 a*
17. Ouro Negro	17,31 abc	14,20 a	34,30 ab	21,90 c*	584 abc	333 a*
18. NORH 54**	10,60 c	9,66 a	35,75 ab	25,71 abc*	380 c	246 a
Média	17,57	12,87*	35,67	27,03*	621	345*
CV (%)		29,22		11,56		32,13

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

c) Aspectos fotossintéticos

Na avaliação realizada 50 dias após plantio (DAP), a análise de variância demonstrou que a taxa fotossintética (A) e transpiração (E) foram influenciadas pela fonte de N (F), pelo genótipo da planta (G) e pela interação GxF (Tabela 32). Para condutância estomática (gs), houve efeito do genótipo e da interação GxF, enquanto os valores de eficiência de uso da água (E.U.A.) foram influenciados pela fonte e pela interação GxF (Tabela 37).

Tabela 32. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 50 dias após plantio.

Fonte de Variação	GL	Tx. fotossintética	Condutância estomática	Transpiração	Eficiência de uso da água
Blocos	2	0,70 ^{ns}	0,0045 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,34 ^{ns}
Fonte de N (F)	1	7,88**	0,0008 ^{ns}	21,12**	24,55**
Resíduo	2	0,54	0,0014	0,33	0,40
Genótipo (G)	17	4,60**	0,0055**	0,66*	0,61 ^{ns}
Interação GxF	17	2,99**	0,0017*	0,57**	0,67**
Resíduo	36	0,35	0,0008	0,19	0,14

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Os valores de taxa fotossintética (A) foram inferiores ao que se considera ideal para plantas de feijoeiro mesoamericanos (PIMENTEL et al., 2011). Além do NORH 54, que não recebeu inoculação, onze (11) genótipos apresentaram diferença na taxa fotossintética (A) entre os tratamentos adubado e inoculado (Tabela 33). Destes, apenas CNF 001195, PI 313633 e CNF 0011086 alcançaram maiores valores de A quando adubados (Tabela 33), os demais apresentaram A maior quando receberam inoculação (Tabela 33). Como A é fortemente influenciada pela pressão dos drenos (PAUL et al., 2001) e, no período da medição, a fase de formação das vagens era igual para os genótipos, pode-se supor uma atividade de drenos por parte dos nódulos. As respostas das leguminosas às pressões de drenos exercidas pelos simbiossitos são um mecanismo adaptativo que permite às plantas fornecer suprimentos adequados de nutrientes aos mesmos (KASCHUK et al., 2009).

Assim sendo, a avaliação sistemática da atividade fotossintética do feijoeiro sob inoculação, acompanhada da avaliação de atividade nodulatória, poderia ser um indicativo também da persistência dos nódulos em genótipos que mantivessem essas taxas maiores por mais tempo, haja vista que a prematura senescência dos nódulos é um fator limitante da FBN (FERNÁNDEZ-LUQUEÑO et al., 2008).

Entre os genótipos que receberam adubação, Pérola apresentou a maior taxa fotossintética e PI 387865 a menor, com os valores de $A = 18,0$ e $13,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente (Tabela 33). Dos genótipos inoculados as maiores taxas foram obtidas de CNF 0011026 e PI 325750 com $A = 17,8$ e $17,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente, enquanto o menor valor foi $A = 14,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, obtido de PI 313633 (Tabela 33).

A condutância estomática (g_s) foi menor para o genótipo PI 325750 adubado em relação ao inoculado, enquanto em Pérola foi menor no tratamento inoculado (Tabela 33). Entre os genótipos adubados os valores variam entre $0,26 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, obtido de Ouro Negro, e $0,18 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ verificado para CNF 0011086 (Tabela 33). Para os genótipos adubados, o maior valor de G_s foi $0,27 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em PI 325750, e o menor valor foi verificado para CNF 0011228, $G_s = 0,16 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabela 33).

Onze genótipos, quando adubados, tiveram taxas de transpiração (E) maiores que quando inoculados (Tabela 33), o que refletiu numa menor eficiência de uso da água pelos genótipos adubados (Tabela 33).

A disponibilidade de N tem participação na regulação da transpiração (MATIMATI et al., 2014), com o ajuste dos fluxos de água tendo a participação do nitrato na modulação da condutividade hidráulica das raízes, via controle de aquaporinas (CRAMER et al., 2009). Assim sendo, nesta fase de avaliação, as maiores taxas de transpiração para os genótipos adubados ocorreu em função de maiores teores de nitrato no xilema.

Tabela 33. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbio, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 50 dias após plantio.

Genótipo	Tx. Fotossintética (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Condutância Estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Transpiração (E, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Eficiência Uso H ₂ O (A.E ⁻¹)	
	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.
01. CNF 0011234	17,8 ab	17,2 ab	0,23 ab	0,26 a	4,9 abc	4,8 a	3,6 ab	3,6 b
02. CNF 0011559	15,4 def	16,4 abc	0,19 ab	0,18 abc	4,8 abc	3,9 ab*	3,2 b	4,2 ab*
03. CNF 0011239	16,0 abcd	17,9 abc*	0,23 ab	0,23 ab	4,5 abc	3,5 b*	3,6 ab	5,1 ab*
04. PI 209491	15,1 def	17,1 abc*	0,18 ab	0,19 abc	3,9 c	3,8 ab	3,8 ab	4,5 ab
05. PI 387865	13,5 f	16,1 abc*	0,18 ab	0,16 bc	4,3 abc	3,2 b*	3,1 b	5,1 ab*
06. CNF 0011228	13,8 ef	16,2 abc*	0,16 b	0,13 c	4,4 abc	3,6 b*	3,1 b	4,6 ab*
07. CNF 0011026	15,7 cde	17,8 a*	0,20 ab	0,17 abc	4,8 abc	3,4 b*	3,3 b	5,3 a*
08. CNF 0011137	14,5 def	16,0 abcd*	0,18 ab	0,22 abc	4,0 bc	4,1 ab	3,6 ab	3,9 ab
09. CNF 0011075	15,9 bcd	15,2 bcd	0,25 ab	0,22 abc	4,8 abc	3,4 b*	3,3 b	4,5 ab*
10. CNF 0011095	17,7 ab	16,6 abc*	0,19 ab	0,21 abc	4,1 abc	3,5 b	4,3 ab	4,8 ab
11. CNF 0011240	15,5 de	16,4 abc	0,17 ab	0,18 abc	4,3 abc	3,7 ab*	3,6 ab	4,6 ab*
12. CNF 0011028	16,2 abcd	17,0 abc	0,18 ab	0,21 abc	4,9 abc	3,4 b*	3,4 b	5,0 ab*
13. PI 325750	16,3 abcd	17,5 a*	0,18 ab	0,27 a*	4,0 bc	4,1 ab	4,0 ab	4,3 ab
14. PI 313633	15,9 bcd	14,1 d*	0,19 ab	0,21 abc	4,8 abc	3,2 b*	3,3 b	4,4 ab*
15. CNF 0011086	17,5 abc	16,3 abc*	0,16 b	0,16 bc	3,9 c	3,6 b	5,0 a	4,7 ab
16. Pérola	18,0 a	17,1 abc	0,23 ab	0,17 abc*	5,2 a	3,7 ab*	3,5 ab	4,6 ab*
17. Ouro Negro	16,2 abcd	16,6 abc	0,26 a	0,25 ab	5,1 ab	3,8 ab*	3,2 b	4,4 ab*
18. NORH 54**	16,1 abcd	15,2 cd	0,16 b	0,19 abc	4,0 bc	3,2 b*	4,0 ab	4,7 ab
Média	16,0 B	16,5 A	0,20	0,20	4,5	3,6*	3,6	4,6*
CV (%)	4,08		15,91		9,42		12,74	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

A análise de variância dos dados obtidos aos 57 DAP demonstra que houve influência da fonte de N, do genótipo da planta (G) e da interação GxP para todos os aspectos fotossintéticos em avaliação (Tabela 34). Na média geral, para todos eles os valores obtidos foram maiores para os genótipos que receberam inoculação (Tabela 35).

Tabela 34. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, obtidos em plantas de feijoeiro, em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 57 dias após plantio.

Fonte de Variação	GL	Taxa fotossintética	Condutância estomática	Transpiração	Eficiência de uso da água
Blocos	2	0,19 ^{ns}	0,0120 ^{**}	0,18 ^{**}	1,99 ^{**}
Fonte N (F)	1	13,14 ^{**}	0,0363 ^{**}	0,45 ^{**}	0,39 [*]
Resíduo	2	0,50	0,0009	0,90	0,16
Genótipo (G)	17	13,75 ^{**}	0,0683 ^{**}	1,16 ^{**}	1,96 ^{**}
Interação GxF	17	11,16 ^{**}	0,0032 ^{**}	1,12 ^{**}	1,26 ^{**}
Resíduo	36	0,41	0,0005	0,04	0,08

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A taxa fotossintética (A) foi maior em 10 genótipos inoculados, em relação aos respectivos adubados; em cinco genótipos não ocorreram diferenças, e em três a taxa foi maior quando adubados (Tabela 35). Os valores obtidos para taxa fotossintética (A) neste experimento (Tabelas 33 e 35) foram inferiores aos observados no inverno de 2013 (Tabelas 21 e 23), e a maioria esteve abaixo do proposto como faixa ideal para o feijoeiro mesoamericano (PIMENTEL et al., 2011).

A condutância estomática (g_s) foi maior no tratamento inoculação (Tabela 41), que variou entre 0,16 e 0,31 mol H₂O m⁻² s⁻¹, enquanto que para adubação, que foi menor, os valores variaram entre 0,13 e 0,29 mol H₂O m⁻² s⁻¹ (Tabela 35). Assim como ocorreu na segunda avaliação do experimento de inverno de 2013 (Tabela 23), nesta segunda avaliação, quando a maioria das plantas já possuía vagens, os valores de g_s observados para os genótipos inoculados foram maiores do que nos adubados (Tabela 35), reforçando o indício de participação dos rizóbios na abertura dos estômatos por estímulo hormonal.

Apesar dos valores de g_s verificados neste experimento se apresentarem acentuadamente menores (Tabelas 38 e 40) do que os obtidos no inverno de 2013 (Tabelas 21 e 23), os mesmos se encontram em conformidade com um suprimento adequado de irrigação (OLIVEIRA et al., 2005), sugerindo que a temperatura possa ter sido o principal determinante nas diferenças observadas (SALISBURY & ROSS, 2012). Isso porque, no inverno de 2013, as médias das temperaturas das câmaras subestomáticas e das folhas, nos dois períodos de avaliação, foram 28 e 27 °C e 31 e 30 °C, respectivamente, enquanto que no inverno de 2014 foram 30 e 32 °C no primeiro período, e 29 e 31 °C no segundo.

Na média geral, houve maior transpiração por parte dos genótipos inoculados em relação aos adubados (Tabela 35). As diferenças observadas para um mesmo genótipo em diferentes fontes de N revelaram que cinco genótipos adubados transpiraram mais do que os inoculados; e para cinco esta relação foi inversa. NORH 54 sem suprimento de N transpirou mais do que aquele que foi adubado (Tabela 35).

A eficiência de uso da água na comparação de tratamentos foi maior em seis genótipos adubados, inclusive NORH 54, e para outros seis genótipos inoculados (Tabela 35).

Tabela 35. Taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água em plantas de feijoeiro, de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (80 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014, 57 dias após plantio.

Genótipo	Taxa Fotossintética (A, μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)		Condutância estomática (g_s , mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)		Transpiração (E, mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)		Eficiência de uso da água (A.E ⁻¹)	
	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.	Adub.	Inoc.
01. CNF 0011234	15,6 bc	17,4 bcde*	0,22 abcde	0,20 cde	4,2 abc	4,0 bcd	3,8 cd	4,3 efg*
02. CNF 0011559	21,0 a	15,0 ghi*	0,29 a	0,25 abcd*	4,2 ab	3,5 de*	4,9 b	4,3 efg*
03. CNF 0011239	19,1 a	21,6 a*	0,23 abcd	0,31 a*	4,1 abc	4,4 abc	4,7 bc	4,9 cdef
04. PI 209491	16,4 b	16,9 cdefgh	0,23 abcd	0,27 abc*	3,7 bcde	4,8 ab*	4,4 bcd	3,5 gh*
05. PI 387865	15,1 bcd	16,9 cdefgh*	0,19 cdef	0,23 abcde*	3,5 bcdef	4,4 abc*	4,3 bcd	3,9 fgh
06. CNF 0011228	14,2 cd	16,9 cdefgh*	0,17 def	0,21 cde*	2,9 f	3,1 ef	4,9 b	5,5 bcd*
07. CNF 0011026	15,9 bc	17,9 bcd*	0,14 ef	0,23 abcde*	3,3 def	3,4 def	4,9 b	5,2 bcde
08. CNF 0011137	16,6 b	16,1 defghi	0,16 def	0,24 abcd*	2,8 f	3,1 ef	6,0 a	5,3 bcde*
09. CNF 0011075	20,5 a	15,0 hi*	0,26 abc	0,29 ab	4,7 a	3,5 def*	4,3 bcd	4,3 efg
10. CNF 0011095	20,6 a	18,8 bc*	0,28 ab	0,25 abcd	4,2 abc	3,1 ef*	4,9 b	6,1 ab*
11. CNF 0011240	14,7 bcd	17,3 bcdef*	0,21 abcde	0,23 bcde	4,1 abc	3,9 cd	3,6 d	4,5 efg*
12. CNF 0011028	14,7 bcd	15,6 efghi	0,20 cdef	0,26 abc*	3,3 def	4,9 a*	4,4 bcd	3,2 h*
13. PI 325750	16,4 b	18,9 b*	0,17 def	0,26 abc*	3,3 def	4,4 abc*	5,0 b	4,4 efg*
14. PI 313633	15,0 bcd	14,8 i	0,14 ef	0,17 de	3,3 def	3,3 def	4,7 bc	4,5 defg
15. CNF 0011086	14,6 bcd	17,7 bcd*	0,17 def	0,24 abcd*	3,5 cdef	3,9 cd*	4,2 bcd	4,5 cdefg
16. Pérola	15,2 bcd	15,4 fghi	0,20 bcdef	0,16 e*	3,3 def	2,8 ef*	4,6 bcd	5,6 bc*
17. Ouro Negro	16,1 bc	18,1 bcd*	0,21 bcdef	0,22 bcde	3,9 bcd	2,7 f*	4,1 bcd	6,6 a*
18. NORH 54**	13,2 d	17,0 bcdefg*	0,13 f	0,24 abcd*	3,0 ef	4,4 abc*	4,5 bcd	3,8 fgh*
Média	16,4	17,1*	0,20	0,24*	3,6	3,8*	4,5	4,6*
CV (%)	4,06		8,80		5,20		5,71	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

d) Teor de N-ureído na seiva das plantas

Na avaliação do N-ureído, assim como ocorrido no inverno de 2013, a fonte de N e os genótipos, bem como a interação entre eles, tiveram influência nas diferenças observadas (Tabela 36).

Tabela 36. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teores de N-ureído na seiva, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Fonte de variação	GL	Teores de N-ureído na seiva
Blocos	2	26,20 ^{ns}
Fonte de N (F)	1	4,33 x 10 ³ **
Resíduo	2	36,79
Genótipo (G)	17	2,77 x 10 ³ **
Interação GxF	17	3,77 x 10 ³ **
Resíduo	36	41,62

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Uma maior atividade de translocação de N na forma de N-ureído, no xilema das plantas inoculadas, foi verificada (Tabela 37). Nas plantas inoculadas, o maior teor de N-ureído foi observado para o genótipo PI 387865, que obteve 195,47 nmol mL⁻¹, enquanto que CNF 0011240 obteve 77,89 nmol mL⁻¹, o maior valor entre os adubados (Tabela 37). Os menores valores entre os genótipos inoculados foi 11,28 nmol mL⁻¹, em CNF 0011234, muito próximo aos 11,42 nmol mL⁻¹ verificados para o genótipo não fixador NORH 54 (Tabela 37). O genótipo adubado com os menores teores de N-ureído na seiva das plantas foi CNF 0011228, com 10,61 nmol mL⁻¹ (Tabela 37).

Foi observado aumento nos valores absolutos em relação ao experimento de 2013, além de diferença entre as repostas genotípicas que haviam sido obtidas no inverno de 2013 com as do inverno de 2014 (Tabela 22 e 37). Essas diferenças se deram tanto entre os genótipos, quanto entre os tratamentos (Tabela 37). Também, de maneira semelhante ao experimento de 2013, a nodulação verificada para os genótipos sob adubação teve influência nos teores de N-ureídos obtidos.

O genótipo PI 387865, por exemplo, apresentou um aumento de 400% nos teores de ureído na seiva no tratamento inoculado em relação a 2013, enquanto que para CNF 0011240, o mesmo percentual de aumento foi observado quando adubado. PI 209491 inoculado apresentou valor semelhante, enquanto que adubado caiu para um terço do que havia sido observado em 2013 (Tabela 22 e 37). Variações ocorreram para quase todos os genótipos entre os dois anos (Tabela 22 e 37).

O transporte de N-ureídos no sistema vascular ou nos tecidos, bem como o acúmulo e partição destes compostos nos tecidos das plantas, são sensíveis não apenas às taxas de fixação de N como a variações no equilíbrio homeostático da planta (TEGEDER, 2014). Em soja, os teores de ureído nos tecidos variaram entre as cultivares, os sistemas de plantio e as fontes de N (HUNGRIA et al., 2006). Em outro estudo, diferentes estirpes de bactérias também influenciaram nos teores de N transportado na forma de N-ureído via xilema, para um mesmo genótipo de soja (DIDONET et al., 1989).

Tabela 37. Teores de N-ureído na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Genótipo	Teor de N-ureído na seiva (nmol mL ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	24,22 de	11,28 g*
02. CNF 0011559	32,57 bcd	27,90 efg
03. CNF 0011239	20,70 de	46,96 cd*
04. PI 209491	22,28 de	37,07 de*
05. PI 387865	17,55 de	195,47 a*
06. CNF 0011228	10,61 e	47,11 cd*
07. CNF 0011026	25,90 cde	31,53 def
08. CNF 0011137	18,52 de	64,54 c*
09. CNF 0011075	29,63 cde	92,58 b*
10. CNF 0011095	51,56 b	15,80 fg*
11. CNF 0011240	77,89 a	20,42 efg*
12. CNF 0011028	26,41 cde	23,96 efg
13. PI 325750	17,21 de	16,10 fg
14. PI 313633	18,26 de	27,74 efg
15. CNF 0011086	29,82 cd	31,02 def
16. Pérola	44,17 bc	17,95 fg*
17. Ouro Negro	18,69 de	12,83 fg
18. NORH 54**	17,64 de	11,42 g
Média	27,98	40,65*
CV (%)	18,90	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH Recebeu N mineral nos blocos adubados e não recebeu inoculação.

e) Produtividade

O número de vagens por plantas (VP), o número de grãos por vagem (GV) e a massa de 100 grãos foram influenciadas pelos genótipos (Tabela 38). A fonte de N só teve influência para VP, enquanto a influência da interação entre genótipo e fonte de N só foi significativa para GV (Tabela 38). O número de grãos por vagem, por ser uma característica de forte influência genética, com pouca influência ambiental (ARAÚJO et al., 2007), geralmente não apresenta grande variação em resposta aos tratamentos.

As médias observadas entre as fontes de N foram 19,0 vagens planta⁻¹ para adubação e 11,8 vagens planta⁻¹ para inoculação. Entre os genótipos adubados, NORH apresentou o menor valor: 11,1 vagens por planta⁻¹. O maior número de vagens foi obtido por CNF 0011028, que produziu, em média, 26,7 vagens planta⁻¹ (Tabela 39).

As diferenças entre médias para GV foram menores nos tratamentos inoculados para os genótipos CNF 0011239, PI 313633, CNF 0011086, Ouro Negro e NORH 54 (Tabela 39). O genótipo CNF 0011086 foi o que apresentou maior quantidade de GV sob adubação, enquanto PI 387865 o menor valor para GV (Tabela 39). Este mesmo genótipo também produziu menos GV sob inoculação (Tabela 39).

As médias de PI 387865 para GV, no inverno de 2014, se equivalem às observadas no inverno de 2013 (Tabela 25), reforçando o efeito genético dessa característica (ARAÚJO et al., 2007). Por outro lado, se para GV este genótipo se enquadra entre os que apresentaram os menores valores nos dois anos de cultivo, para massa de 100 grãos participa com os melhores valores (Tabelas 25 e 39), fato que se deu em função do tamanho de suas sementes,

característica de genótipo andino (SINGH et al., 1991a). A produtividade de PI 387865 foi de 2875 kg ha⁻¹ quando adubado e 2881 kg ha⁻¹ quando inoculado (Tabela 40).

A produtividade média entre os genótipos adubados foi maior que a verificada para os genótipos sob inoculação - médias de 2869 e 2300 kg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 40) -, correspondendo a um aumento aproximado de 800 kg ha⁻¹ para a média dos genótipos adubados e 500 kg ha⁻¹ de aumento para os genótipos inoculados, em relação ao observado no inverno de 2013 (Tabela 26).

No tratamento adubado, a produtividade entre os 18 genótipos não diferiu estatisticamente (Tabela 40), enquanto que, para os genótipos que foram inoculados, houve diferença e os valores variaram de 1072 kg ha⁻¹, obtido por NORH 54, até os 3307 kg ha⁻¹, alcançados por CNF 0011137 (Tabela 40). Este genótipo inoculado alcançou 97% da produtividade obtida sob adubação (Tabela 40).

Apenas três genótipos, CNF 0011234, CNF 0011086 e NORH 54, apresentaram resultados significativos entre as fontes de N. Para estes genótipos, a produtividade sob adubação, superou a inoculação (Tabela 40).

A observação dos percentuais da produtividade relativa dos genótipos inoculados indicou que estes ficaram praticamente iguais em relação à 2013 para cinco genótipos. Os percentuais diminuíram para quatro dos genótipos, e aumentaram para nove deles (Tabelas 26 e 40), evidenciando variações no comportamento dos genótipos influenciadas pelo ambiente (RAMALHO et al., 1993).

Uma das causas dessa diferença de produtividade pode ser explicada pelo fato de que as plantas do experimento de 2013 sofreram mais com o ataque de doenças, tais como brusone, mofo-branco e mosaico dourado, que não foram avaliadas neste trabalho. Entretanto, visualmente era possível perceber o comprometimento do vigor das plantas, principalmente para o genótipo CNF 0011028. Tal fato certamente teve influência sobre a produtividade deste genótipo, refletindo numa produtividade relativa de 170% quando sob inoculação em 2013 (Tabela 26), indicando, assim, que as plantas inoculadas deste genótipo, naquele período, resistiram melhor aos ataques de doenças, sendo que a inoculação com rizóbio em alguns casos pode favorecer seus hospedeiros na resistência a patógenos (DUTTA et al., 2014; AL-ANI & ADHAB, 2013). De todo modo, a produtividade foi inferior à observada em 2014 (Tabela 26 e 40).

A produtividade relativa (PR) dos genótipos inoculados em relação aos mesmos adubados ficou acima de 70% em nove genótipos (Tabela 40). CNF 0011086 e CNF 0011234 ficaram abaixo dessa faixa, com 57,61% e 66,73%, respectivamente. NORH 54, que não recebeu inoculação, atingiu 35,97% da produtividade do seu correspondente adubado (Tabela 40).

Como NORH 54 não fixa nitrogênio, o percentual de produtividade relativa alcançado por este genótipo pode servir como um indicativo de teores de N mineralizável no solo inferiores, para que se alcance a produtividade potencial das plantas. O valor obtido para o teor de N no solo pelo método de Dumas (0,12%), considerado que por ano são mineralizados de 2 a 3% do N orgânico do solo (CANTARELLA, 2007), reforça a grande contribuição que a FBN pode prover, principalmente naqueles genótipos com produtividade relativa próxima ou superior a 100%.

Os genótipos inoculados que se equivaleram ou superaram a produtividade alcançada quando adubados foram PI 387865, com PR de 100,19%; CNF 0011095, com 102,27%; CNF 0011075, com PR de 110,63%; e CNF 0011559 com 124,79% (Tabela 40). Considerando que há certa predileção pelas plantas em economizar energia e absorver o N-mineral prontamente disponível (MENDES et al., 2008), tais dados merecem destaque.

Os resultados deste experimento, assim como os obtidos no inverno de 2013, demonstram potencial produtivo de alguns genótipos sob inoculação, que apresentaram

produtividade próxima, equivalente ou superior às observadas para os mesmos genótipos sob adubação (Tabelas 26 e 40). Além disso, a nodulação de plantas que se encontravam nas parcelas cujo tratamento era adubação mineral indica um grande sinergismo entre estes genótipos e os microrganismos presentes no solo, bem como uma eficiente capacidade de infestação dos mesmos. Respostas semelhantes foram obtidas na avaliação de genótipos de feijão carioca sob inoculação e adubação, com produtividades semelhantes entre as fontes de N, exceto por dois genótipos que se destacaram, um respondendo mais à inoculação e outro à adubação (OTSUBO et al., 2013). Esses resultados reforçam diferenças de reação entre os genótipos, que aparentemente divergem entre responder melhor a uma das fontes de nitrogênio ou responder bem às duas condições.

Reações diferenciadas entre genótipos comerciais de feijoeiro também foram observadas por Fageria et al. (2014). Ao final dos dois anos, concluiu-se, avaliando somente as variações médias entre os tratamentos, que o aumento de produtividade em relação ao tratamento controle foi de 19% no tratamento inoculação, 34% de aumento quando se usou 50 kg N ha⁻¹ e inoculação, e 50% quando o tratamento foi 120 kg N ha⁻¹ (FAGERIA et al., 2014). No entanto, uma observação mais atenta das variações entre os genótipos permite a verificação de que as cultivares responderam de forma diferenciada aos tratamentos, inclusive variando entre os anos de avaliação. Algumas apresentaram melhor rendimento quando se combinou inoculação e adubação, chegando a ocorrer casos em que a superioridade alcançou 1400 kg ha⁻¹ (cultivar Aporé), enquanto outras só responderam bem à adubação (FAGERIA et al., 2014).

Tabela 38. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Fonte de Variação	GL	Número de vagens		Número de grãos		Massa de 100 grãos	Produtividade
		por planta	por vagem	por planta	por vagem		
Blocos	2	21,94 ^{ns}	0,14 ^{ns}	6,89 ^{ns}	1,11 x 10 ^{6ns}		
Fonte N (F)	1	1,89 x 10 ^{3**}	5,09 ^{ns}	47,35 ^{ns}	1,17 x 10 ^{7*}		
Resíduo	3	30,31	0,60	27,27	1,09 x 10 ⁶		
Genótipos (G)	17	79,38**	6,70**	817,65**	1,11 x 10 ^{6*}		
Interação GxF	17	25,20 ^{ns}	1,18**	18,01 ^{ns}	7,04 x 10 ^{5ns}		
Resíduo	54	15,01	0,63	11,80	6,00 x 10 ⁵		

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Tabela 39. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no estágio de maturação, de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Genótipo	Número de vagens por planta		Número de grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	15,2 cdef	10,7 a	4,1 cde	3,4 bcde	42,8 b	43,3 abc
02. CNF 0011559	12,9 ef	10,6 a	3,6 def	4,1 abcd	33,5 cdef	32,4 def
03. CNF 0011239	18,6 abcdef	14,9 a	6,2 ab	4,5 abc*	23,2 gh	24,0 fgh
04. PI 209491	21,3 abcdef	11,4 a*	4,4 bcde	4,8 abc	23,6 gh	21,0 gh
05. PI 387865	19,4 abcdef	13,9 a	2,0 f	2,2 e	55,0 a	52,6 a
06. CNF 0011228	18,4 abcdef	12,1 a*	5,2 abcde	5,2 ab	17,2 h	17,6 h
07. CNF 0011026	24,3 abcd	13,6 a*	4,0 cde	4,0 abcde	22,1 gh	21,2 gh
08. CNF 0011137	22,1 abcde	10,7 a*	3,7 cdef	3,5 abcde	36,7 bc	46,9 ab*
09. CNF 0011075	14,0 def	9,1 a	5,3 abcd	4,7 abc	22,5 gh	26,2 fgh
10. CNF 0011095	15,3 cdef	10,7 a	5,5 abc	5,4 a	19,8 gh	22,3 gh
11. CNF 0011240	25,2 abc	16,5 a*	4,4 bcde	4,8 abc	20,8 gh	20,8 gh
12. CNF 0011028	26,7 a	14,2 a*	3,8 cdef	3,3 cde	26,6 defg	28,0 efg
13. PI 325750	18,2 abcdef	13,5 a	3,4 ef	3,3 cde	35,8 bcd	36,8 cde
14. PI 313633	15,7 bcdef	10,8 a	3,9 cdef	2,6 de*	34,6 bcde	38,0 bcd
15. CNF 0011086	25,8 ab	11,6 a*	6,3 a	4,7 abc*	16,9 h	20,6 gh
16. Pérola	20,8 abcdef	9,9 a*	4,6 abcde	5,4 a	24,9 fgh	23,7 fgh
17. Ouro Negro	17,8 abcdef	10,7 a*	4,8 abcde	3,8 abcde*	25,6 efgh	24,5 fgh
18. NORH 54**	11,1 f	7,4 a	4,8 abcde	3,4 bcde*	18,5 gh	20,9 gh
Média	19,0	11,8*	4,4	4,1*	27,8	28,9
CV (%)	27,04		17,27		13,08	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

Tabela 40. Produtividade de grãos de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no inverno de 2014.

Genótipo	Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produtividade Relativa [◊]
	Adubação	Inoculação	%
01. CNF 0011234	3488 a	2328 ab*	66,73
02. CNF 0011559	1818 a	2270 ab	124,79
03. CNF 0011239	3567 a	2674 ab	74,95
04. PI 209491	2565 a	2000 ab	77,97
05. PI 387865	2875 a	2881 ab	100,19
06. CNF 0011228	2663 a	2402 ab	90,19
07. CNF 0011026	2361 a	1870 ab	79,20
08. CNF 0011137	3386 a	3307 a	97,66
09. CNF 0011075	2295 a	2539 ab	110,63
10. CNF 0011095	2500 a	2557 ab	102,27
11. CNF 0011240	2811 a	2232 ab	79,41
12. CNF 0011028	2677 a	2132 ab	79,65
13. PI 325750	3454 a	2555 ab	73,97
14. PI 313633	2567 a	2031 ab	79,13
15. CNF 0011086	3295 a	1898 ab*	57,61
16. Pérola	3244 a	2333 ab	71,93
17. Ouro Negro	3136 a	2327 ab	74,21
18. NORH 54**	2981 a	1072 b*	35,97
Média	2871	2300*	
CV (%)	31,23		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

◊ Percentual de produtividade dos genótipos inoculados em relação aos adubados.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

4.5.3. Santo Antônio de Goiás (GO), verão de 2013/2014

A data do início do experimento foi 27 de dezembro de 2013 e, logo em seguida, no mês de janeiro, houve um grande intervalo sem chuva ou dias com muito pouca quantidade observada (Figura 5). Apesar dos valores de precipitação não serem considerados limitantes para a cultura do feijão (VIEIRA et al., 2006), tal irregularidade de períodos chuvosos pode ter sido um fator negativo para o desenvolvimento do experimento.

a) Nodulação

Foi observado efeito significativo dos genótipos para todos os componentes de nodulação (Tabela 41). A influência da fonte de N foi verificada para massa seca de nódulos (MSN) e massa seca de um nódulo (MSRN), enquanto o efeito da interação entre genótipos e fontes de N ocorreu apenas para MSRN (Tabela 41).

Tabela 41. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014). Dados transformados para raiz quadrada.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Blocos	3	65,57 ^{ns}	77,49 ^{ns}	0,17 ^{ns}
Fonte N (F)	1	244,56 ^{ns}	378,68*	1,97**
Resíduo	3	35,75	23,73	0,03
Genótipos (G)	17	46,60**	44,83**	0,42**
Interação GxF	17	16,68 ^{ns}	11,34 ^{ns}	0,06*
Resíduo	54	11,67	7,48	0,03

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Os valores médios de NN para os tratamentos adubação e inoculação foram 31 e 81 nódulos planta⁻¹, respectivamente (Tabela 42). Estes valores correspondem a uma nodulação média 261% superior dos genótipos inoculados em relação aos adubados. Como o experimento de verão (safra das águas) foi conduzido em área experimental sem irrigação, e houve restrição de chuvas no período (Figura 5), e considerando-se ainda os percentuais de 392% no inverno de 2014 e 441% no inverno de 2013, é possível afirmar que a restrição de água teve efeito sobre a nodulação no verão, uma vez que o estresse hídrico é um dos fatores limitantes à nodulação (HUNGRIA & VARGAS, 2000).

Excetuando-se NORH 54, que não recebeu adubação, e também não nodulou, os valores de NN para genótipos adubados variou de oito nódulos planta⁻¹ na cultivar Pérola até 89 nódulos planta⁻¹ em PI 313633 (Tabela 42). Para os genótipos inoculados, os valores de NN estiveram entre 17 nódulos planta⁻¹, em Ouro Negro, e 269 nódulos planta⁻¹ em CNF 0011075 (Tabela 42).

Além da cultivar comercial Pérola, os genótipos CNF 0011234, CNF 0011559, CNF 0011137 e CNF 0011075 foram superiores em NN, comparativamente aos seus equivalentes adubados (Tabela 42).

A baixa nodulação verificada em Pérola sob adubação, assim como a diferença percentual entre a nodulação de Ouro Negro inoculado e de CNF 0011075, sugere sensibilidade das cultivares comerciais testadas às condições que se apresentaram durante a condução do experimento. Estatisticamente, a nodulação em Ouro Negro foi classificada próxima à NORH 54, que não nodulou (Tabela 42). A diferença entre 17 nódulos planta⁻¹ em Ouro Negro, e 269 nódulos planta⁻¹ em CNF 0011075 correspondeu a uma nodulação 1582% superior de CNF 0011075 em relação a Ouro Negro.

Tendo em vista que Ouro Negro é considerada espécie com boa capacidade de nodulação (HENSON et al., 1993); e partindo do pressuposto de que tenha sido sensível às condições de déficit hídrico e doença, os genótipos que apresentaram boa nodulação, nas condições deste experimento, provavelmente têm capacidade adaptativa às condições limitantes as quais o estudo ficou exposto.

A interação dos genótipos com as fontes de N resultou em sete genótipos, além da cultivar Pérola, com MSN significativamente maiores que seus equivalentes adubados. A média de MSN obtida do tratamento adubado foi 17,92 mg planta⁻¹, significativamente inferior à do tratamento inoculado, que foi 62,01 mg planta⁻¹. Nesse panorama, se destaca CNF 0011028, com MSN de 78,34 e 221,48 mg planta⁻¹ para adubação e inoculação, respectivamente (Tabela 42).

Os bons indicadores de nodulação apresentados pelos genótipos CNF 0011075 e CNF 0011028 sugerem a capacidade de lidar com condições de limitação de água,

principalmente CNF 0011028, que teve sobrevivida até a fase de maturação de grãos (Tabela 55). Investigações futuras que envolvam avaliações dos teores de trealose, dissacarídeo importante na regulação de estresses abióticos (LÓPEZ et al., 2008), em nódulos e raízes destes genótipos, podem contribuir para a obtenção de genitores eficientes na capacidade de estabelecer simbiose com microrganismos fixadores de N e resistentes à alguns estresses, como o hídrico, visto que tem sido verificada reação sinérgica entre o aumento nos teores de trealose com incremento na nodulação em feijoeiro (ALTAMIRANO-HERNÁNDEZ et al., 2007; BARRAZA et al., 2013).

A diferença entre a massa seca de um nódulo (MSIN) entre os tratamentos inoculados e adubados foi verificada para três genótipos, acrescidos das cultivares Ouro Negro e Pérola (Tabela 42). Além das cultivares, os genótipos CNF 0011234, PI 209491 e PI 387865 possuíam nódulos maiores que seus equivalentes adubados.

Considerando a limitação imposta à nodulação em função da adubação (HUNGRIA & VARGAS, 2000; MENDES et al., 2008), os resultados para os fatores relacionados com a nodulação são promissores, já que apenas quatro genótipos apresentaram diferença entre adubação e inoculação para NN, em sete para MSN e apenas três para MSIN, revelando um grande potencial de exploração da capacidade destes genótipos em estabelecer simbiose com bactérias diazotróficas.

Assim como nas avaliações de inverno, houve correlação entre o número de nódulos e a massa seca de nódulos (Tabela 43).

Tabela 42. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg nódulo ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	25 ab	120 ab*	6,81 bc	137,05 ab*	0,26 bc	1,01 ab*
02. CNF 0011559	21 ab	141 ab*	15,20 abc	116,25 abc*	0,66 abc	0,88 abc
03. CNF 0011239	27 ab	21 bc	4,91 bc	12,98 de	0,31 bc	0,59 abc
04. PI 209491	34 ab	67 ab	22,52 abc	76,08 abcd*	0,52 abc	1,14 ab*
05. PI 387865	21 ab	45 abc	12,10 abc	63,40 abcd*	0,60 abc	1,45 a*
06. CNF 0011228	26 ab	37 abc	9,70 abc	23,46 cde	0,33 abc	0,61 bc
07. CNF 0011026	28 ab	37 abc	21,38 abc	26,41 bcde	0,72 ab	0,83 abc
08. CNF 0011137	24 ab	133 ab*	6,10 bc	45,04 bcde*	0,23 bc	0,29 c
09. CNF 0011075	36 ab	269 a*	22,35 abc	86,17 abcd	0,62 abc	0,83 abc
10. CNF 0011095	43 ab	34 abc	18,23 abc	24,81 cde	0,41 abc	0,81 abc
11. CNF 0011240	62 ab	89 ab	16,26 abc	40,21 bcde	0,27 bc	0,47 bc
12. CNF 0011028	57 a	157 ab	78,34 a	221,48 a*	0,99 a	1,25 ab
13. PI 325750	15 ab	63 abc	5,58 bc	41,01 bcde*	0,31 bc	0,61 abc
14. PI 313633	89 a	86 ab	69,52 ab	84,57 abcd	0,57 abc	0,90 abc
15. CNF 0011086	12 ab	25 bc	9,06 abc	28,69 bcde	0,70 ab	1,06 ab
16. Pérola	8 ab	121 ab*	1,64 bc	72,13 abcd*	0,17 bcd	0,61 abc*
17. Ouro Negro	21 ab	17 bc	2,86 bc	16,41 de	0,16 cd	0,99 ab*
18. NORH 54**	0 b	0 c	0,00 c	0,00 e	0,00 d	0,00 d
Média	31	81*	17,92	62,0*	0,44	0,80*
CV (%)	44,79		45,43		24,97	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N..

Tabela 43. Matriz de correlação dos dados de nodulação para as duas fontes de nitrogênio, adubação (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, no experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

80 kg N ha ⁻¹			
	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Número de nódulos	-		
Massa seca de nódulos	0,806*	-	
Massa seca de um nódulo	0,396	0,688*	-
Inoculação			
Número de nódulos	1,000		
Massa seca de nódulos	0,651*	1,000	
Massa seca de um nódulo	0,124	0,518*	-

*Correlação de Pearson significativa pelo Teste t (p<0,05).

b) Biomassa

Foi observado efeito dos genótipos para MSPA e NAPA, enquanto para NT, houve efeito da fonte de N (Tabela 44).

Tabela 44. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6) coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

Fonte de Variação	GL	Massa seca de parte aérea	Teor de nitrogênio na parte aérea	Nitrogênio acumulado na parte aérea
Blocos	3	54,81 ^{ns}	5,85 ^{ns}	5,66 x 10 ^{4ns}
Fonte N (F)	1	83,00 ^{ns}	1,10 x 10 ^{3*}	1,08 x 10 ^{6ns}
Resíduo	3	38,56	52,60	6,56 x 10 ⁴
Genótipos (G)	17	103,92 ^{**}	55,76 ^{ns}	1,09 x 10 ^{5**}
Interação GxF	17	33,91 ^{ns}	21,17 ^{ns}	5,21 x 10 ^{4ns}
Resíduo	54	34,82	34,84	4,43 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

As médias de MSPA nos tratamentos adubação e inoculação foram 23,31 e 21,79 mg planta⁻¹, respectivamente (Tabela 45). Dos genótipos adubados, os maiores valores de MSPA foram obtidos por CNF 0011086, PI 313633, CNF 0011240 e CNF 0011095 (Tabela 45). CNF 0011240 também figurou no grupo dos maiores valores de MSPA sob inoculação, juntamente com PI 325750 e Ouro Negro (Tabela 45).

Os teores de N na parte aérea (NT) foram significativamente maiores nas plantas que receberam adubação mineral em relação às inoculadas, não ocorrendo, contudo, diferença entre os genótipos. Entre os genótipos que receberam inoculação, também não houve diferença para NT (Tabela 45). Além das cultivares comerciais Pérola e Ouro Negro, os genótipos CNF 0011559, CNF 0011075 e PI 387865 apresentaram maiores valores de NT sob adubação (Tabela 45).

O acúmulo de N por planta (NAPA) não foi influenciado pela fonte de N, sendo uma característica que se apresentou alterada pelos genótipos (Tabela 45). O genótipo que mais acumulou N sob adubação foi CNF 0011086, que acumulou 1179 mg N planta⁻¹, enquanto dos inoculados destacou-se PI 325750, com 970 mg planta⁻¹ (Tabela 45).

Tabela 45. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estádio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

Genótipo	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)		Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	18,59 ab	23,11 ab	32,41 a	32,39 a	599 bc	722 ab
02. CNF 0011559	20,88 ab	22,81 ab	40,97 a	32,39 a*	853 abc	738 ab
03. CNF 0011239	26,16 ab	17,72 ab*	40,68 a	35,02 a	1073 ab	622 ab*
04. PI 209491	26,00 ab	22,56 ab	37,33 a	35,05 a	998 abc	791 ab
05. PI 387865	19,24 ab	20,26 ab	44,16 a	32,76 a*	844 abc	652 ab
06. CNF 0011228	20,64 ab	19,14 ab	37,39 a	33,80 a	780 abc	648 ab
07. CNF 0011026	25,29 ab	20,83 ab	33,96 a	27,81 a	867 abc	582 ab
08. CNF 0011137	20,89 ab	24,08 ab	35,99 a	29,81 a	747 abc	724 ab
09. CNF 0011075	22,48 ab	19,29 ab	42,14 a	33,95 a*	927 abc	647 ab
10. CNF 0011095	27,20 a	23,55 ab	33,69 a	27,08 a	897 abc	637 ab
11. CNF 0011240	27,28 a	25,21 a	31,57 a	31,49 a	833 abc	783 ab
12. CNF 0011028	19,88 ab	18,41 ab	37,79 a	34,29 a	757 abc	626 ab
13. PI 325750	25,16 ab	27,71 a	37,78 a	34,94 a	957 abc	970 a
14. PI 313633	30,14 a	22,42 ab*	34,47 a	28,09 a	1008 abc	613 ab*
15. CNF 0011086	30,95 a	24,73 ab	38,39 a	32,97 a	1179 a	822 ab*
16. Pérola	24,12 ab	21,14 ab	40,88 a	30,92 a*	991 abc	659 ab*
17. Ouro Negro	21,21 ab	27,69 a	39,70 a	30,25 a*	802 abc	856 ab
18. NORH 54**	13,38 b	11,50 b	38,85 a	35,70 a	524 c	425 b
Média	23,31	21,79	37,68	32,15*	869	695*
CV (%)	23,85		16,91		26,03	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

c) Teor de N-ureído na seiva das plantas

As diferenças estatísticas verificadas para os teores de N-ureído na seiva das plantas coletadas no campo tiveram influência dos genótipos das plantas, das fontes de N e da interação entre genótipos e fontes de N, como indica a análise de variância (Tabela 46).

Tabela 46. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de teor de N-ureído nas seivas de plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

Fonte de Variação	GL	Teor de ureído na seiva
Blocos	2	6,60 ^{ms}
Fonte de N (F)	1	5,18 x 10 ⁴ **
Resíduo	2	26,99
Genótipo (G)	17	3,32 x 10 ³ **
Interação GxF	17	3,18 x 10 ³ **
Resíduo	36	26,62

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

As médias dos teores de N-ureído entre os genótipos adubados e inoculados foram de 18,14 e 61,94 nmol mL⁻¹, respectivamente (Tabela 47). Assim como nos experimentos de inverno, ocorreu diferença entre os tratamentos, onde o maior valor foi observado para inoculação (Tabelas 27, 42 e 53). No entanto, a diferenciação foi mais pronunciada no verão, pois o valor verificado para inoculação é maior que o triplo observado para adubação (Tabela 47).

CNF 0011559 foi o genótipo sob adubação que apresentou os maiores teores de N-ureído na seiva sob adubação - que, inclusive, foi maior do que quando este genótipo foi inoculado (Tabela 47).

Entre os genótipos adubados, PI 387865 e PI 313633 foram os que mais se aproximaram nos teores de N-ureído da seiva obtido por CNF 0011559, entretanto, estes teores foram inferiores aos obtidos quando foram inoculados (Tabela 47).

O genótipo PI 313633, além de figurar entre aqueles que apresentaram maiores teores de N-ureído sob adubação, sob inoculação foi o que mais se destacou, com 142,31 nmol de N-ureído mL⁻¹ de seiva (Tabela 47), sugerindo uma forte capacidade de transportar N na forma de N-ureído na seiva.

Um fato que não pode ser desconsiderado é que, apesar de os valores de pluviosidade média não significarem déficit hídrico (VIEIRA et al., 2006), contrariando o aspecto visual das plantas que sugeria o contrário, as chuvas não se distribuíram uniformemente, com pouca precipitação nos primeiros 24 dias do desenvolvimento do experimento. Após esse período, ocorreu uma precipitação de 84 mm; e, em seguida, as plantas foram submetidas a um novo ciclo de baixa pluviosidade de 28 dias (Tabela 46).

O regime de chuva pode ter interferido no transporte de N-ureído, que em condições de estresse hídrico é direcionado ao acúmulo nos tecidos, folhas e nódulos, resultando, por conseguinte, numa redução na FBN (PURCELL et al., 2004; KING & PURCELL, 2005).

Plantas de caupi submetidas a condições de estresse hídrico progressivo e reidratação apresentaram diminuição da massa seca de folhas e nódulos e acúmulo de ureídos na seiva do xilema, além de redução na concentração de leghemoglobina nos nódulos (SILVEIRA et al., 2003). Sem extrapolar para massa de parte aérea, pois os dias de luminosidade no verão são maiores, os valores obtidos neste experimento para massa seca de nódulos apresentaram uma menor margem percentual se comparado com os experimentos de inverno. Considerando a massa percentual alcançada nos tratamentos inoculados em relação aos adubados, os resultados foram: 1045% no inverno de 2013 (Tabela 12), 524% no inverno de 2014 (Tabela 28), e 346% nessa etapa de verão (Tabela 42).

Por outro lado, 13 genótipos apresentaram discriminação entre os tratamentos, evidenciando maiores teores de N-ureído na seiva das plantas inoculadas, sugerindo atividade de fixação do N₂ nas plantas inoculadas e inibição no tratamento adubado, provocada pelo fornecimento de N-mineral (HUNGRIA et al., 2006).

Tabela 47. Teores de N-ureído na seiva de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014).

Genótipo	Teor de N-ureído na seiva (nmol mL ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	17,80 c	126,76 b*
02. CNF 0011559	38,06 a	15,03 gh*
03. CNF 0011239	16,49 c	91,72 c*
04. PI 209491	14,24 c	121,57 b*
05. PI 387865	33,58 ab	54,84 ef*
06. CNF 0011228	9,32 c	47,70 f*
07. CNF 0011026	15,98 c	83,96 cd*
08. CNF 0011137	18,69 c	51,30 f*
09. CNF 0011075	14,65 c	128,19 ab*
10. CNF 0011095	17,48 c	27,68 g*
11. CNF 0011240	15,28 c	9,81 h
12. CNF 0011028	9,75 c	27,68 g*
13. PI 325750	16,22 c	8,47 h*
14. PI 313633	33,66 ab	142,31 a*
15. CNF 0011086	14,59 c	70,02 de*
16. Pérola	10,05 c	81,30 cd*
17. Ouro Negro	12,08 c	15,80 gh
18. NORH 54**	18,52 bc	10,71 h
Média	18,14	61,94*
CV (%)	13,02	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N.

d) Produtividade

Além da restrição hídrica (Figura 5), este experimento de verão, em Santo Antônio de Goiás (GO), foi acometido por uma série de doenças, as quais não foram estudadas. Apesar da área utilizada nesse experimento ter ficado em pousio por mais de 10 anos, a grande infestação de doenças pode ter sido fruto dos cultivos sucessivos anteriores com leguminosas (TOLEDO-SOUZA et al., 2008). Cerca de três semanas após a floração, optou-se por descontinuar o experimento em função dos danos observáveis. Sendo assim, os tratamentos culturais, como pulverização, deixaram de ser aplicados.

Encerrado o período previsto para o ciclo da cultura, ao se retornar à área experimental, foram percebidas algumas subparcelas ainda com plantas e vagens em maturação. Foi observado que cinco genótipos possuíam repetibilidade, e seus dados são apresentados (Tabelas 48 e 49). Além destes, em outras subparcelas ainda havia material coletável, sem, contudo, apresentar condições de reprodutibilidade estatística.

Dos 18 genótipos testados, foi observada produtividade de grãos para CNF 0011239, CNF 0011228, CNF 0011095, CNF 0011086 e a cultivar Pérola (Tabela 49). O genótipo CNF 0011239 alcançou produtividade de 1409 kg ha⁻¹, enquanto sob inoculação alcançou 923 kg ha⁻¹ (Tabela 49). Pérola, sob adubação, produziu 663 kg ha⁻¹ e sob inoculação 323,01 kg ha⁻¹ (Tabela 49).

Tais informações são importantes para detecção de materiais mais resistentes a patógenos, características também desejáveis para futuros lançamentos de cultivares.

Tabela 48. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de produtividade de plantas de feijoeiro no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Santo Antônio de Goiás (GO), no verão (2013/2014), nos cinco genótipos que atingiram a fase de maturação.

Fonte de Variação	GL	Produtividade
Blocos	3	2,53 x 10 ^{4ns}
Fonte N (F)	1	6,10 x 10 ^{5*}
Resíduo	3	3,39 x 10 ⁴
Genótipos (G)	4	1,27 x 10 ^{6*}
Interação GxF	4	7,54 x 10 ^{4*}
Resíduo	15	2,47 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Tabela 49. Produtividade de grãos de cinco genótipos remanescentes de experimento abandonado no campo, em Santo Antônio de Goiás (GO), verão (2013/2014).

Genótipo	Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produtividade relativa ^o
	80 kg N ha ⁻¹	Inoculação	%
03. CNF 0011239	1409 a	923 a*	65,49
06. CNF 0011228	416 bc	102 b*	24,41
10. CNF 0011095	474 bc	424 b	89,34
15. CNF 0011086	157 c	114 b	72,48
16. Pérola	664 b	323 b*	48,68
CV (%)	36,42		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

^o Percentual de produtividade dos genótipos inoculados em relação aos adubados.

4.5.4. Ponta Grossa (PR)

Durante a condução do experimento, apesar do volume médio de água ter sido considerado adequado para a cultura do feijoeiro (VIEIRA et al., 2006), as precipitações ocorreram concentradas e com grandes intervalos de dias entre uma chuva e outra (Figura 6).

a) Nodulação

Os dados de nodulação apresentaram diferença significativa entre as fontes de N e os genótipos, não havendo efeito da interação entre os genótipos e as fontes de N (Tabela 50).

Tabela 50. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014. Dados transformados em raiz quadrada.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Blocos	3	17,76 ^{ns}	14,43*	0,19 ^{ns}
Fonte N (F)	1	419,65**	663,96**	5,04**
Resíduo	3	4,07	0,81	0,10
Genótipos (G)	17	25,45**	20,21**	0,29**
Interação GxF	17	4,15 ^{ns}	4,18 ^{ns}	0,04 ^{ns}
Resíduo	54	5,00	5,27	0,08

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A média dos genótipos que receberam adubação foi de 21 nódulos planta⁻¹, enquanto que para os genótipos que receberam inoculação essa média foi de 61 nódulos planta⁻¹ (Tabela 51). Dez genótipos e a cultivar Pérola apresentaram nodulação significativamente maior sob inoculação (Tabela 51).

Sob inoculação, não houve pronunciada diferença entre os genótipos - apenas cinco se aproximaram de NORH 54, genótipo não nodulante. Merecem destaques os valores de NN obtidos por PI 387165 e CNF 0011137, 120 e 113 nódulos planta⁻¹, respectivamente.

Na comparação entre os genótipos sob adubação, a superioridade de NN foi observada apenas para os genótipos PI 387865, CNF 0011137 e CNF 0011075 (Tabela 51).

As médias de MSN foram 11,06 mg planta⁻¹, para os genótipos adubados, onde o maior valor observado foi 29,01 mg planta⁻¹ no genótipo PI 387865 (Tabela 51). PI 387865 também foi o que apresentou mais MSN quando inoculado, correspondendo a 144,66 mg planta⁻¹. A média para todos os genótipos sob inoculação foi 57,98 mg planta⁻¹ (Tabela 51).

Os nódulos do tratamento inoculação foram maiores que os do tratamento adubação, com médias de 0,38 mg nódulo⁻¹ quando a fonte foi adubo mineral, e 0,92 quando foi inoculação; no entanto, só foi verificada diferença estatística entre adubado e inoculado para cinco genótipos (Tabela 51).

Entre os genótipos adubados, Ouro Negro apresentou os maiores nódulos, e os demais foram estatisticamente iguais entre si e menores que Ouro Negro (Tabela 51). Entre os genótipos inoculados, a MSRN foi maior em Ouro Negro e outros seis genótipos, destacando-se CNF 0011095 com 1,62 mg nódulo⁻¹ (Tabela 51).

A nodulação verificada para os genótipos inoculados correspondeu a 290% dos nódulos observados nas plantas adubadas (Tabela 51), percentual semelhante ao obtido no verão em Santo Antônio de Goiás (Tabela 42).

Assim como no verão em Goiás, este experimento em Ponta Grossa também foi conduzido em área sem irrigação, e passou por restrições de chuvas no período (Figura 6), sendo até mais severo do que o observado em Goiás (Figura 5). No entanto, os valores de NN, MSN e MSIN apresentaram semelhanças entre as duas regiões, incluindo os períodos de inverno, que não apresentaram restrição hídrica (Tabelas 12, 28, 42 e 51) e mantiveram, assim, um padrão de discriminação entre o tratamento inoculação e adubação, no qual os aspectos de nodulação avaliados apresentaram-se menores no tratamento com adubação.

Resultados similares têm sido encontrados na literatura sobre a relação entre o uso de adubação mineral e a redução da nodulação (FERREIRA et al., 2000; SOUZA et al., 2011). Entretanto, apesar das parcelas adubadas apresentarem resultados inferiores aos das parcelas que receberam inoculação, o fato de ter ocorrido nodulação nestas parcelas é diagnóstico da capacidade simbiótica dos genótipos em estudo, bem como das bactérias presentes no solo (HUNGRIA & VARGAS, 2000).

No mesmo campo experimental deste trabalho, ainda que para uma cultura com alta especificidade com as bactérias de seu inoculante, como a soja, foi demonstrado que a utilização de N mineral, tanto em plantio convencional como em plantio direto, influenciou negativamente na nodulação, com impacto gradativo entre doses de arranque e inoculação até o uso exclusivo de N mineral (HUNGRIA et al., 2006). Além disso, foi observada também a nodulação com bactérias presentes no solo, nos tratamentos controle; e os valores se aproximaram dos observados no tratamento experimentado apenas com inoculação (HUNGRIA et al., 2006).

Um alto teor de matéria orgânica no solo, favorecido pela adoção de semeadura direta, provavelmente influenciou na manutenção de níveis adequados de umidade e temperatura (SILVA & MENDONÇA, 2007), impedindo que houvesse perdas significativas de nodulação em função da carência de chuvas.

Tabela 51. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), em 2014.

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg nódulo ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	20 ab	59 a*	9,64 a	51,88 a*	0,37 ab	0,80 ab
02. CNF 0011559	7 ab	56 a*	3,19 a	46,32 a*	0,23 ab	0,80 ab*
03. CNF 0011239	18 ab	41 ab	9,98 a	53,16 a*	0,53 ab	1,31 a
04. PI 209491	25 ab	76 a*	13,58 a	73,62 a*	0,39 ab	0,76 ab
05. PI 387865	49 a	120 a*	29,01 a	114,66 a*	0,53 ab	1,03 a
06. CNF 0011228	23 ab	47 ab	13,06 a	33,01 ab	0,31 ab	0,75 ab
07. CNF 0011026	20 ab	69 a*	10,53 a	36,56 ab	0,40 ab	0,50 ab
08. CNF 0011137	43 a	113 a*	19,04 a	94,70 a*	0,37 ab	0,94 a
09. CNF 0011075	57 a	52 a	27,77 a	64,95 a	0,57 ab	1,24 a
10. CNF 0011095	19 ab	52 a	7,58 a	74,93 a*	0,29 ab	1,62 a*
11. CNF 0011240	8 ab	40 ab*	3,91 a	51,48 ab*	0,19 ab	0,87 ab*
12. CNF 0011028	10 ab	36 ab	5,02 a	29,29 ab*	0,35 ab	0,81 ab
13. PI 325750	14 ab	60 a*	11,36 a	43,61 ab*	0,46 ab	0,77 ab
14. PI 313633	9 ab	69 a*	5,89 a	71,90 a*	0,50 ab	1,12 a*
15. CNF 0011086	15 ab	53 ab*	8,50 a	78,40 a*	0,35 ab	1,13 ab
16. Pérola	10 ab	72 a*	4,26 a	56,54 a*	0,31 ab	0,83 ab*
17. Ouro Negro	24 ab	72 a	15,41 a	61,32 a*	0,67 a	1,00 a
18. NORH 54**	0 b	2 b	0,00 a	1,19 b	0,00 b	0,14 b
Média	21	61*	11,06	57,98*	0,38	0,92*
CV (%)		43,37		49,51		41,50

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados

b) Biomassa

Houve efeito da fonte de N e dos genótipos e das fontes de N para massa seca de parte aérea (MSPA), teor de nitrogênio na parte aérea (NT) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) (Tabela 52).

Tabela 52. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teores de nitrogênio total e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014.

Fonte de Variação	GL	Massa seca de parte aérea	Teor de nitrogênio na parte aérea	Nitrogênio acumulado na parte aérea
Blocos	3	6,71 ^{ns}	3,10 ^{ns}	9,95 x 10 ^{3ns}
Fonte N (F)	1	581,52**	170,30**	1,13 x 10 ^{6**}
Interação FxG	17	7,32 ^{ns}	6,69 ^{ns}	1,10 x 10 ^{4ns}
Resíduo	3	11,34	1,43	1,61 x 10 ⁴
Genótipos (G)	17	18,18**	42,89**	2,45 x 10 ^{4**}
Interação GxF	17	7,32 ^{ns}	6,69 ^{ns}	1,10 x 10 ^{4ns}
Resíduo	54	6,20	7,64	9,38 x 10 ³

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Os valores médios de MSPA, NT e NAPA foram maiores para os genótipos adubados, onde se destacaram Pérola, Ouro Negro e CNF 0011137 que, como consequência de possuírem maiores valores de MSPA, responderam também como maiores acumuladores de N por planta, já que não houve diferença nos teores de N da parte aérea entre os genótipos

adubados (Tabela 53). Apesar de figurar entre os que mais possuíram MSPA sob inoculação, o genótipo PI 325750 não esteve entre aqueles com maiores valores de NAPA (Tabela 53).

O maior valor de MSPA entre os genótipos que receberam inoculação foi obtido por PI 325750 (Tabela 53). A igualdade entre os genótipos inoculados para NAPA (Tabela 53) evidencia que a MSPA neste genótipo foi mais influenciada por caracteres genéticos do que por efeito do tipo de fonte de N. CNF 0011559, CNF 0011240, PI 325750, PI 313633 apresentaram valores iguais entre as duas fontes de N, para MSPA, NT e NAP (Tabela 53).

A maior média geral de MSPA dos genótipos adubados em relação aos inoculados indica que, apesar dos altos teores de matéria orgânica no solo, o N não se encontrava prontamente mineralizável, ou esse N não supriu toda a demanda total da planta, tornando mais importante a observação daqueles genótipos que conseguiram responder com os mesmos valores de MSPA, NT e NAPA entre os tratamentos adubação e inoculação. Isso indica que há uma mesma obtenção de N nestes genótipos em tratamentos distintos, podendo sugerir maior fixação de N₂.

Os altos teores de matéria orgânica, propiciado pela semeadura direta, favorecem ao acúmulo de N no sistema (PEDRA et al., 2012). Em contrapartida, implica também em uma mineralização mais lenta (SILVA & MENDONÇA, 2007). A estimativa de N disponível no solo para assimilação pelas plantas ainda é imprecisa, principalmente por ser variável em função de condições de clima, temperatura, características físicas do solo e qualidade da matéria orgânica presente no solo (CANTARELLA, 2007). Os resultados que têm sido obtidos para as taxas de mineralização de N nos solos brasileiros evidenciam que se faz necessária a complementação com N mineral (CAMARGO et al., 1997; SORATTO et al., 2013). Sendo assim, aqueles genótipos que não recebem adubação nitrogenada, nodulam, e conseguem valores similares aos adubados, de acúmulo de N na parte aérea e, principalmente de produtividade, são desejáveis.

Apesar de os teores de N na parte aérea se apresentarem similares para os genótipos entre as fontes de N, na média geral ocorreu diferença entre os tratamentos (Tabela 53), indicando que houve resposta à adubação nitrogenada. A combinação de maiores valores de MSPA e os maiores teores de N quantificados nas plantas (NT), no tratamento adubação, refletiu nos valores obtidos para acúmulo de N por planta, os quais, praticamente para todos os genótipos, foram maiores no tratamento adubação (Tabela 53). Resultado similar foi verificado em feijoeiro em sucessão ao milho safrinha previamente consorciado com braquiária, em sistema de plantio direto (SOUZA et al., 2011). Em estudo de deficiência hídrica, o aumento na dose do N de cobertura aumentou o acúmulo de N na parte aérea, porém refletiu mais em recuperação de plantas sob estresse do que propriamente aumento de produtividade (STONE & MOREIRA, 2001).

Tabela 53. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), em 2014.

Genótipo	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)		Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	11,51 ab	6,91 ab*	35,89 a	35,14 bc	414 ab	240 a*
02. CNF 0011559	10,34 ab	7,74 ab	39,92 a	36,34 abc	417 ab	282 a
03. CNF 0011239	11,67 ab	8,51 ab*	40,79 a	34,43 bc*	471 ab	293 a*
04. PI 209491	11,50 ab	6,73 ab*	41,15 a	39,45 ab	474 ab	263 a*
05. PI 387865	13,21 ab	7,56 ab*	35,01 a	30,75 c*	464 ab	233 a*
06. CNF 0011228	11,11 ab	7,90 ab	41,49 a	40,07 ab	458 ab	315 a*
07. CNF 0011026	11,06 ab	7,22 ab*	40,75 a	38,54 ab	449 ab	275 a*
08. CNF 0011137	14,62 a	6,69 ab*	39,58 a	39,75 ab	576 a	266 a*
09. CNF 0011075	9,73 ab	5,79 b*	39,34 a	37,70 abc	378 ab	217 a*
10. CNF 0011095	11,98 ab	6,51 ab*	41,94 a	39,54 ab	501 ab	257 a*
11. CNF 0011240	9,28 ab	7,86 ab	41,65 a	37,10 abc*	383 ab	288 a
12. CNF 0011028	12,11 ab	7,49 ab*	41,83 a	35,24 bc	507 ab	287 a*
13. PI 325750	14,52 a	12,29 a	36,95 a	34,08 bc	534 ab	420 a
14. PI 313633	10,77 ab	8,60 ab	37,66 a	35,24 bc	404 ab	297 a
15. CNF 0011086	12,34 ab	7,73 ab*	39,60 a	38,26 abc	491 ab	296 a*
16. Pérola	15,33 a	8,40 ab*	39,35 a	38,69 ab	605 a	326 a*
17. Ouro Negro	14,99 a	10,08 ab*	40,80 a	38,63 ab	611 a	389 a*
18. NORH 54**	7,67 b	7,44 ab	41,42 a	43,11 a	313 b	319 a
Média	11,90	7,91*	39,95	37,47*	473	296*
CV (%)	25,24		7,15		25,42	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados

c) Produtividade

Os genótipos PI 387865, CNF 0011026, CNF 0011028 não atingiram o final do estágio de maturação em função da incidência de doenças e da restrição hídrica, e o genótipo CNF 0011234 também foi afetado. Desta forma, foi conduzida uma análise de variância com os dados de 15 genótipos disponíveis ao final do experimento, que indicou que para massa de 100 grãos e produtividade houve efeito do genótipo e da interação dos genótipos nas fontes de N, enquanto que o efeito de fonte de N foi observado apenas para produtividade (Tabela 54).

Tabela 54. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa de 100 sementes e de produtividade de plantas de feijoeiro, no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Ponta Grossa (PR), em 2014.

Fonte de Variação	GL	Massa de 100 grãos	Produtividade
Blocos	3	7,81 ^{ns}	3,14 x 10 ^{5ns}
Fonte N (F)	1	26,47 ^{ns}	5,16 x 10 ^{6**}
Resíduo	3	30,96	1,39 x 10 ⁵
Genótipos (G)	14	624,44**	3,60 x 10 ^{6**}
Interação GxF	14	2,90*	4,65 x 10 ^{5*}
Resíduo	45	14,26	2,88 x 10 ⁵

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

Os valores obtidos para massa de 100 grãos foram iguais nos dois tratamentos, para os 15 genótipos em avaliação (Tabela 55), resultado similar ao encontrado em outros trabalhos (FERREIRA et al., 2000; KANEKO et al., 2010). O ranqueamento estatístico permitiu o posicionamento dos genótipos nas mesmas escalas tanto sob adubação quanto sob

inoculação, evidenciando que essa característica foi fortemente influenciada pelo genótipo (ARAÚJO et al., 2007), sem efeito da fonte de N (Tabela 55).

Em sistema de plantio direto em Latossolo, no estado de São Paulo, foi verificado para feijoeiro, cultivar IAC Carioca, que os valores de vagem por planta e peso de 1000 sementes foram maiores em semeadura direta do que em sistema convencional (GENNARO et al., 2014). No Centro-Oeste, em plantio direto com cobertura morta, para o feijoeiro em sucessão ao milho e arroz, foram observados aumentos no número de vagens por planta e no número de grãos por vagem, tanto em suprimento adequado de água quanto em deficiência hídrica. No entanto, o peso de 100 grãos não variou (STONE & MOREIRA, 2000).

No presente trabalho, os valores de massa de 100 grãos, obtidos sob plantio direto, foram semelhantes àqueles obtidos nos experimentos de inverno em Santo Antônio de Goiás (GO), sob cultivo convencional (Tabelas 12 e 28).

A produtividade média dos genótipos adubados foi maior do que a dos inoculados, alcançando 1798 kg ha⁻¹, enquanto dos genótipos inoculados foi de 1383 kg ha⁻¹ (Tabela 55). A aplicação de N em cobertura, entre 22 e 35 DAE, pode aumentar a produtividade do feijoeiro em plantio direto (ALMEIDA et al., 2004). Também foi relatado aumento de produtividade em função de doses de cobertura, porém sem efeito da época de aplicação até os 30 dias após emergência (BINOTTI et al., 2014). No entanto, em uma sucessão de milho por feijoeiro, a inoculação de *R. tropici* e o uso crescente de doses de N de cobertura não influenciaram na produtividade (SOUZA et al., 2011).

Em plantas sob estresse hídrico, a adição de maiores doses de N em cobertura ajudou na recuperação das plantas, entretanto, não foi diferente entre plantio direto e manejos convencionais (STONE & MOREIRA, 2001). Para soja, em plantio direto, no mesmo campo experimental do presente estudo, a reinoculação permitiu produtividade semelhante àquela alcançada quando se utilizou altas taxas de adubação com N-mineral, ou mesmo doses de arranque e inoculação (HUNGRIA et al., 2006).

O único genótipo que foi mais produtivo no tratamento inoculado foi CNF 0011559, que apresentou uma produtividade relativa de 120% (Tabela 55). Esse percentual é equivalente ao alcançado por este genótipo quando testado no Centro-Oeste, sob plantio convencional (Tabelas 31 e 45), o que sugere uma boa resposta genotípica à simbiose. CNF 0011086 produziu o equivalente a 99% do seu correspondente adubado, e CNF 0011239 produziu 98%. Já CNF 011228 produziu 92%, e CNF 0011137, o equivalente a 87% (Tabela 55).

A cultivar Pérola foi o genótipo mais produtivo, tanto quando recebeu adubação quanto sob inoculação. Entretanto, a produtividade foi significativamente maior quando sob adubação, produzindo 3264 kg ha⁻¹ contra 2349 kg ha⁻¹ (Tabela 55). Em um experimento em Botucatu (SP), Pérola apresentou 3898 kg ha⁻¹ de produtividade quando adubada com 110 kg N ha⁻¹ (SORATTO et al., 2013). Esta cultivar já demonstrou também resposta positiva à inoculação combinada com a adição parcial de N-mineral (PELEGRIN et al., 2009; FAGERIA et al., 2014).

Além de Pérola, os genótipos PI 209491, CNF 0011075, CNF 0011095, PI 325750 responderam melhor à adubação nitrogenada, atingindo produtividades superiores ao tratamento inoculação (Tabela 55).

Sistemas de manejo conservacionistas, como a semeadura direta, são capazes de aumentar os teores de N da biomassa microbiana e N total no solo em até 50 % (SILVA et al., 2014), embora, neste estudo, não tenha apresentado aumento de produtividade, haja vista que a produtividade geral, tanto no tratamento adubação quanto inoculação, foi inferior aos demais ambientes. Tal fato pode ser relacionado com a mineralização mais lenta do N, geralmente verificada em plantio direto (AGEHARA & WARNCKE, 2005).

Tabela 55. Massa de 100 grãos e produtividade de grãos de 15 genótipos de feijoeiro crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Ponta Grossa (PR), em 2014.

Genótipo	Massa de 100 grãos (g)		Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produtividade relativa ^Δ
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	%
01. CNF 0011234	41,66 a	40,02 a	167 f	180 d	107,99
02. CNF 0011559	38,11 a	36,87 a	1049 def	1260 abcd	120,07
03. CNF 0011239	17,96 cd	18,52 cd	1881 bcd	1846 ab	98,14
04. PI 209491	25,21 bc	25,47 bc	2577 ab	1779 ab*	69,04
06. CNF 0011228	20,82 bcd	17,23 cd	1745 bcde	1612 abc	92,36
08. CNF 0011137	36,88 a	36,93 a	2076 abcd	1811 ab	87,23
09. CNF 0011075	26,68 b	25,68 bc	2837 ab	1416 abcd*	49,91
10. CNF 0011095	22,91 bcd	20,42 bcd	2229 abcd	1464 abc	65,68
11. CNF 0011240	21,44 bcd	20,81 bcd	1775 bcde	1442 abc	81,23
13. PI 325750	39,62 a	38,10 a	2365 abc	1253 abcd*	52,87
14. PI 313633	38,69 a	38,25 a	1284 cdef	797 bcd	62,03
15. CNF 0011086	16,26 d	14,89 d	1322 cdef	1316 abcd	99,48
16. Pérola	27,13 b	28,02 b	3264 a	2349 a*	71,97
17. Ouro Negro	23,03 bcd	21,23 bcd	1816 bcde	1841 ab	101,38
18. NORH 54**	19,34 bcd	19,18 cd	579 ef	382 cd	66,06
Média	27,72	26,77	1798	1383*	
CV (%)	12,60		31,60		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

^Δ Percentual de produtividade dos genótipos inoculados em relação aos adubados.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

4.5.5. Seropédica (RJ)

a) Nodulação

Foi observado efeito de genótipo para número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN) e massa seca de um nódulo (MSRN), não ocorrendo efeito da fonte de N (Tabela 56).

Tabela 56. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, obtidos em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014. Dados transformados em raiz quadrada.

Fonte de Variação	GL	Número de nódulos	Massa seca de nódulos	Massa seca de um nódulo
Blocos	3	4,88 ^{ns}	37,77 ^{ns}	0,45 ^{ns}
Fonte N (F)	1	2,39 ^{ns}	11,78 ^{ns}	0,86 ^{ns}
Resíduo	3	32,32	59,67	0,14
Genótipos (G)	17	39,77**	60,17**	0,52**
Interação GxF	17	5,37 ^{ns}	13,60 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Resíduo	54	7,59	12,48	0,12

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

As médias verificadas para NN foram 71 e 67 nódulos planta⁻¹ para adubação e inoculação, respectivamente. Para MSN, os valores foram 96,10 mg planta⁻¹ para adubação e 106,50 mg planta⁻¹ para inoculação, enquanto que, para MSRN, as médias foram 1,23 mg nódulo⁻¹ para adubação e 1,60 mg nódulo⁻¹ para inoculação (Tabela 57). É válido destacar

que os tamanhos dos nódulos foram os maiores entre todos os experimentos, já que nódulos grandes e com grande massa têm sido relacionados com boa fixação biológica de N (DÖBEREINER, 1966; SOUZA et al., 2008).

De uma maneira geral, os genótipos apresentaram valores semelhantes para os parâmetros de nodulação nas duas fontes de N. Apenas o genótipo PI 313633 apresentou MSN inferior sob adubação, que foi de 98,47 mg planta⁻¹; enquanto inoculado foi de 220,52 mg planta⁻¹ (Tabela 57). Pérola apresentou nódulos pequenos quando recebeu adubação (Tabela 57), sugerindo limitação provocada pela adubação (HUNGRIA & VARGAS, 2000).

A área de condução do experimento tem histórico de avaliação da FBN em diversas culturas, inclusive o feijoeiro. Esse fato pode ter favorecido o estabelecimento de populações de bactérias diazotróficas no solo ao longo dos anos, justificando a não observância de diferença estatística entre os tratamentos para os parâmetros de nodulação (Tabela 57), e indicando forte capacidade de infestação das bactérias presentes no solo, já que a adubação tenderia a inibir a nodulação (MENDES et al., 2008). A adubação de 15 kg ha⁻¹ no plantio não afetou o estabelecimento de nódulos em feijoeiro; porém, ao dobrar a dose, foi observado efeito inibitório (HUNGRIA et al., 2003). Ao avaliar apenas um genótipo de planta sob inoculação, adubação e pela nodulação das testemunhas absolutas, foi extrapolado que a inoculação com estirpes eficientes ou mesmo a nodulação por bactérias eficientes presentes no solo poderiam suprir totalmente o feijoeiro com nitrogênio via FBN (FERREIRA et al., 2000). No entanto, o observado neste trabalho demonstra que os genótipos comportam-se variavelmente em função de diversas condicionantes.

Tabela 57. Número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de um nódulo, de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.

Genótipo	Número de nódulos (planta ⁻¹)		Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)		Massa seca de um nódulo (mg nódulo ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	64 ab	67 ab	76,85 ab	81,38 abc	0,99 ab	1,26 abc
02. CNF 0011559	113 a	142 a	77,40 ab	181,89 ab	0,69 ab	1,25 abc
03. CNF 0011239	72 a	54 abc	134,85 a	96,39 ab	1,68 a	1,73 ab
04. PI 209491	72 a	68 ab	75,00 ab	72,05 abc	1,13 ab	1,83 ab
05. PI 387865	43 ab	69 ab	88,56 ab	113,19 ab	1,55 ab	1,65 ab
06. CNF 0011228	57 ab	60 ab	82,40 ab	105,33 ab	1,40 ab	1,81 ab
07. CNF 0011026	94 a	53 abc	116,76 a	41,59 bc	1,33 ab	0,58 bc
08. CNF 0011137	98 a	67 ab	99,12 a	107,29 ab	1,02 ab	1,60 ab
09. CNF 0011075	93 a	62 ab	161,48 a	140,39 ab	1,78 a	2,19 ab
10. CNF 0011095	54 ab	87 ab	63,45 ab	128,03 ab	1,14 ab	2,05 ab
11. CNF 0011240	92 a	86 ab	160,53 a	148,53 ab	1,73 a	1,99 ab
12. CNF 0011028	76 a	50 abc	111,38 a	73,26 abc	1,37 ab	1,40 abc
13. PI 325750	41 ab	28 bc	36,93 ab	36,28 bc	0,66 ab	1,12 abc
14. PI 313633	98 a	127 ab	98,47 ab	220,52 a*	0,83 ab	1,76 ab
15. CNF 0011086	67 a	37 abc	127,39 a	73,49 abc	1,75 a	1,52 abc
16. Pérola	65 a	38 abc	89,20 ab	109,11 ab	1,40 ab	3,03 a*
17. Ouro Negro	80 a	111 ab	126,73 a	186,85 ab	1,24 ab	1,68 ab
18. NORH	2 b	1 c	3,24 b	1,47 c	0,46 b	0,33 c
Média 54**	71	67	96,10	106,50	1,23	1,60*
CV (%)	34,57		36,73		32,22	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados

b) Biomassa

Para massa seca de parte aérea (MSPA), ocorreram efeito de blocos, dos genótipos e da interação entre os genótipos e as fontes de N (Tabela 58). O teor de N na parte aérea (NT) não foi diferente para nenhum dos fatores, enquanto que para o N acumulado na parte aérea (NAPA), foi observado efeito apenas dos genótipos (Tabela 58).

Tabela 58. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea, em plantas de feijoeiro na floração (estádio R6), coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014.

Fonte de Variação	GL	Massa seca de parte aérea	Teor de nitrogênio na parte aérea	Nitrogênio acumulado na parte aérea
Blocos	3	72,69*	29,78 ^{ns}	1,31 x 10 ^{5ns}
Fonte N (F)	1	4,13 ^{ns}	55,70 ^{ns}	7,94 x 10 ^{3ns}
Resíduo	3	6,37	24,30	1,63 x 10 ^{4ns}
Genótipos (G)	17	42,55**	33,70 ^{ns}	5,71 x 10 ^{4**}
Interação GxF	17	11,98*	21,99 ^{ns}	1,62 x 10 ^{4ns}
Resíduo	54	6,70	22,05	1,10 x 10 ⁴

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

O genótipo CNF 0011559 apresentou o maior valor de MSPA - 14,62 mg planta⁻¹, e foi também o que mais acumulou N, atingindo 555 mg planta⁻¹, quando adubado. A mesma relação foi observada para Ouro Negro e PI 325750, que apresentaram os menores valores de MSPA e os menores valores para NAPA (Tabela 59). No entanto, não houve semelhante relação para PI 387865, que, quando inoculado, acumulou mais N na parte aérea que os demais, sem ter a maior MSPA (Tabela 59). Tal situação demonstra indício de boa fixação, pois obteve mais N do que no tratamento adubado.

Apesar de não ter havido diferença estatística para MSPA, NT e NAPA, para o genótipo não nodulante NORH 54, entre a adubação nitrogenada e a não suplementação (Tabela 59), os valores absolutos diferem para todos os indicadores, refletindo numa produtividade de grãos quase 50% inferior sob inoculação (Tabela 61). No mesmo campo experimental, numa avaliação de índice de colheita para 64 genótipos, já havia sido relatada semelhante resposta para NORH 54, que, mesmo sob adubação com 25 kg N ha⁻¹ no plantio e 30 kg N ha⁻¹ em cobertura, obteve a menor produtividade de grãos entre os genótipos e um dos menores índices de colheita para N (ARAÚJO & TEIXEIRA, 2012). Foi sugerido para este resultado a baixa disponibilidade de N, seja por ausência de FBN ou por uma baixa mineralização da matéria orgânica (ARAÚJO & TEIXEIRA, 2012).

Sendo assim, destaca-se a importância da obtenção de genótipos que, sob inoculação, mesmo que a ocupação dos nódulos não tenha se dado prioritariamente pelas bactérias presentes no inoculante, apresentem bons valores de NAPA e produtividade, indicando boa resposta de associação simbiótica por parte da planta. Neste sentido, chama a atenção o genótipo andino PI 387865 que, sob inoculação, apresentou um acúmulo de N na parte aérea 20% superior do que quando foi adubado (Tabela 59). Essa relação é completamente distinta das verificadas nos demais experimentos, no Centro Oeste e Sul.

Neste mesmo campo experimental, já foi relatado desempenho destacado de genótipos andinos (ARAÚJO & TEIXEIRA, 2003), e sugerido pelos autores que a produtividade sofreu mais influência dos teores de P e N nas sementes do que pelo tamanho das sementes, maiores nos genótipos andinos.

O desempenho favorável de genótipos andinos nesta localidade, e conforme observado neste estudo, demonstra que a resposta obtida por um genótipo andino sob

inoculação pode sugerir algum tipo de sinergismo em favor da obtenção de N neste sistema, podendo inclusive ocorrer a participação de microrganismo mais específico para genótipos andinos do hospedeiro.

Tabela 59. Massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio na parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea em plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40+40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.

Genótipo	Massa seca de parte aérea (g planta ⁻¹)		Teor de nitrogênio na parte aérea (g kg ⁻¹)		Nitrogênio acumulado na parte aérea (mg planta ⁻¹)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	11,72 abc	9,56 abc	31,06 a	34,54 ab	367 abc	329 abc
02. CNF 0011559	14,62 a	10,06 abc*	36,43 a	36,33 ab	555 a	368 abc*
03. CNF 0011239	7,68 bcd	10,69 abc	34,82 a	31,92 ab	269 bc	344 abc
04. PI 209491	8,38 abcd	9,48 abc	37,05 a	33,53 ab	309 abc	310 abc
05. PI 387865	12,16 ab	10,67 abc	31,32 a	40,05 a*	376 abc	455 a
06. CNF 0011228	12,90 ab	10,47 abc	34,15 a	32,13 ab	442 ab	341 abc
07. CNF 0011026	8,22 abcd	11,47 a	36,91 a	35,47 ab	306 abc	409 ab
08. CNF 0011137	10,20 abcd	11,20 ab	34,06 a	32,62 ab	341 abc	366 abc
09. CNF 0011075	11,85 abc	9,49 abc	34,39 a	34,49 ab	399 abc	323 abc
10. CNF 0011095	6,60 bcd	7,92 abc	36,79 a	32,32 ab	239 bc	254 abc
11. CNF 0011240	6,98 bcd	7,49 abc	35,92 a	31,85 ab	250 bc	255 abc
12. CNF 0011028	5,72 cd	7,66 abc	35,94 a	36,59 ab	203 bc	306 abc
13. PI 325750	4,94 d	5,15 abc	29,35 a	26,29 b	146 c	139 c
14. PI 313633	6,88 bcd	5,06 bc	36,67 a	35,78 ab	254 bc	175 bc
15. CNF 0011086	8,22 abcd	6,12 abc	38,44 a	33,29 ab	315 abc	204 abc
16. Pérola	9,10 abcd	5,94 abc	34,39 a	34,69 ab	316 abc	206 abc
17. Ouro Negro	4,41 d	8,24 abc*	35,50 a	33,20 ab	160 c	389 abc
18. NORH 54**	6,71 bcd	4,52 c	34,67 a	30,38 ab	230 bc	140 c
Média	8,74	8,40	34,88	33,64	304	295
CV (%)	29,52		12,43		35,29	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

* Diferença significativa entre fontes de N pelo teste F ao nível de 5%.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

c) Produtividade

Houve efeito de fonte de N e de genótipo para as diferenças observadas para número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade (Tabela 60). Foi verificada, ainda, interação entre genótipos e fontes de N para massa de 100 grãos (Tabela 60).

Tabela 60. Análise de variância (valores de quadrado médio) dos dados de número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 sementes de plantas de feijoeiro, no final do estágio de maturação, coletadas em experimento de campo em Seropédica (RJ), em 2014.

Fonte de Variação	GL	Número de vagens por planta	Número de grãos por vagem	Massa de 100 grãos	Produtividade
Blocos	3	18,00 ^{ns}	0,09 ^{ns}	10,30*	1,42 x 10 ^{7**}
Fonte N (F)	1	135,04*	12,09*	30,14**	1,43 x 10 ^{7**}
Resíduo	51	6,75	0,38	0,74	3,12 x 10 ⁵
Genótipos (G)	17	33,85**	6,95**	581,35**	1,47 x 10 ^{7**}
Interação GxN	17	10,98 ^{ns}	0,82 ^{ns}	11,48*	3,58 x 10 ^{5ns}
Resíduo	54	5,97	0,67	5,18	3,50 x 10 ⁵

*, **, ***: Significativo aos níveis de 5, 1 e 0,1% pelo Teste F.

A comparação de médias demonstrou que os genótipos sob adubação produziram mais vagens por planta e mais grãos por vagem do que sob adubação (Tabela 61). Entre os

genótipos, CNF 0011239 foi o que mais produziu vagens quando adubado, enquanto Ouro Negro foi o que mais produziu vagens quando inoculado (Tabela 61). O genótipo CNF 0011240, por sua vez, apresentou maior produção de grãos por vagem tanto quando adubado quanto quando inoculado (Tabela 61).

Os três genótipos com maior massa de 100 grãos foram aqueles que possuem as maiores sementes, característico dos genótipos andinos (SINGH et al., 1991a), não sendo observada outra influência nas condições avaliadas. As sementes grandes não se traduzem necessariamente em maiores produtividades, podendo estar relacionadas com um vigor no desenvolvimento inicial das plantas (PERIN et al., 2002; ARAÚJO & TEIXEIRA, 2003).

Tabela 61. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos de plantas de feijoeiro no estágio de floração (R6), de 18 genótipos crescidos em campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.

Genótipo	Número de vagens por planta		Número de grãos por vagem		Massa de 100 grãos (g)	
	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação	Adubação	Inoculação
01. CNF 0011234	7,1 bc	5,1 ab	2,9 cd	2,7 cd	42,33 ab	42,13 a
02. CNF 0011559	5,4 c	4,5 b	3,6 bcd	4,1 abc	35,70 cd	32,12 cd*
03. CNF 0011239	15,7 a	11,0 ab*	5,0 abc	4,2 abc	20,64 ghi	19,35 hij
04. PI 209491	6,7 bc	5,7 ab	5,4 ab	4,3 abc	23,08 fghi	22,00 fghi
05. PI 387865	7,9 bc	7,7 ab	2,1 d	1,4 d	47,60 a	40,35 ab*
06. CNF 0011228	11,4 abc	8,2 ab	4,9 abc	3,6 abc*	18,78 i	15,80 j
07. CNF 0011026	12,1 abc	5,2 ab*	3,9 bcd	3,7 abc	19,58 hi	18,32 ji
08. CNF 0011137	11,7 abc	8,6 ab	3,2 cd	3,0 bcd	35,65 cd	35,35 bc
09. CNF 0011075	13,0 ab	7,5 ab*	4,8 abc	5,1 ab	26,82 ef	27,15 def
10. CNF 0011095	10,2 abc	7,0 ab	5,0 abc	3,8 abc	21,15 fghi	21,18 ghij
11. CNF 0011240	9,0 abc	6,0 ab	6,1 a	5,2 a	22,95 fghi	24,63 efg
12. CNF 0011028	8,1 bc	8,9 ab	3,2 cd	3,4 abc	26,43 efg	26,23 efg
13. PI 325750	7,3 bc	6,8 ab	4,5 abc	2,9 cd*	33,05 cd	34,58 bc
14. PI 313633	7,8 bc	6,1 ab	3,6 bcd	3,5 abc	37,74 bc	41,30 a*
15. CNF 0011086	9,2 abc	6,7 ab	5,4 ab	5,0 ab	18,73 i	18,08 ij
16. Pérola	6,0 c	6,4 ab	4,6 abc	4,3 abc	29,85 de	28,42 de
17. Ouro Negro	9,0 abc	11,4 a	4,7 abc	3,2 abcd*	25,20 efg	25,48 efg
18. NORH 54**	6,2 c	6,0 ab	4,4 abc	3,2 abcd*	21,95 fghi	18,28 ij*
Média	9,1	7,2*	4,3	3,7*	28,17	27,26*
CV (%)	32,93		20,28		8,39	

Médias seguidas pela mesma letra (maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas) não diferem ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

** NORH 54 Não recebeu fonte de N nas parcelas dos blocos inoculados.

O genótipo CNF 0011028 foi o único genótipo testado que alcançou maior produtividade quando inoculado, ao invés de adubado, com sua produtividade relativa alcançando 115 % (Tabela 62). O outro genótipo que obteve produtividade relativa acima de 100% foi a cultivar Pérola (Tabela 62). A melhor produtividade relativa abaixo de 100% foi 81%, alcançada pelos genótipos CNF 0011559 e PI 313633 (Tabela 62).

A produtividade média dos genótipos que receberam adubação foi 2201 kg ha⁻¹, variando entre 1452 kg ha⁻¹ e 3285 kg ha⁻¹, enquanto a média dos genótipos inoculados foi 1570 kg ha⁻¹, variando entre 961 e 2423 kg ha⁻¹ (Tabela 62); além do genótipo não fixador NORH 54, cuja produtividade foi 758 kg ha⁻¹ (Tabela 62).

O genótipo mais produtivo nas duas fontes de N foi Ouro Negro, com 2423 kg ha⁻¹ sob adubação e 2239 kg ha⁻¹ sob inoculação. No entanto, sua produtividade relativa foi de 79% (Tabela 62). Embora Ouro Negro seja considerada boa fixadora (HENSON et al., 1993; STRALIOTTO et al., 2002), neste experimento, a resposta à adubação foi muito eficiente.

Apesar de não ter alcançado a mesma produtividade de quando adubado, o genótipo foi o mais produtivo sob inoculação, o que pode sugerir sinergismo entre as bactérias do solo e a adubação, como verificado por Pelegrin et al. (2009), já que os parâmetros de nodulação não se diferenciaram muito entre os tratamentos. Para a cultivar Ouro Negro, já foi relatado semelhante sinergismo entre a adubação e a inoculação, sendo que essa combinação foi mais eficiente se comparada ao processo apenas com adubação ou inoculação isolados (BARROS et al., 2013).

Apesar de PI 387865 ter apresentado um acúmulo significativamente maior de N na parte aérea quando inoculado (Tabela 59), isso não se refletiu em produtividade. Ao contrário, embora estatisticamente igual, representou uma produtividade relativa de 63,82% (Tabela 62). Tal fato foi reflexo de uma menor massa de 100 grãos verificada no tratamento inoculado, além de um menor número de vagem por planta (Tabela 59). Ainda que o componente vagem por planta geralmente seja mais relacionado com a produção de grãos (RAMALHO et al., 1993), este manteve-se o mesmo. A variação na produtividade de grãos em feijoeiro foi associada ao acúmulo de N e P na maturação e às variações nos teores destes elementos nas sementes (ARAÚJO & TEIXEIRA, 2003). No entanto, o problema pode estar mais relacionado com a baixa atividade do dreno do que com a fonte do nutriente (LONG et al., 2006).

O genótipo não fixador NORH 54 que não recebeu fonte de N (plantado nos blocos correspondentes ao tratamento inoculado) apresentou 50% da produtividade de quando recebeu adubação. Se for feita uma extrapolação para os demais genótipos, podemos considerar 50% do suprimento proveniente do solo. Logo, qualquer percentual acima de 50% de produtividade relativa poderia sugerir o percentual de fixação, numa estimativa aproximada.

Tabela 62. Produtividade de grãos de 18 genótipos de feijoeiro crescidos no campo, sob adubação nitrogenada (40 + 40 kg N ha⁻¹) e inoculação com rizóbios, em Seropédica (RJ), em 2014.

Genótipo	Produtividade (kg ha ⁻¹)		Produtividade relativa
	Adubação	Inoculação	%
01. CNF 0011234	1906 abc	1501 abc	78,77
02. CNF 0011559	1828 bc	1492 abc	81,60
03. CNF 0011239	2729 abc	1835 abc*	67,24
04. PI 209491	1973 abc	1528 abc	77,43
05. PI 387865	1864 abc	1190 abc	63,82
06. CNF 0011228	2509 abc	1207 abc*	48,10
07. CNF 0011026	1630 bc	961 bc	58,95
08. CNF 0011137	2475 abc	1839 abc	74,32
09. CNF 0011075	3285 a	1907 abc*	58,05
10. CNF 0011095	2475 abc	1269 abc*	51,26
11. CNF 0011240	2235 abc	1477 abc	66,08
12. CNF 0011028	1488 c	1720 abc	115,59
13. PI 325750	2374 abc	1611 abc	67,88
14. PI 313633	2532 abc	2051 abc	81,01
15. CNF 0011086	1737 bc	1254 abc	72,23
16. Pérola	2073 abc	2239 ab	107,97
17. Ouro Negro	3047 ab	2423 a	79,52
18. NORH 54**	1452 c	758 c	52,17
Média	2201	1570*	
CV (%)	29,67		

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem ao nível de 5% (Tukey).

*Diferença significativa entre fontes de N pelo Teste F ao nível de 5%.

△ Percentual de produtividade dos genótipos inoculados em relação aos adubados.

** NORH 54 Não recebeu inoculação nem N-mineral nas parcelas dos blocos inoculados.

4.6. CONCLUSÕES

Todos os genótipos estudados apresentaram nodulação, inclusive quando receberam N-mineral.

A técnica de abundância natural de ^{15}N demonstrou que os genótipos mesoamericanos apresentaram maior contribuição da fixação do N_2 se comparados aos genótipos andinos, destacando-se, entre os mesoamericanos, CNF 0011228 e CNF 0011086; e entre os andinos, CNF 0011234 e CNF 0011559.

O genótipo mesoamericano CNF 0011137 apresentou nódulos grandes em todos os experimentos avaliados.

Os genótipos andinos mais eficientes na avaliação de nodulação e na obtenção de N via fixação biológica foram CNF 0011234, CNF 0011028, CNF 0011559, PI 387865.

Os genótipos mesoamericanos mais eficientes na avaliação de nodulação e na obtenção de N via fixação biológica foram CNF 0011075, CNF 0011137, CNF 0011240 e PI 325750.

Em todas as avaliações, os teores de N-ureído foram maiores nas plantas inoculadas em relação às que receberam N-mineral. Os maiores níveis de diferença foram observados no experimento de verão, e os menores no inverno de 2013.

As diferenças verificadas para os aspectos fotossintéticos tiveram influência ambiental e das fontes de N, sem ter havido influência dos genótipos.

Apesar da variação observada entre os valores de produtividade, os percentuais de produtividade relativa - que é o percentual produzido sob inoculação em relação ao produzido sob adubação - do genótipo andino CNF 0011559 foram equivalentes em três experimentos.

As produtividades dos genótipos avaliados se apresentaram, na maioria das vezes, similares às obtidas pelas cultivares comerciais, tanto sob N-mineral quanto sob inoculação.

As diferenças mais pronunciadas entre as produtividades dos genótipos avaliados e das cultivares comerciais foram detectadas no experimento de Santo Antônio de Goiás, no inverno de 2013, enquanto as maiores semelhanças foram observadas no experimento realizado no inverno de 2014, na mesma localidade.

Em todos os ensaios, houve diferença estatística entre duas fontes de N, na média geral de produtividade. Entretanto, avaliando os genótipos individualmente, não foi verificada diferença estatística entre as produtividades das duas fontes de N, para a maioria deles. Apesar dessa constatação, para a busca de genitores, as diferenças percentuais verificadas entre as fontes de N, para cada genótipo, devem ser consideradas, por terem influência no resultado comercial dos produtores.

Os resultados apresentados em campo demonstraram que grande parte dos genótipos avaliados têm potencial para serem utilizados como progenitores de cultivares comerciais, eficientes em obter N a partir do processo de fixação biológica.

5. CONCLUSÕES GERAIS

A grande variabilidade nos indicadores de nodulação verificada em casa de vegetação, bem como a observada para os aspectos estudados a campo, entre os materiais avaliados, evidenciam o potencial das coleções avaliadas em fornecer materiais propensos a serem utilizados como progenitores no melhoramento do feijoeiro visando ao desenvolvimento de variedades eficientes na relação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio.

Dentre os materiais avaliados foi possível destacar genótipos andinos e mesoamericanos eficientes na obtenção de nitrogênio via fixação biológica.

Os genótipos mesoamericanos apresentaram maior capacidade de obtenção de nitrogênio via simbiose com as estirpes de rizóbios comerciais do que os genótipos andinos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nodulação dos genótipos, mesmo aqueles sob adubação nitrogenada, indica que o avanço mais próximo de ser alcançado para a FBN de feijoeiro reside no estabelecimento de parâmetros sinérgicos da quantidade de N mineral, que pode ser aplicada em combinação com inoculação para o alcance da produtividade máxima potencial de um determinado genótipo. Trabalhos com cultivares comerciais, ou futuros lançamentos, que busquem uma faixa adequada de aplicação de N em diferentes ambientes, permitirão, num curto espaço de tempo, o alcance de recomendações combinadas com a inoculação das sementes com estirpes eficientes de rizóbio.

Mais avanços devem ser obtidos no conhecimento das relações fisiológicas da planta de feijão em interação com bactérias diazotróficas. Nesse sentido, estudos da simbiose onde a variável seja a unidade planta possam prover informações a respeito dos comportamentos intrínsecos dos indivíduos, permitindo, assim, identificar indivíduos que superexpressem a capacidade de interagir e obter N via FBN.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGEHARA, S.; WARNCKE, D. D. Soil moisture and temperature effects on nitrogen release from organic nitrogen sources. **Soil Science Society of America Journal**. Madison, v. 69, p. 1844-1855, 2005.
- AGUILAR, O. M.; RIVA O.; PELTZER, E. Analysis of *Rhizobium etli* and its symbiosis with wild *Phaseolus vulgaris* supports coevolution in centers of host diversification. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 101, n. 37, p. 13548-13553, 2004.
- AL-ANI, R. A.; ADHAB, M. A. Bean yellow mosaic vírus (BYMV) on broadbean: characterization and resistance induced by *Rhizobium leguminosarum*. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 135-142, 2013.
- ALMEIDA, A. Q. de; SORATTO, R. P.; BROETTO, F.; CATANEO, A. C. Nodulação, aspectos bioquímicos, crescimento e produtividade do feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 77-88, 2014.
- ALTAMIRANO-HERNANDEZ, J.; LOPEZ, M. G.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A.; FARIAS-RODRIGUEZ, R.; PEÑA-CABRIALES, J. J. Influence of soluble sugars on seed quality in nodulated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): the case of trehalose. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 1193-1205, 2007.
- ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L.; JANTALIA, C. P.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e nitrogênio no sistema solo planta**. In: AQUINO, A. M. & ASSIS, R. L. (orgs.) *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 343-368.
- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematical Bacteriology**, Washington, v. 47, n. 4, p. 996-1006, 1997.
- ANDRADE, D. S.; MURPHY PJ; GILLER K. E. The diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations in altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 8, p. 4025-4034, 2002.
- ANGIOI, S. A.; RAU, D.; ATTENE, G.; NANNI, L.; BELLUCCI, E.; LOGOZZO, G.; NEGRI, V.; SPAGNOLETTI ZEULI, P. L.; PAPA, R. Beans in Europe: origin and structure of the European landraces of *Phaseolus vulgaris* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p. 829-843, 2010.
- ANGIOI, S. A.; RAU, D.; NANNI, L.; BELLUCCI, E.; PAPA, R.; ATTENE, G. The genetic make-up of the European landraces of the common bean. **Plant Genetic Resources**, v. 9, n. 2, p. 197, 2011.

ARAÚJO, F. F. de; 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, A. P.; TEIXEIRA, M. G.; ALMEIDA, D. L. Phosphorus efficiency of wild and cultivated genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under biological nitrogen fixation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 951-957, 1997.

ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G.; ALMEIDA, D. L. **Variability of traits associated with phosphorus efficiency in wild and cultivated genotypes of common bean.** **Plant and Soil**, Dordrech, v. 203, n. 2, p. 173-182, 1998.

ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Nitrogen and phosphorus harvest indices of common bean cultivars: implications for yield quantity and quality. **Plant and Soil**, Dordrech, v. 257, n. 2, p. 425-433, 2003.

ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Variabilidade dos índices de colheita de nutrientes em genótipos de feijoeiro e sua relação com a produção de grãos. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 137-146, 2012.

ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F.; SÁ, M. E. de; BUZETTI, S.; NASCIMENTO, V. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 131-138, 2004.

ASFAW, A.; BLAIR, M. W.; ALMEKINDERS, C. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 120, p. 1-12, 2009.

ANPII. ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES. **Estatística**. Disponível em: <http://www.anpii.org.br>. Acesso em: 23 jun 2011.

ATKINS, C. A.; SMITH, P. M. Translocation in legumes: assimilates, nutrients, and signaling molecules. **Plant Physiology**, v. 144, p. 550-561, 2007.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5-6, p. 911-922, 1997.

BARRAZA, A.; ESTRADA-NAVARRETE, G.; RODRIGUEZ-ALEGRIA, M. E.; LOPEZ-MUNGUÍA, A.; MERINO, E.; QUINTO, C.; SANCHEZ, F. Down-regulation of *PvTREL* enhances nodule biomass and bacteroid number in the common bean. **New Phytologist**, v. 197, n. 1, p. 194-206, 2013.

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

BEAVER, J. S.; OSORNO, J. M. Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. **Euphytica**, Dordrecht, v. 168, n. 2, p. 145-175, 2009.

BEEBE, S.; SKROCH, P. W.; TOHMÉ, J.; DUQUE, M. C.; PEDRAZA, F.; NIENHUIS, J. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. **Crop Science**, v. 40, p. 264-273, 2000.

BEEBE, S.; RENGIFO, J.; GAITAN, E.; DUQUE, M. C.; TOHME, J. Diversity and origin of Andean landraces of common bean. **Crop Science**, v. 41, p. 854-862, 2001.

BELLENGER, J. P.; WICHARD T.; XU, Y.; KRAEPIEL, A. M. L. Essential metals for nitrogen fixation in a free-living N₂ fixing bacterium: cheletion, homeostasis and high use efficiency. **Environmental Microbiology**, Sherbrooke, v. 13, n. 6, p. 1395-1411, 2011.

BERGLUND-BRÜCHER, O.; BRÜCHER, H. The South American wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk.) as ancestor of the common bean. **Economic Botany**, v. 30, p. 257-272, 1976.

BERNAL, G.; GRAHAM, P. H. Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 47, n. 6, p. 526-534, 2001.

BINOTTI, F. F. S.; ARF, O.; CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Manejo do nitrogênio em cobertura do feijoeiro de inverno no sistema plantio direto. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 1, n. 1, p. 58-64, 2014.

BITOCCHI, E.; NANNI, L.; BELLUCCI, E.; ROSSI, M.; GIARDINI, A.; ZEULI, P. S.; LOGOZZO, G.; STOUGAARD, J.; McCLEAN, P.; ATTENCE, G.; PAPA, R. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 14, p. E788-E796, 2012.

BITOCCHI, E.; BELLUCCI, E.; GIARDINI, A.; RAU, D.; RODRIGUEZ, M.; BIAGETTI, E.; SANTILOCCHI, R.; ZEULI, P. S.; GIOIA, T.; LOGOZZO, G.; ATTENE, G.; NANNI, L.; PAPA, R. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mesoamerica and the Andes. **New Phytologist**, v. 197, p. 300-313, 2013.

BLAIR, M. W.; GIRALDO, M. C.; BUENDIA, H. F.; TOVAR, E.; DUQUE, M. C.; BEEBE, S. E. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 113, p. 100-109, 2006.

BLAIR, M. W.; DÍAZ, L. M.; BUENDÍA, H. F.; DUQUE, M. C. Genetic diversity seed size association and population structure of a core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, p. 955-972, 2009.

BLAIR, M. W.; GONZÁLEZ, L. F.; KIMANI, P. M.; BUTARE, L. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p. 237-248, 2010.

- BLAIR, M. W.; SOLER, A., CORTÉS, A. J. Diversification and population structure in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **PLOS One**, v. 7, n. 11, art. n. e49488, p. 1-12, 2012a.
- BLAIR, M. W.; DÁVILA, A. M.; REYES, X.; ÁVILA, T. Genetic diversity of Bolivian accessions of *Phaseolus* species evaluated with fluorescent microsatellite markers. **Crop Science**, v. 52, p. 2619-2627, 2012b.
- BLISS, F. A. Utilizing the potential for increased nitrogen fixation in common bean. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, p. 157-160, 1993.
- BODDEY, R. M.; MULLER, S. H.; ALVES, B. J. R. Estimation of the contribution of biological N₂ fixation to two *Phaseolus vulgaris* genotypes using simulation of plant nitrogen uptake from ¹⁵N-labelled soil. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v. 45, n.3, p. 169-185, 1996.
- 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 caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 206-215, 2011.
- BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 55, n. 1, p. 55-128, 2003.
- BURLE, M. L.; FONSECA, J. R.; KAMI, J. A.; GEPTS, P. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p. 801-813, 2010.
- 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.
- CAMARANO, A. A.; ABRAMOVAY, R. **Êxodo rural, envelhecimento e masculinização no Brasil: panorama dos últimos 50 anos**. Rio de Janeiro: Ed. Ipea, 1999. 23 p. (Textos para discussão/ IPEA, ISSN 1415-4765)
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (eds.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: SBCS, 2007, p. 375-470.
- CARVALHO, E.A. **Avaliação agrônômica da disponibilização de nitrogênio à cultura de feijão sob sistema de semeadura direta**. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2002. 80pp.
- CARVALHO, M. A. C.; ARF, O.; SÁ, M. O. BUZETTI, S. SANTOS, N. C. B.; BASSAN, D. A. Z. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 617-624, 2001.
- CHACÓN, M. I.; PICKERSGILL, S. B.; DEBOUCK, D. G. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, p. 432-444, 2005.

CIAT. **Programa de recursos genéticos – colección de frijol**. Disponível em: <<http://isa.ciat.cgiar.org/urg/beancollection.do>>. Acesso em: 11 jan 2013.

CHAGAS, E.; ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R.; TEIXEIRA, M. G. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by ¹⁵N isotope dilution. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1093-1101, 2010.

COELHO, R. C.; FARIA, M. A.; ROCHA, J.; REIS, A.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; NUNES, E. Assessing genetic variability in germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. collected in Northern Portugal. **Scientia Horticulturae**, v. 122, p. 333-338, 2009.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos 2014/2015, terceiro levantamento**. Brasília: Conab, 2014, 100, 100 p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_12_10_08_51_33_boletim_graos_dezembro_2014.pdf>. Acesso em: 08 jan 2015.

CRAMER, M. D.; HAWKINS, H. D.; VERBOOM, G. A. The importance of nutritional regulation of plant water flux. **Oecologia**, v. 106, n. 1, p. 15-24, 2009.

COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental designs**. 2ed. New York: Wiley, 1957. 617p. ISBN 471-16204-3.

DALL'AGNOL, R. F.; RIBEIRO, R. A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; ROGEL, M. A.; DELAMUTA, J. R. M.; ANDRADE, D. S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. *Rhizobium freirei* sp. nov., a symbiont of *Phaseolus vulgaris* that is very effective at fixing nitrogen. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n. 63, p. 4167-4173, 2013.

DEBOUCK, D. G. Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas: three centers? **Plant Genetic Resources Newsletter**, Roma, v. 67, p. 2-8, 1986.

DE RON, A. M.; RODIÑO, A. P.; DE LA FUENTE, M.; SANTALLA, M. **L'Europe, un centre de diversification secondaire du haricot**. En: JACOBSEN, A. (Direction) Du fayor au mangetout. L'histoire du haricot sans en perdre le fil, 30-33. Éditions du Rouergue. Rodex, France, 2010. (Versão em Inglês: Europe: a secondary centre of bean diversification).

DÍAZ-LEAL, J. L.; GÁLVEZ-VALDIVIESO, G.; FERNÁNDEZ, J.; PINEDA, M.; ALAMILLO, J. Developmental effects on ureide levels are mediated by tissue-specific regulation of allantoinase in *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 22, p. 4095-4106, 2012.

DIDONET, A. D.; SANT'ANNA, R.; BORGES, A. C.; CAMBRAIA, J. Disponibilidade de ureídeos durante o desenvolvimento da vagem de soja inoculada com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 1, n. 1, p. 87-91, 1989.

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

DURÁN, L. A.; BLAIR, M. W.; GIRALDO, M. C.; MACCHIAVELLI, R.; PROPHETE, E.; NIN, J. C.; BEAVER, J. S. Morphological and molecular characterization of common bean landraces and cultivars from the Caribbean. **Crop Science**, v. 45, p. 1320-1328, 2005.

DUTTA, S.; MORANG, P.; KUMAR, S. N.; KUMAR, B. S. D. Two rhizobacterial strains, individually and in interactions with *Rhizobium* sp., enhance fusarial wilt control, growth, and yield in pigeon peas. **Journal of Microbiology**, Kangnam-ku, v. 56, n. 9, p. 778-784, 2014.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2^a ed. rev. atual. - Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS; Documentos, 1)

FAGERIA, N. K.; FERREIRA, E. P. B.; MELO, L. C.; KNUPP, A. M. Genotypic differences in dry bean yield and yield components as influenced by nitrogen fertilization and rhizobia. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 45, p. 1583-1604, 2014.

FAO. **The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture**. Rome: 2010, 371p.

FAO. **Faostat**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> Acesso em: 04 de setembro de 2013.

FERGUSON, B. J.; MATHESIUS, U. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions. **Journal of Chemical Ecology**, Dordrecht, v. 40, n. 7, p. 770-790, 2014.

FERNÁNDEZ-LUQUEÑO, F.; DENDOOVEN, L.; CORLAY-CHEE, L.; SERRANO-COVARRUBIAS, L. M.; ESPINOSA-VICTORIA, D. Micro-morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodules undergoing senescence. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 30, n. 4, p. 545-552, 2008.

FERNÁNDES, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol común** (*Phaseolus vulgaris* L.). Cali. Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1986. 34p.

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

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

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

FERREIRA, E.P.de B.; BARBOSA, L.H.A.; KNUPP, A.M.; MATA, W.M.; WENDLAND, A.; DIDONET, A.D.; MELO, L.C.; DEL PELOSO, M.J. Identification of high nodulation efficiency among wild genotypes of common beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 170-171, 2010.

- FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; PARTELLI, F. L.; DIDONET, A. D. Produtividade do feijoeiro comum influenciada por plantas de cobertura e sistemas de manejo do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 7, p. 695-701, 2011.
- FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S. M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1145-1150, 2002.
- FREITAS, F. O. Evidências genético-arqueológicas sobre a origem do feijão comum no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, n. 41, n. 7, p. 1199-1203, 2006.
- GAUT, B. S. The complex domestication history of the common bean. **Nature Genetics**, v. 46, n. 7, p. 663-664, 2014.
- GENNARO, L. A.; SOUZA, Z. M. de; WEILL, M. A. M.; SOUZA, G. S.; ALVES, M. C. Soil physical and microbiological attributes cultivated with the common bean under two management systems. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 45, n. 4, p. 641-649, 2014.
- GENTRY, H. S. Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Economic Botany**, v. 23, p. 55-69, 1969.
- GEPTS, P. Who owns biodiversity, and how should the owners be compensated? **Plant Physiology**, v. 134, p. 1295-1307, 2004.
- GEPTS, P.; OSBORN, T. C.; RASHKA, K.; BLISS, F. A. Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. **Economic Botany**, v. 40, p. 451-468, 1986.
- GEPTS, P.; BLISS, F. A. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. **Economic Botany**, v. 40, p. 469-478, 1986.
- GEPTS, P.; BLISS, F. A. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II. Europe and Africa. **Economic Botany**, v. 42, n. 1, p. 86-104, 1988.
- GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Origin, domestication, and evolution of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. In: VOYSEST, O., VAN SCHOONHOVEN, A. (eds.), **Common beans: research for crop improvement**. CAB, Oxon, UK: 1991, p. 7-53.
- GEPTS, P. A Middle American and an Andean common bean gene pool. In: P. Gepts (ed.), **Genetic Resources of Phaseolus Beans**. Kluwer Academic Publishers, 1988, p. 375-390.
- GEPTS, P.; KMIĘCIK, K.; PEREIRA, P.; BLISS, F. A. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. I. The Americas. **Economic Botany**, v. 42, n. 1, p. 73-85, 1988.
- GEPTS, P. Origin and evolution of common bean: past events and recent trends. **HortScience**, v. 33, n. 7, p. 1124-1130, 1998.

GIONGO, A.; PASSAGLIA, L. M. P.; FREIRE, J. R. J.; de SÁ, E. L.S. Genetic diversity and symbiotic efficiency of population of rhizobia of *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 43, n. 5, p. 593-598, 2007.

GONZÁLEZ, T. O.; CAMPANHARO, J. C.; LEMOS, E. G. M. Genetic characterization and nitrogen fixation capacity of Rhizobium strains on common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1177-1184, 2008.

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

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p. 93-106, 2000.

GRAHAM, P. H.; ROSAS, J. C.; ESTEVEZ de JENSEN, C.; PERALTA, E.; TLUSTY, B.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PEREIRA, P. A. A. Addressing edaphic constraints to bean production: the Bean/Cowpea CRSP project in perspective. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 82, n. 2-3, p. 179-192, 2003.

GRANGE, L.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia in two Brazilian ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 9, p. 1389-1398, 2004.

GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P. H.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 4, p. 867-876, 2007.

HANNAH, M. A.; IQBAL, M. J.; SANDERS, F. E. The DL gene system in common bean: a possible mechanism for control of root-shoot partitioning. **New Phytologist**, v. 147, n. 3, p. 487-496, 2000.

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

HARDARSON, G.; BLISS, F.A.; CIGALES-RIVERO, M.R.; HENSON, R.A.; KIPE-NOLT, J.A.; LONGERI, L.; MANRIQUE, A.; PEÑA-CABRIALES, J.J.; PEREIRA, P.A.A.; SANABRIA, C.A.; TSAI, S.M. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, n. 1, p. 59-70, 1993.

HARDARSON, G.; ZAPATA, F., DANSO, S. K. A. Dinitrogen fixation measurements alfafa-ryegrass swards usin nitrogen-15 and influence of the reference crop. **Crop Science**, v. 28, n. 1, p. 101-105, 1988.

HARLAN, J. R. **Agricultural origins**: centers and noncenters. *Science*, v. 174, p. 468-474, 1971.

HARLAN, J. R. Geographic patterns of variation in some cultivated plants. **The Journal of Heredity**, v. 66, p. 184-191, 1975.

HENSON, R.A.; PEREIRA; P.A.A.; CARNEIRO; J.E.S.; BLISS, F.A. Registration of “Ouro Negro”, a high dinitrogen-fixing, high-yielding common bean. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 3, p. 644, 1993.

HERRIDGE, D. F.; TURPIN, J. E.; ROBERTSON, M. J. Improving nitrogen fixation of crop legumes through breeding and agronomic management: analysis with simulation modeling. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood Victoria, v. 41, n. 3, p. 391-401, 2001.

HILLER, R.; NISHINO, T.; BITTNER, F. Molybdenum enzymes in higher organisms. **Coordination Chemistry Reviews**, Riverside, v. 255, n. 9-10, p. 1179 – 1205, 2011.

HUNGRIA, M.; FRANCO, A. A.; SPRENT, J. I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 149, n. 1, p. 103-109, 1993.

HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S., ed. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa - SPI, 1994, 542 p.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A.T.; ARAÚJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T. & HUNGRIA, M. (ed.). **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997, 524p.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MANERO, J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 11-12, p. 1515 – 1528, 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2-3, p. 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 39, n. 2, p. 88-93, 2003.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Agricultura Familiar – Primeiros Resultados**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 265p. (Censo Agropecuário, ISSN 0103-6157). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/agri_familiar_2006/familia_censoagro2006.pdf. Acesso em: 20 jun 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. 443p. (Estudos e Pesquisas - Informação Geográfica, ISSN 1517-1450; 7). Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencia/recursosnaturais/ids/ids2010.pdf>. Acesso em: 07 jul 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 02, p.1-88, 2012. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201202.pdf. Acesso em: 10 ago 2012.

JORDAN, D. C. **Rhizobiacea Conn 1938**. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore/London: Williams E Wilkins, 1984, p. 235-244.

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CAMPO, R. J. Diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 32, n.2, p. 210-220, 2006.

KASCHUK, G.; KUYPER, T. W.; LEFFELAAR, P. A.; HUNGRIA, M.; GILLER, K. E. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1233-1244, 2009.

KAMI, J.; BECERRA-VELASQUES; DEBOUCK, D. G.; GEPTS, P. Identification of presumed ancestral DNA sequences of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 92, n. 4, p.1101-1104, 1995.

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

KAPLAN, L. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (beans). **Economic Botany**, v. 19, n. 4, p. 358-368, 1965.

KAPLAN, L. What is the origin of the common bean? **Economic Botany**, v. 35, p. 240-254, 1981.

KAPLAN, L.; LYNCH, T. F.; SMITH JR.; C. E. Early cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*) from an intermontane Peruvian Valley. **Science**, v. 179, p. 76-77, 1973.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**, 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 452p.

KING, C. A.; PURCELL, L. C. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiology**, v. 137, p. 1389-1396, 2005.

KOENIG, R.; GEPTS, P. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 78, p. 809-817, 1989.

KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, p. 979-992, 2009.

KWAK, M.; KAMI, J. A.; GEPTS, P. The putative Mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago Basin of Mexico. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 544-563, 2009.

LEIDI, E. O.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D. N. Nitrogen and phosphorus availability limit N-2 fixation in bean. **New Phytologist**, v. 147, n. 2, p. 337-346, 2000.

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

LÓPEZ, M.; TEJERA, N. A.; IRIBARNE, C.; LLUCH, C.; HERRERA-CERVERA, J. A. Trehalose and trehalase in root nodules of *Medicago truncatula* and *Phaseolus vulgaris* in response to salt stress. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 134, p. 575-582, 2008.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa ABC**. <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/programa-abc>. Acesso em: 27 jun 2011.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. 2ª ed. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997, 319p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ª ed. San Diego: Academic Press, 1995, 889p.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.; GRAHAM, P. H.; PARDO, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal of Systematical Bacteriology**, Washington, v. 41, n. 3, p. 417-426, 1991.

MARTÍNEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 11-23, 2003.

MATIMATI, I.; VERBOOM, G. A.; CRAMER, M. D. Nitrogen regulation of transpiration controls mass-flow acquisition of nutrients. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 1, p. 159-168, 2014.

MAZZIOTTA, L.; REYNOSO, M. A.; AGUILAR, O. M.; BLANCO, F. A.; ZANETTI, M. E. Transcriptional and functional variation of NF-YC1 in genetically diverse accessions of *Phaseolus vulgaris* during the symbiotic association with *Rhizobium etli*. **Plant Biology**, Hoboken, v. 5, n. 5, p. 808-818, 2013.

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.

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

MERCANTE, F. M.; CUNHA, C. O.; STRALIOTTO, R.; RIBEIRO-JÚNIOR, W. Q.; VANDERLEYDEN, J.; FRANCO, A. A. *Leucaena leucocephala* as a trap-host for *Rhizobium tropici* strain from the Brazilian cerrado region. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 49-58, 1998.

MERCANTE, F. M.; TEIXEIRA, M. G.; ABOUD, A. C.S.; FRANCO, A. A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. **Revista Universidade Rural**, série ciência da vida, n. 21, v. 1-2, p. 127-146, 1999.

MOREIRA, G. B.; PEGORARO, R. F.; VIEIRA, N. M. B.; BORGES, I.; KONDO, M. K. Desempenho agrônômico do feijoeiro com doses de nitrogênio em semeadura e cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 8, p. 818-823, 2013.

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

MORETO, A. L.; RAMALHO, M. A. P.; BRUZI, A. T. Epistasis in an *Andea* x Mesoamerican cross of common bean. **Euphytica**, v. 186, p. 755-760, 2012.

MORAES, W. B.; FILHO, S. M.; GARCIA, G. de O.; CAETANO, S. de P.; MORAES, W. B.; COSMI, F. C. Avaliação da fixação biológica do nitrogênio em genótipos de feijoeiros tolerantes a seca. **Idesia**, v. 28, n. 1, p. 61-68, 2010.

MONTANEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 45, n. 3, p. 253-263, 2009.

MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F. L.; DIAS, B. G.; VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 121 -132, 2002.

MÜLLER, S. H.; PEREIRA, P. A. A. Nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by mineral nitrogen supply at different growth stages. **Plant and Soil**, v. 177, p. 55-61, 1995.

NANNI, L.; BITOCCHI, E.; BELLUCCI, E.; ROSSI, M.; RAU, D.; ATTENE, G.; GEPTS, P.; PAPA, R. Nucleotide diversity of a genomic sequence similar to *Shatterproof* (*PvSHP1*) in domesticated and wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 123, p. 1341-1357, 2011.

NORRIS, O. D. **Some concepts and methods in sub tropical pasture research**. Maidenhead: Common wealth Bureal of Pasture and Field Crops, 1964. 65p. (Bulletin, 47)

OLIVEIRA, A. D. de; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. de J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, vol. 25, n. 1, p. 86-95, 2005.

OLIVEIRA, F. H. T.; NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; CANTARUTTI, R. B.; BARROS, N. F. Fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M., eds. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002, v. 2, p 393-486.

OLIVEIRA, J. P.; GALLI-TERASAWA, L. V.; ENKE, C. G.; CORDEIRO, V. K.; ARMSTRONG, L. C. T.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of rhizobia in Brazilian oxisol nodulating Mesoamerican and Andean genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 27, n. 3, p.643-650, 2011.

OMAR, M. A.; ABDEL HAKIM, A. M.; El HADY, M. M. Stability parameters for faba bean genotypes as criteria for response to environmental conditions. **Annals of Agricultural Science**, v. 44, n. 1, p. 173–188, 1999.

ORMEÑO-ORRILLO, E.; MENNA, P.; ALMEIDA, L. G. P.; OLLERO, F. J.; NICOLÁS, M. F.; RODRIGUES, E. P.; NAKATANI, A. S.; BATISTA, J. S. S.; CHUEIRE, L. M. O.; SOUZA, R. C.; VASCONCELOS, A. T. R.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Genomic basis of broad host range and environmental adaptability of *Rhizobium tropici* CIAT 899 and *Rhizobium* sp. PRF 81 which are used in inoculants for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Genomics**, v. 13, n. 735, p. 1-26, 2012.

ORMEÑO-ORRILLO, E., MARTÍNEZ-ROMERO, E. Phenotypic tests in *Rhizobium* species description: An opinion and (a sympatric speciation) hypothesis. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 36, p. 145–147, 2013.

OTSUBO, A. A.; BRITO, O. R.; MERCANTE, F. M. Productivity and nodulation of promising lineages of the Carioca bean group inoculated with *Rhizobium tropici* or supplemented with nitrogen fertilizer. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2763-2776, 2013.

PACHECO, R. S. **Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijoeiro estimada pela abundância natural de ¹⁵N**. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014, 173p.

PACHECO, R. S.; BRITO, L. F.; STRALIOTTO, R.; PÉREZ, D. V.; ARAÚJO, A. P. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum as a strategy for improving grain yield of common bean crop. **Field Crops Research**, v. 136, p. 97-106, 2012.

PAIVA, A. S.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D.; TURCO, J.E.P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 161-169, 2005.

PAPA, R.; GEPTS, P. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 239-250, 2003.

PATE, J. S.; ATKINS, C. A.; WHITE, S. T.; RAINBIRD, R. M.; WOO, K. C. Nitrogen nutrition and xylem transport of nitrogen in ureide-producing grain legumes. **Plant Physiology**, v. 65, p. 961–965, 1980.

PAUL, M., PELLNY, T.; GODDIJN, O. Enhancing photosynthesis with sugar signals. **Trends in Plant Science**, London, v. 6, n. 5, p. 197-200, 2001.

PEDRA, W. N.; PEDROTTI, A.; SILVA, T. O.; MACEDO, F. L. de; GONZAGA, M. I. S. Estoques de carbono e nitrogênio sob diferentes condições de manejo de um Argissolo Vermelho Amarelo, cultivado com milho doce nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2075-2090, 2012.

PEIX, A.; RAMIREZ-BAHENA, M. H.; VELAZQUEZ, E.; BEDMAR, E. J.; Bacterial associations with legumes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 34, n. 1-3, p. 17-42, 2015.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F. M.; MIYUKI, I.; OTSUBO, N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M.; HERRIDGE, D. F. Quantification of Nitrogen Fixation. In: LEIGH, G. J. (ed) **Nitrogen fixation at the millennium**. Boston: Elsevier Science, 2002, p. 357-389.

PEREIRA, P. A. A.; MIRANDA, B. D.; ATTEWELL, J. R.; KMIETIK, K. A.; BLISS, F. A. Selection for increased nodule number in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 148, p. 203-209, 1993.

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

PERIN, A.; ARAÚJO, A. P.; TEIXEIRA, M. G. Efeito do tamanho da semente na acumulação de biomassa e nutrientes e na produtividade do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1711-1718.

PESSOA, A. C. S.; RIBEIRO, A. C.; CHAGAS, J. M.; CASSINI, S. T. A. Atividade de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “Ouro Negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 217-224, 2001.

PIMENTEL, C.; OLIVEIRA, R. F. de; RIBEIRO, R. V.; SANTOS, M. G. dos; MACHADO, E. C. Características fotossintéticas de *Phaseolus vulgaris* L. **Hoehenea**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 273-279, 2011.

PINTO, F. G. S.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F. M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, n. 8, p. 1851-1964, 2007.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**; aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: Ed. UFG, 1993, 271p.

- RANALLI, P.; CUBERO, J. I Bases for genetic improvement of grain legumes. **Field Crops Research**, v. 53, n. 1-3, p. 69-82, 1997.
- 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. de. *Rhizobium* strains competitiveness on bean nodulation in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n. 3, p.439-447, 2006.
- PURCELL, L. C.; SERRAJ, R.; SINCLAIR, T. R.; De, A. Soybean N₂ fixation estimates, ureide concentration and yield responses to drought. **Crop Science**, v. 44, p. 484-492, 2004.
- REIS, F. B. JR.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J. Influence of nitrogen fertilization on the population of diazotrophic *Herbaspirillum spp.* and *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugar cane (*Saccharum spp.*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 219, n. 1-2, p. 153–159, 2000.
- RIBEIRO, R. A.; ROGEL, M. A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; BARCELLOS, F. G.; MARTÍNEZ, J.; THOMPSON, F. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Reclassification of *Rhizobium tropici* type A strains as *Rhizobium leucaenae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, p. 1179-1184, 2012.
- RODIÑO, A. P.; SANTALLA, M.; MONTERO, I.; CASQUERO, P. A.; De RON, A. M. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germoplasm from Portugal. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, p. 409-417, 2001.
- RODIÑO, A. P.; SANTALLA, M.; De RON, A. M.; SINGH, S. P. A core collection of common bean from the Iberian Peninsula. **Euphytica**, v. 131, p. 165-175, 2003.
- ROSSI, M.; BITOCCHI, E.; BELLUCCI, E.; NANNI, L.; RAU, D.; ATTENE, G.; PAPA, R. Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. **Evolutionary Applications**, v. 2, p. 504-522, 2009.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia das plantas**. (tradução Patrícia Lia Santarosa), São Paulo: Cengage Learning, 2012, 774p.
- SANTALLA, M; RODIÑO, A. P.; De RON, A. M. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, n. 6-7, p. 934-944, 2002.
- SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P. W.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 43, p. 374-377, 1993.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂ fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood Victoria, v. 13, n. 6, p. 699-756, 1986.
- SHIL, C. T., MOK, M. C., TEMPLE, S. R., MOK, D. W. S. Expression of developmental abnormalities in hybrids of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Heredity**, v. 71, n. 4, p. 218-222, 1980.

SILVA, E. F. da; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F. de; 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, 2009.

SILVA, I. R. da; MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do Solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (eds.). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: SBCS, 2007, p. 275-374.

SINGH, S. P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, v. 45, p. 379-396, 1991a.

SINGH, S. P.; GUTIÉRREZ, J. A.; MOLINA, A.; URREA, C.; GEPTS, P. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. **Crop Science**, v. 31, p. 23 – 29, 1991b.

SMITH J.L. & UM M.H. Rapid procedures for preparing soil and KCl extracts for ¹⁵N analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia v. 21, n. 17-18, p. 2173-2180, 1990.

SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; FRANCHINI, J. C.; RALISCH, R.; HUNGRIA, M.; GUIMARÃES, M. D. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. **Soil Tillage and Research**, Amsterdã, v. 142, p. 42-53, 2014.

SILVEIRA, P. M. da; DAMASCENO, M. A. Doses e parcelamento de K e de N na cultura do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1269-1276, 1993.

SILVEIRA, J. A. G.; VIEGAS, R. A.; FIGUEIREDO, M. V. B.; OLIVEIRA, J. T. A.; COSTA, R. C. L. N-compound accumulation and carbohydrate shortage on N₂ fixation in drought-stressed and rewatered cowpea plants. **Spanish Journal of Agriculture Research**, v. 3, p. 65-76, 2003.

SOARES, A.L. de L.; FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, J.P.A.R.; VALE, H.M.M. do; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B. de; MOREIRA, F.M. de S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). II–Feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n. 5, p.803-811, 2006.

SONNANTE, G.; STOCKTON, T.; NODARI, R. O.; BECERRA VELASQUEZ, V. L.; GEPTS, P. Evolution of genetic diversity during the domestication of common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 89, p. 629-635, 1994.

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.; SANTOS, L. A.; JOB, A. L. G. Nutrient extraction and exportation by common bean cultivars under different fertilization level: I- Macronutrients. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 1027-1042, 2013.

SOUZA, R. A. de; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; MACIEL, C. D.; CAMPO, R. J.; ZAIA, D. A. M. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 83-91, 2008.

SOUZA, E. F. C.; SORATTO, R. P.; PAGANI, F. A. Aplicação de nitrogênio e inoculação com rizóbio em feijoeiro cultivado após milho consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 4, p. 370-377, 2011.

SPERLING, L. The effect of the civil war on Rwanda's bean seed systems and unusual bean diversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 10, p. 989-1009, 2001.

STACEY, G. The *Rhizobium*-legume nitrogen-fixing symbiosis. In: BOTHE, H.; FERGUNSON, S. J.; NEWTON, W. E. (eds) **Biology of the Nitrogen Cycle**. Amsterdam, Boston: Elsevier B. V., 2007, 427p.

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

STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A. Efeitos de sistemas de preparo do solo no uso da água e na produtividade do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 835-841, 2000.

STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A. Resposta do feijoeiro ao nitrogênio em cobertura, sob diferentes lâminas de irrigação e preparos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 473-481, 2001.

STRALIOTTO, R.; CUNHA, C. O.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.; RUMJANEK, N. G. Diversity of rhizobia nodulating common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) isolated from Brazilian tropical soils. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 71, p. 531-543, 1999.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Armando Molina Diva Junior; Eliane Romano Santarém; Jorge Ernesto de Araújo Mariath; Leandro Vieira Astarita; Luís Mauro Gonçalves Rosa; Paulo Luiz de Oliveira; Rinaldo Pires dos Santos. 5^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 954p.

TAJIMA, S.; NOMURA, M.; KOUCHI, H. Ureide biosynthesis in legume nodules. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, p. 1374-1381, 2004.

TEGEDER, M. Transporters involved in source to sink partitioning of amino acids and ureides: opportunities for crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 7, p. 1865-1878, 2014.

- TOLEDO-SOUZA, E. D. de; SILVEIRA, P. M. da; LOBO, M.; CAFÉ FILHO, A C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 971-978, 2008.
- TORRES, A. R.; CURSINO, L.; MURO-ABAD, J. I.; GOMES, E. A.; ARAUJO, E. F.; HUNGRIA, M.; CASSINI, S. T. A. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from the state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 852-856, 2009.
- VAVILOV, N. I. **Centros de origem das plantas cultivadas**. Tradução e compilação de Alfredo Lam-Sánchez. Jaboticabal: FUNEP, 1993, 45p.
- 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**, New York, v.32, n.3, p.228–233, 2000.
- VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2^a ed. Editora UFV: Viçosa, MG, 2006. 600 p.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London, International Biological Programme, 1970. 164p. (Handbook, 15)
- VOGELS, G. D.; VAN DER DRIFT, C. Differential analyses of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, v. 33, n. 1, p. 143-157, 1970.
- VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v. 153, n. 4, p. 376-387, 1981.
- 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**, v. 19, p. 25-33, 2006.
- ZHANG, X.; BLAIR, M. W.; WANG, S. Genetic diversity of Chinese common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces assessed with simple sequence repeat markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, n. 4, p. 629-640, 2008.
- ZRENNER, R; STITT, M.; SONNEWALD, U.; BOLDT, R. Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 805-836, 2006.

8. ANEXOS

Tabela 63. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de setembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
1	PI 511767	13	PI 416713	25	PI 417657
2	PI 512003	14	PI 417616	26	PI 417667
3	PI 417654	15	PI 451917	27	PI 417679
4	PI 449389	16	PI 451921	28	PI 417697
5	PI 449410	17	PI 476751	29	PI 263596
6	PI 449412	18	PI 476693	30	PI 307788
7	PI 417743	19	PI 325750	31	PI 304113
8	PI 417754	20	PI 417630	32	PI 319684
9	PI 533286	21	PI 417641	33	PI 209498
10	PI 533299	22	PI 430200	34	PI 325676
11	PI 533311	23	PI 430204	35	PI 311967
12	PI 533312	24	PI 430206	36	PI 313397
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
37	CNF0010992	63	CNF0011021	89	CNF0011051
38	CNF0010993	64	CNF0011022	90	CNF0011052
39	CNF0010995	65	CNF0011023	91	CNF0011053
40	CNF0010996	66	CNF0011024	92	CNF0011054
41	CNF0010997	67	CNF0011025	93	CNF0011055
42	CNF0010999	68	CNF0011026	94	CNF0011056
43	CNF0011000	69	CNF0011027	95	CNF0011057
44	CNF0011001	70	CNF0011028	96	CNF0011058
45	CNF0011002	71	CNF0011029	97	CNF0011059
46	CNF0011003	72	CNF0011031	98	CNF0011060
47	CNF0011004	73	CNF0011032	99	CNF0011061
48	CNF0011005	74	CNF0011033	100	CNF0011062
49	CNF0011006	75	CNF0011036	101	CNF0011063
50	CNF0011008	76	CNF0011037	102	CNF0011065
51	CNF0011009	77	CNF0011038	103	CNF0011066
52	CNF0011010	78	CNF0011034	104	CNF0011067
53	CNF0011011	79	CNF0011041	105	CNF0011069
54	CNF0011012	80	CNF0011042	106	CNF0011070
55	CNF0011013	81	CNF0011043	107	CNF0011071
56	CNF0011014	82	CNF0011044	108	CNF0011072
57	CNF0011015	83	CNF0011045	109	CNF0011073
58	CNF0011016	84	CNF0011046	110	CNF0011074
59	CNF0011017	85	CNF0011047	111	CNF0011075
60	CNF0011018	86	CNF0011048	112	CNF0011076
61	CNF0011019	87	CNF0011049	113	CNF0011035
62	CNF0011020	88	CNF0011050	114	Ouro Negro

Tabela 64. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 27 de setembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
115	PI 310886	126	PI 310891	137	PI 313501
116	PI 309857	127	PI 406940	138	PI 313512
117	PI 387862	128	PI 311942	139	PI 313524
118	PI 313667	129	PI 311907	140	PI 312098
119	PI 288016	130	PI 311900	141	PI 313254
120	PI 309845	131	PI 308898	142	PI 313572
121	PI 311982	132	PI 308908	143	PI 313701
122	PI 312090	133	PI 309698	144	PI 313709
123	PI 313837	134	PI 309700	145	PI 313297
124	PI 310726	135	PI 309701	146	PI 313328
125	PI 312031	136	PI 313499	147	PI 313333
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
148	CNF0011034	174	CNF0011105	200	CNF0011137
149	CNF0011077	175	CNF0011106	201	CNF0011138
150	CNF0011078	176	CNF0011108	202	CNF0011139
151	CNF0011079	177	CNF0011109	203	CNF0011140
152	CNF0011080	178	CNF0011111	204	CNF0011141
153	CNF0011081	179	CNF0011112	205	CNF0011142
154	CNF0011083	180	CNF0011113	206	CNF0011143
155	CNF0011084	181	CNF0011115	207	CNF0011144
156	CNF0011085	182	CNF0011116	208	CNF0011145
157	CNF0011086	183	CNF0011118	209	CNF0011147
158	CNF0011087	184	CNF0011119	210	CNF0011148
159	CNF0011088	185	CNF0011120	211	CNF0011149
160	CNF0011089	186	CNF0011121	212	CNF0011150
161	CNF0011090	187	CNF0011122	213	CNF0011151
162	CNF0011091	188	CNF0011123	214	CNF0011152
163	CNF0011092	189	CNF0011124	215	CNF0011153
164	CNF0011093	190	CNF0011125	216	CNF0011154
165	CNF0011094	191	CNF0011126	217	CNF0011155
166	CNF0011095	192	CNF0011127	218	CNF0011156
167	CNF0011096	193	CNF0011128	219	CNF0011157
168	CNF0011097	194	CNF0011129	220	CNF0011158
169	CNF0011100	195	CNF0011130	221	CNF0011159
170	CNF0011101	196	CNF0011131	222	CNF0011160
171	CNF0011102	197	CNF0011132	223	CNF0011161
172	CNF0011103	198	CNF0011133	224	CNF0011162
173	CNF0011104	199	CNF0011135	225	Ouro Negro

Tabela 65. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de outubro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
226	PI 304110	237	PI 241794	248	PI 313630
227	PI 299019	238	PI 224728	249	PI 313633
228	PI 307790	239	PI 224718	250	PI 313634
229	PI 209482	240	PI 415913	251	PI 313639
230	PI 209479	241	PI 415949	252	PI 207373
231	PI 208774	242	PI 415950	253	PI 207336
232	PI 207443	243	PI 313720	254	PI 207322
233	PI 207428	244	PI 313727	255	PI 209486
234	PI 207420	245	PI 319573	256	PI 533249
235	PI 207389	246	PI 319587	257	PI 533277
236	PI 260418	247	PI 319592	258	PI 417784
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
259	CNF0011163	285	CNF0011191	311	CNF0011222
260	CNF0011164	286	CNF0011192	312	CNF0011223
261	CNF0011165	287	CNF0011193	313	CNF0011226
262	CNF0011166	288	CNF0011194	314	CNF0011227
263	CNF0011167	289	CNF0011195	315	CNF0011228
264	CNF0011168	290	CNF0011197	316	CNF0011229
265	CNF0011169	291	CNF0011199	317	CNF0011230
266	CNF0011170	292	CNF0011200	318	CNF0011231
267	CNF0011171	293	CNF0011202	319	CNF0011232
268	CNF0011172	294	CNF0011203	320	CNF0011233
269	CNF0011173	295	CNF0011204	321	CNF0011234
270	CNF0011174	296	CNF0011205	322	CNF0011235
271	CNF0011175	297	CNF0011206	323	CNF0011237
272	CNF0011176	298	CNF0011207	324	CNF0011238
273	CNF0011177	299	CNF0011208	325	CNF 0011239
274	CNF0011178	300	CNF0011209	326	CNF0011240
275	CNF0011179	301	CNF0011210	327	CNF0011241
276	CNF0011180	302	CNF0011211	328	CNF0011242
277	CNF0011181	303	CNF0011212	329	CNF0011244
278	CNF0011183	304	CNF0011213	330	CNF0011245
279	CNF0011184	305	CNF0011214	331	CNF0011246
280	CNF0011185	306	CNF0011215	332	CNF0011247
281	CNF0011186	307	CNF0011217	333	CNF0011248
282	CNF0011188	308	CNF0011218	334	CNF0011249
283	CNF0011189	309	CNF0011219	335	CNF0011250
284	CNF0011190	310	CNF0011220	336	Ouro Negro

Tabela 66. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 01 de novembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
337	PI 417786	348	PI 449422	359	PI 417742
338	PI 533313	349	PI 451885	361	PI 533428
339	PI 533316	350	PI 451906	362	PI 533432
340	PI 533363	351	PI 326106	363	PI 417622
341	PI 533502	352	PI 326110	364	PI 417628
342	PI 533475	353	PI 417716	365	PI 533584
343	PI 325732	354	PI 417721	366	PI 535395
344	PI 417621	355	PI 533561	367	PI 318691
345	PI 533476	356	PI 533577	368	PI 311794
346	PI 533484	357	PI 417725	369	PI 311843
347	PI 417708	358	PI 417731		
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
370	CNF0011251	396	CNF0011599	422	CNF0011628
371	CNF0011252	397	CNF0011600	423	CNF0011630
372	CNF0011253	398	CNF0011601	424	CNF0011631
373	CNF0011254	399	CNF0011602	425	CNF0011632
374	CNF0011257	400	CNF0011603	426	CNF0011633
375	CNF0011565	401	CNF0011604	427	CNF0011639
376	CNF0011567	402	CNF0011605	428	CNF0011640
377	CNF0011570	403	CNF0011606	429	CNF0011641
378	CNF0011571	404	CNF0011607	430	CNF0011646
379	CNF0011568	405	CNF0011608	431	CNF0011647
380	CNF0011576	406	CNF0011610	432	CNF0011651
381	CNF0011577	407	CNF0011611	433	CNF0011654
382	CNF0011578	408	CNF0011612	434	CNF0011655
383	CNF0011579	409	CNF0011613	435	CNF0011656
384	CNF0011581	410	CNF0011614	436	CNF0011657
385	CNF0011582	411	CNF0011615	437	CNF0011658
386	CNF0011585	412	CNF0011616	438	CNF0011659
387	CNF0011586	413	CNF0011618	439	CNF0011660
388	CNF0011589	414	CNF0011620	440	CNF0011661
389	CNF0011591	415	CNF0011621	441	CNF0011662
390	CNF0011592	416	CNF0011622	442	CNF0011663
391	CNF0011593	417	CNF0011623	443	CNF0011664
392	CNF0011594	418	CNF0011624	444	CNF0011440
393	CNF0011595	419	CNF0011625	445	CNF0011441
394	CNF0011596	420	CNF0011627	446	CNF0011442
395	CNF0011598	421	CNF0011629	447	Ouro Negro

Tabela 67. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 13 de dezembro de 2011, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
448	PI 387865	459	PI 201388	470	PI 207207
449	PI 325630	460	PI 201480	471	PI 207253
450	PI 325635	461	PI 207203	472	PI 207136
451	PI 313685	462	PI 310828	473	PI 207148
452	PI 313674	463	PI 310842	474	PI 346960
453	PI 319607	464	PI 309837	475	PI 310850
454	PI 310786	465	PI 207193	476	PI 202835
455	PI 325642	466	PI 207186	477	PI 309810
456	PI 325653	467	PI 309715	478	PI 319554
457	PI 346955	468	PI 309759	479	PI 318703
458	PI 201387	469	PI 207216	480	PI 318695
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
481	CNF0011444	507	CNF0011479	533	CNF0011517
482	CNF0011445	508	CNF0011480	534	CNF0011518
483	CNF0011446	509	CNF0011482	535	CNF0011520
484	CNF0011449	510	CNF0011484	536	CNF0011521
485	CNF0011450	511	CNF0011485	537	CNF0011523
486	CNF0011451	512	CNF0011486	538	CNF0011524
487	CNF0011452	513	CNF0011488	539	CNF0011525
488	CNF0011453	514	CNF0011489	540	CNF0011527
489	CNF0011454	515	CNF0011490	541	CNF0011528
490	CNF0011455	516	CNF0011493	542	CNF0011530
491	CNF0011457	517	CNF0011494	543	CNF0011531
492	CNF0011458	518	CNF0011495	544	CNF0011532
493	CNF0011460	519	CNF0011496	545	CNF0011533
494	CNF0011461	520	CNF0011497	546	CNF0011535
495	CNF0011462	521	CNF0011498	547	CNF0011538
496	CNF0011463	522	CNF0011499	548	CNF0011541
497	CNF0011464	523	CNF0011500	549	CNF0011542
498	CNF0011465	524	CNF0011502	550	CNF0011544
499	CNF0011466	525	CNF0011503	551	CNF0011545
500	CNF0011467	526	CNF0011504	552	CNF0011546
501	CNF0011468	527	CNF0011505	553	CNF0011547
502	CNF0011470	528	CNF0011510	554	CNF0011548
503	CNF0011471	529	CNF0011511	555	CNF0011549
504	CNF0011473	530	CNF0011513	556	CNF0011551
505	CNF0011475	531	CNF0011515	557	CNF0011552
506	CNF0011477	532	CNF0011516	558	Ouro Negro

Tabela 68. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 09 de janeiro de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
559	PI 318694	570	PI 313835	581	PI 313386
560	PI 313473	571	PI 313608	582	PI 313830
561	PI 313483	572	PI 165423	583	PI 165422
562	PI 313490	573	PI 319618	584	PI 313615
563	PI 533437	574	PI 310814	585	PI 310778
564	PI 533498	575	PI 311974	586	PI 209491
565	PI 415900	576	PI 325626	587	PI 290990
566	PI 313495	577	PI 313843	588	PI 415955
567	PI 207180	578	PI 319619	589	PI 415975
568	PI 207182	579	PI 313394	590	PI 310586
569	PI 313597	580	PI 312083	591	PI 310599
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
592	CNF0011553	618	CNF0011275	644	CNF0011304
593	CNF0011556	619	CNF0011277	645	CNF0011305
594	CNF0011557	620	CNF0011278	646	CNF0011306
595	CNF0011558	621	CNF0011279	647	CNF0011307
596	CNF0011559	622	CNF0011281	648	CNF0011308
597	CNF0011560	623	CNF0011282	649	CNF0011309
598	CNF0011561	624	CNF0011283	650	CNF0011310
599	CNF0011562	625	CNF0011284	651	CNF0011311
600	CNF0011563	626	CNF0011285	652	CNF0011312
601	CNF0011564	627	CNF0011286	653	CNF0011314
602	CNF0011258	628	CNF0011287	654	CNF0011316
603	CNF0011259	629	CNF0011288	655	CNF0011317
604	CNF0011260	630	CNF0011289	656	CNF0011318
605	CNF0011261	631	CNF0011290	657	CNF0011320
606	CNF0011262	632	CNF0011291	658	CNF0011321
607	CNF0011263	633	CNF0011292	659	CNF0011322
608	CNF0011264	634	CNF0011294	660	CNF0011323
609	CNF0011265	635	CNF0011295	661	CNF0011324
610	CNF0011266	636	CNF0011296	662	CNF0011325
611	CNF0011268	637	CNF0011297	663	CNF0011326
612	CNF0011269	638	CNF0011298	664	CNF0011327
613	CNF0011270	639	CNF0011299	665	CNF0011328
614	CNF0011271	640	CNF0011300	666	CNF0011329
615	CNF0011272	641	CNF0011301	667	CNF0011330
616	CNF0011273	642	CNF0011302	668	CNF0011331
617	CNF0011274	643	CNF0011303	669	Ouro Negro

Tabela 69. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 23 de janeiro de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
670	PI 310611	681	PI 165455	692	PI 198026
671	PI 310660	682	PI 165462	693	PI 313782
672	PI 310663	683	PI 181996	694	PI 313809
673	PI 313749	684	PI 182000	695	PI 309844
674	PI 198037	685	PI 313357	696	PI 201296
675	PI 200956	686	PI 201370	697	PI 325721
676	PI 313535	687	PI 312052	698	PI 200967
677	PI 313532	688	PI 313671	699	PI 201004
678	PI 313531	689	PI 189407	700	PI 313440
679	PI 325722	690	PI 195402	701	PI 203921
680	PI 312017	691	PI 196463	702	PI 203934
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
703	CNF0011333	729	CNF0011365	755	CNF0011394
704	CNF0011334	730	CNF0011364	756	CNF0011395
705	CNF0011337	731	CNF0011370	757	CNF0011396
706	CNF0011338	732	CNF0011367	758	CNF0011397
707	CNF0011339	733	CNF0011369	759	CNF0011398
708	CNF0011340	734	CNF0011372	760	CNF0011399
709	CNF0011341	735	CNF0011373	761	CNF0011401
710	CNF0011343	736	CNF0011374	762	CNF0011402
711	CNF0011345	737	CNF0011375	763	CNF0011403
712	CNF0011346	738	CNF0011376	764	CNF0011404
713	CNF0011347	739	CNF0011378	765	CNF0011405
714	CNF0011349	740	CNF0011379	766	CNF0011406
715	CNF0011350	741	CNF0011381	767	CNF0011407
716	CNF0011351	742	CNF0011380	768	CNF0011408
717	CNF0011352	743	CNF0011382	769	CNF0011409
718	CNF0011353	744	CNF0011383	770	CNF0011411
719	CNF0011354	745	CNF0011384	771	CNF0011412
720	CNF0011355	746	CNF0011385	772	CNF0011413
721	CNF0011356	747	CNF0011386	773	CNF0011414
722	CNF0011357	748	CNF0011387	774	CNF0011415
723	CNF0011358	749	CNF0011388	775	CNF0011416
724	CNF0011359	750	CNF0011389	776	CNF0011417
725	CNF0011360	751	CNF0011391	777	CNF0011419
726	CNF0011361	752	CNF0011390	778	CNF0011418
727	CNF0011362	753	CNF0011392	779	CNF0011420
728	CNF0011363	754	CNF0011393	780	Ouro Negro

Tabela 70. Genótipos de feijoeiro semeados em casa de vegetação, em 20 de março de 2012, para avaliação de capacidade de nodulação.

Coleção Nuclear México					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
781	PI 203936	793	PI 313583	806	PI 311999
782	PI 206223	795	PI 310751	807	PI 307806
783	PI 313425	796	PI 313693	808	PI 307820
784	PI 313429	797	PI 309827	809	PI 310556
785	PI 201329	798	PI 311956	810	PI 313458
786	PI 313665	799	PI 325664		
788	PI 201354	800	PI 309877		
789	PI 311962	801	PI 310511		
790	PI 313842	802	PI 310515		
791	PI 310718	803	PI 312018		
792	PI 325684	805	PI 150957		
Coleção Nuclear CIAT					
Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
811	CNF0011422	838	CNF 8825	865	CNF 1227
812	CNF0011423	839	CNF 5464	866	CNF 2079
813	CNF0011424	840	CNF 1647	867	CNF 8802
814	CNF0011425	841	CNF 1675	868	CNF 9860
815	CNF0011426	842	CNF 1776	869	CNF 10954
816	CNF0011428	843	CNF 1678	870	CNF 1611
817	CNF0011429	844	CNF 1755	871	CNF 1533
818	CNF0011430	845	CNF 1652	872	CNF 1807
819	CNF0011431	846	CNF 1325	873	CNF 9688
820	CNF0011432	847	CNF 1562	874	CNF 8857
821	CNF0011433	848	CNF 0842	875	CNF 1712
822	CNF0011434	849	CNF 5597	876	CNF 8814
823	CNF0011436	850	CNF 3513	877	CNF 6497
824	CNF0011437	851	CNF 2035	878	CNF 1735
825	CNF0011438	852	CNF 8864	879	CNF 8746
826	CNF 9643	853	CNF 9772	880	CNF 5909
827	CNF 8719	854	CNF 10357	881	CNF 7769
828	CNF 2020	855	CNF 10953	882	CNF 8179
829	CNF 0699	856	CNF 5642	883	CNF 1758
830	CNF 7772	857	CNF 6658	884	CNF 11800
831	CNF 2019	858	CNF 10311	885	CNF 8858
832	CNF 2042	859	CNF 1644	886	CNF 11912
833	CNF 5218	860	CNF 3629	887	CNF0011146
834	CNF 5645	861	CNF 1637	888	CNF0011554
835	CNF 1712	862	CNF 4947	889	CNF0011574
836	CNF 9668	863	CNF 4916	890	Ouro Negro
837	CNF 8739	864	CNF 1764		