



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbc.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo  
Brasil

da Silva, Maria de Fátima; de Rosália e Silva Santos, Carolina Etienne; Albuquerque de Sousa, Clayton; de Souza Leão Araújo, Renata; Pereira Stamford, Newton; do Vale Barreto Figueiredo, Márcia

Nodulação e eficiência da fixação do N<sub>2</sub> em feijão-caupi por efeito da taxa do inóculo  
Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 36, núm. 5, outubro-noviembre, 2012, pp. 1418-1425  
Sociedade Brasileira de Ciência do Solo  
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180224890005>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica  
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# NODULAÇÃO E EFICIÊNCIA DA FIXAÇÃO DO N<sub>2</sub> EM FEIJÃO-CAUPI POR EFEITO DA TAXA DO INÓCULO<sup>(1)</sup>

Maria de Fátima da Silva<sup>(2)</sup>, Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos<sup>(3)</sup>, Clayton Albuquerque de Sousa<sup>(4)</sup>, Renata de Souza Leão Araújo<sup>(5)</sup>, Newton Pereira Stamford<sup>(6)</sup> & Márcia do Vale Barreto Figueiredo<sup>(7)</sup>

## RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) pode adquirir nitrogênio em quantidades adequadas para suprir suas necessidades, por meio do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN), quando associado com rizóbios específicos e eficientes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de diferentes taxas de inóculo na nodulação e FBN na cultivar BRS Pujante de feijão-caupi. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando-se vasos plásticos com 2 kg de solo, em delineamento experimental de blocos ao acaso com sete tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos constaram de cinco concentrações de células da estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 3267 (células/semente), um tratamento sem inoculação e com adição de fertilizante nitrogenado (controle + N) e um controle sem inoculação e sem adição de fertilizante nitrogenado (controle). Foram avaliados o número e a massa seca de nódulos, a massa seca da parte aérea e o acúmulo de N na parte aérea. À medida que houve aumento da concentração de células na semente, elevaram-se os parâmetros da nodulação e fixação do N<sub>2</sub>. A aplicação da maior taxa de inóculo, que foi de 6,65 x 10<sup>7</sup> células da estirpe BR 3267/semente, promoveu aumento da massa seca da parte aérea por planta correspondente a 27 % da massa seca da parte aérea do tratamento controle e semelhante ao tratamento controle + N. A inoculação a partir da aplicação de 8 x 10<sup>5</sup> células da estirpe BR 3267/semente forneceu maior quantidade de N para as plantas, em relação à dos tratamentos controle e controle + N. A cultivar BRS Pujante foi

---

<sup>(1)</sup> Parte da Tese de Doutorado da primeira autora apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Recebido para publicação em 11 de novembro de 2011 e aprovado em 06 de agosto de 2012.

<sup>(2)</sup> Doutora em Ciência do Solo - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n. Dois Irmãos. CEP 52171-920 Recife (PE). E-mail: fatimasolos@gmail.com

<sup>(3)</sup> Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFRPE. E-mail: etienne@depa.ufrpe.br

<sup>(4)</sup> Doutorando do Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo, UFRPE. E-mail: clayton.adesousa@gmail.com

<sup>(5)</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, UFRPE. E-mail: rds1a@hotmail.com

<sup>(6)</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFRPE. E-mail: newtonps@depa.ufrpe.br

<sup>(7)</sup> Pesquisadora do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA. Av. General San Martin, 1371. Bongi. CEP 50761-000 Recife (PE). E-mail: marcia.figueiredo@ipa.br

**beneficiada pela FBN quando inoculada com a estirpe BR 3267, proporcionalmente à taxa de inóculo.**

**Termos de indexação: eficiência simbiótica, inoculante, população rizobiana nativa.**

**SUMMARY: NODULATION AND NITROGEN FIXATION EFFICIENCY OF COWPEA AS AFFECTED BY INOCULUM RATE**

*Cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) can obtain sufficient N for its own supply from the atmosphere, by the process of biological nitrogen fixation (FBN), when associated with specific and effective rhizobia bacteria. The purpose of this study was to evaluate the effect of different rhizobia inoculum rates on nodulation and biological N fixation by cowpea (cv. BRS Pujante). A complete randomized block design with seven treatments and four replicates was used. The trial was conducted in a greenhouse using 2 kg of soil as the growth medium. The treatments consisted of five rates of viable cells of Bradyrhizobium sp. (strain BR 3267), a control treatment (without rhizobia and no mineral N) and a treatment without inoculation but with mineral nitrogen (control + 20 kg ha<sup>-1</sup> N). Nodulation (nodule number and biomass), shoot biomass and total N uptake were determined. Higher rhizobia inoculum rates (viable cells per seed) increased the nodulation and N fixation values. In the treatment with rhizobia (strain BR 3267) at the highest inoculum rate (6,65x10<sup>7</sup> viable cells per seed), the shoot dry matter was equivalent to the treatment with mineral N application (20 kg ha<sup>-1</sup>) and promoted an increase of up to 27% compared with the control treatment. The inoculum rate (strain BR 3267) up to 8x10<sup>5</sup> (viable cells seed<sup>-1</sup>) contributed to accumulate a higher amount of N in cowpea compared to the control and the control + N treatments. Cowpea (cv. BRS Pujante) was benefited by the BNF when inoculated with strain BR 3267, proportionally to the inoculum rate.*

*Index terms: symbiotic effectiveness, inoculant, native rhizobia population.*

## INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é cultivado em todo o Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, pela sua alta rusticidade, boa adaptabilidade às diversas condições edafoclimáticas e capacidade de se desenvolver em solo de baixa fertilidade (Oliveira & Carvalho, 1988). Seus grãos possuem altos teores de proteínas, carboidratos, fibras e minerais e reduzido conteúdo lipídico (Frota et al., 2008). Essas características tornam a cultura do feijão-caupi uma importante fonte de alimento e renda para os pequenos agricultores com baixos recursos tecnológicos (Filgueiras et al., 2009).

Atualmente estima-se um déficit de 68 e 81 mil toneladas de grãos de feijão-caupi nas regiões Norte e Nordeste, respectivamente (Freire-Filho et al., 2007). Esses dados denotam a ausência de maiores investimentos relacionados à aplicação de tecnologias para explorar essa leguminosa e, conseqüentemente, aumentar sua produtividade (Filgueiras et al., 2009).

No Brasil, a prática da inoculação com bactérias diazotróficas capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) para a cultura do feijão-caupi não é muito utilizada, em razão de os solos conterem elevada população de rizóbios nativos capazes de nodular a cultura (Zilli et al., 2004; Soares et al., 2006; Leite et

al., 2009; Zilli et al., 2009a), gerando respostas inconsistentes com relação a essa prática de manejo. Essa variabilidade de resposta à inoculação pode estar relacionada com a baixa especificidade para nodulação do feijão-caupi, como também à densidade e habilidade competitiva de rizóbios nativos.

De acordo com Brockwell et al. (1995), a melhor maneira de se estabelecer uma estirpe de rizóbio na presença de população rizobiana nativa é por meio da aplicação de taxa elevada de inóculo eficaz, colocando-o perto dos primeiros sítios de nodulação da planta - no caso, a raiz. Krasova-Wade et al. (2006) demonstraram que a densidade e competitividade de uma população rizobiana nativa podem ser modificadas por estirpes introduzidas pela aplicação de taxas de inóculo superiores à densidade da população rizobiana nativa.

Nesse contexto, fica evidenciada a importância da inoculação como prática de manejo sustentável para a cultura do feijão-caupi, por meio da utilização de inoculantes com quantidades adequadas de rizóbios competitivos e eficientes para o processo de FBN, o que poderá contribuir para aumento de produtividade e redução dos custos com fertilizantes nitrogenados.

Este trabalho objetivou avaliar o efeito da aplicação de diferentes taxas de inóculo da estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 3267 para a FBN na cultura

do feijão-caupi em solo da Zona da Mata de Pernambuco.

## MATERIAL E MÉTODOS

O solo utilizado no experimento foi proveniente da Estação Experimental de Itapirema (EEI), pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizada em Goiana, Zona da Mata de Pernambuco. As amostras de um Espodossolo Ferrocárbico órtico (textura arenosa) foram coletadas na profundidade de 0-20 cm. A área de coleta possui histórico de cultivo de feijão-caupi e amendoim, mas no momento apresentava-se em período de pousio de um ano.

A avaliação dos atributos químicos e físicos foi realizada segundo Embrapa (1997). A população rizobiana nativa foi determinada pelo método do número mais provável (NMP), conforme Andrade & Hamakawa (1994), utilizando-se como planta hospedeira a cultivar de feijão-caupi BRS Pujante. Os resultados das análises químicas, físicas e de NMP estão expressos no quadro 1.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de setembro a outubro de 2010.

Foram utilizadas a cultivar BRS Pujante, lançada pela EMBRAPA-CPATSA em 2007 e indicada para o cultivo na região Nordeste (Freire-Filho et al., 2007), e, como estirpe inoculante, a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. BR 3267 (SEMIA 6462) proveniente da EMBRAPA-CNPAB, isolada da região semiárida do Estado de Pernambuco e recomendada pela Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE) para a produção de inoculante comercial para a cultura do feijão-caupi no Brasil (Rumjanek et al., 2006).

O solo foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira com malha de 4 mm de abertura; em seguida,

foram acondicionados 2 kg em vasos plásticos. Três dias antes da semeadura, foi realizada a adubação conforme a recomendação para a cultura (Melo et al., 2005), com base no peso de solo. Todos os vasos receberam adubação fosfatada e potássica ( $40 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e de  $\text{K}_2\text{O}$ ), utilizando como fontes superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. Nos vasos que receberam o tratamento nitrogenado foram aplicados  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, na forma de ureia.

A estirpe BR 3267 foi cultivada em meio líquido à base de extrato de levedura e manitol (YM), de acordo com Vincent (1970), com pH ajustado para 6,8 em erlenmeyers de 125 mL, com 25 mL de meio YM, colocados em agitador rotatório a 150 rpm, em ambiente com temperatura de  $30^\circ\text{C}$  por 144 h. A utilização da cultura correspondeu à fase de crescimento log da bactéria, obtendo-se uma concentração em torno de  $10^{11}$  células viáveis  $\text{mL}^{-1}$ , determinada por transmitância em comprimento de onda de 540 nm (Urenha et al., 1994). Foram feitas quatro diluições (1:10; 1:100; 1:1.000 e 1:10.000) da cultura para obtenção das demais concentrações do inóculo. Os inoculantes foram produzidos usando como veículo turfa esterilizada, na proporção de 1:1 (v:v) de turfa e cultura (turfa:cultura).

As sementes de feijão-caupi foram desinfestadas superficialmente com álcool etílico 70 % por 1 min e hipoclorito de sódio 1 % por 3 min, seguidas de nove lavagens sucessivas com água deionizada estéril, e inoculadas na proporção de 1 g do inoculante para 250 g de sementes, utilizando-se uma solução estéril de goma arábica 40 % para o preparo das pastas de inoculantes.

No momento da semeadura foi determinada a concentração de células de rizóbios por grama de inoculante, segundo a técnica de diluição em placas (Brasil, 2010), obtendo-se concentrações de  $8,31 \times 10^{10}$  a  $8,31 \times 10^6$  células  $\text{g}^{-1}$  de inoculante, correspondendo às concentrações de  $6,65 \times 10^7$  a  $6,65 \times 10^3$  células de rizóbios/semente (Brasil, 2009).

A semeadura foi feita utilizando-se quatro sementes por vaso, com posterior desbaste no quarto dia após a

**Quadro 1. Características químicas, físicas e microbiológicas do Espodossolo Ferrocárbico órtico**

pH(H <sub>2</sub> O)	H+Al	Al <sup>3+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	P	CO <sup>(1)</sup>	N
			cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>				mg dm <sup>-3</sup>	g kg <sup>-1</sup>	
5,15	0,41	0,20	0,22	0,08	1,20	2,25	7,90	6,72	0,65
Camada	Classe textural	Granulometria				Densidade			
		Areia	Silte	Argila	Solo	Partícula			
			g kg <sup>-1</sup>				g cm <sup>-3</sup>		
0-20 cm	Areia franca	852	25		123	1,38	2,59		
População rizobiana						2,21 x 10 <sup>3</sup> rizóbios g <sup>-1</sup> de solo			

<sup>(1)</sup> Carbono orgânico.

emergência, mantendo-se duas plantas por vaso. As regas foram realizadas diariamente, e a umidade foi mantida a 80 % da capacidade de campo.

As plantas foram coletadas aos 35 dias após a semeadura, para avaliações do número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), da massa seca da parte aérea (MSPA) e do acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). As MSN e MSPA foram determinadas após secagem em estufa a 65 °C por 72 h; em seguida, a MSPA foi moída para determinação do teor de N-total pelo método semimicro Kjeldhal, de acordo com Bezerra Neto & Barreto (2004). O ANPA foi calculado por meio da multiplicação da massa seca na parte aérea (g) pelo teor de N-total.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com sete tratamentos e quatro repetições. Os sete tratamentos foram compostos por cinco concentrações de células da estirpe BR 3267/semente ( $6,65 \times 10^3$ ;  $6,65 \times 10^4$ ;  $6,65 \times 10^5$ ;  $6,65 \times 10^6$ ; e  $6,65 \times 10^7$ ), um sem inoculação e com adição de fertilizante nitrogenado (controle + N) e outro sem inoculação e sem adição de fertilizante nitrogenado (controle).

Foi realizada análise de regressão ( $p = 0,05$ ) para as variáveis dependentes número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA) e acúmulo de nitrogênio (ANPA), tendo as concentrações de células da estirpe BR 3267/semente como variável independente. A seleção dos modelos foi baseada no maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no menor quadrado médio do resíduo, por meio do programa Sigmaplot. 10.0 (Systat Software, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do número de nódulos por planta (NN) demonstrou diferenças com o aumento do número de células de rizóbios na semente ( $p < 0,0001$ ), atingindo o máximo de 72 nódulos por planta com a aplicação de  $6,65 \times 10^7$  células da estirpe BR 3267/semente (Figura 1).

A taxa de inóculo mínima recomendada de  $8 \times 10^5$  células de rizóbio/semente (Brasil, 2009, 2011) correspondeu a aumento de 75 % na quantidade de nódulos/planta em relação à menor taxa aplicada, que foi de  $6,65 \times 10^3$  células de rizóbio/semente, de acordo com a estimativa do modelo hiperbólico.

Entre as duas maiores taxas de aplicação do inóculo ( $6,65 \times 10^6$  e  $6,65 \times 10^7$  células de rizóbio/semente), observou-se o aumento de apenas um nódulo/planta quando houve aumento de 10 vezes na taxa de inóculo aplicado na semente, sugerindo a atuação do sistema autorregulatório da planta, o qual controla o número de nódulos e os sítios de nodulação das raízes, por meio de sinalização a longa distância (Oka-Kira & Kawaguchi, 2006).

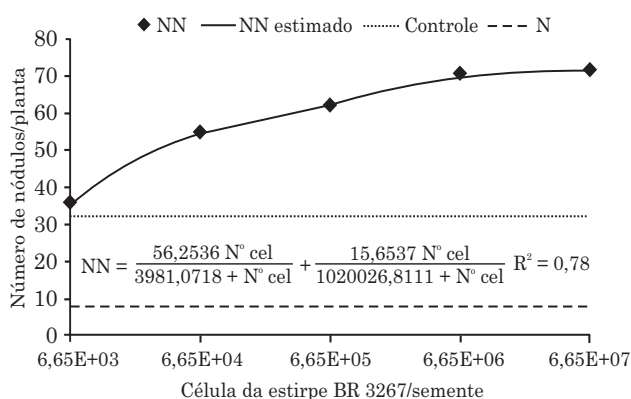
Em relação ao tratamento sem inoculação e sem N (tratamento controle), que contém uma população rizobiana estabelecida de  $2,21 \times 10^3$  rizóbios g<sup>-1</sup> de solo, a aplicação de  $6,65 \times 10^5$  células de rizóbio/semente apresentou aumento de 94 % da quantidade de nódulos; já a maior dosagem utilizada ( $6,65 \times 10^7$  células de rizóbio/semente) promoveu elevação correspondente a 125 % do NN do tratamento controle.

Vieira Neto et al. (2008), avaliando a aplicação de inoculantes na cultura da soja (*Glycine max* (L) Merrill), não encontraram aumento na quantidade de nódulos com o aumento da dose de inoculante em duas áreas, independentemente do tamanho da população rizobiana estabelecida. Resultado semelhante foi encontrado por Araújo et al. (2007), segundo os quais o aumento da dosagem do inoculante não proporcionou ganhos de nodulação e produtividade para o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) em um solo com baixa população rizobiana estabelecida.

Osunde et al. (2003) relatam aumento significativo na taxa de N fixado para a soja quando plantas inoculadas apresentaram duas vezes mais nódulos que plantas noduladas apenas pela população rizobiana nativa dos solos, que variou entre 8,86 e 65,04 rizóbios g<sup>-1</sup> de solo; esses autores atribuem essa resposta à alta concentração das estirpes no inoculante ( $10^7$  células g<sup>-1</sup> de inoculante), bem como à baixa população rizobiana nativa dos solos.

Papakosta (1992), estudando o efeito de diferentes taxas de inóculo, observaram aumentos significativos na nodulação, fixação de N e produção de grãos para a soja com a aplicação de uma taxa de inóculo de  $6,75 \times 10^5$  células de rizóbio/semente.

De acordo com Brockwell et al. (1995), Sanginga et al. (2000) e Osunde et al. (2003), respostas positivas



**Figura 1.** Número de nódulos (NN) por planta de feijão-caupi cultivar BRS Pujante, em função de diferentes concentrações de células da estirpe BR 3267 na semente inoculada. Controle = plantas não inoculadas e sem aplicação de fertilizante nitrogenado; N = plantas não inoculadas e com aplicação de fertilizante nitrogenado; N° cel = número de células da estirpe BR 3267 por semente.



à inoculação são dependentes do local e inversamente relacionadas com o tamanho, a eficiência e a competitividade da população rizobiana estabelecida. Nazih & Weaver (1994) relatam aumento no número de nódulos em trevos (*Trifolium* spp.), bem como no número de rizóbios, em dois solos com o aumento das taxas de inóculo, pois os solos avaliados possuíam populações inferiores a 100 rizóbios g<sup>-1</sup> de solo. Esse fato não foi observado neste experimento, pois a população rizobiana estabelecida foi de 2,21 x 10<sup>3</sup> rizóbios g<sup>-1</sup> de solo e houve respostas positivas aos parâmetros da nodulação à medida que se elevou a taxa de inóculo.

Hafeez et al. (2007), avaliando especificidade, eficiência e competitividade entre estirpes de rizóbios introduzidas e nativas em diferentes tipos de solo, observaram respostas positivas da inoculação com a aplicação de uma taxa de 10<sup>4</sup> células de rizóbio/semente, que foi 10 vezes maior que a da população rizobiana nativa.

A elevada população rizobiana estabelecida no solo em estudo pode ser decorrente de cultivos anteriores com o feijão-caupi, uma vez que diversos autores (Fening & Danso, 2002; Zilli et al., 2004; Kimiti & Odee, 2010) relatam que aumentos significativos na densidade da população rizobiana no solo foram observados somente em resposta ao cultivo do feijão-caupi, sugerindo que a presença dessa leguminosa favorece o estabelecimento de grupos de rizóbios específicos e que adquirem características competitivas, garantindo assim seu estabelecimento nesses locais (Zilli et al., 2004).

Nesse sentido, embora tenham encontrado resultados favoráveis no primeiro ano de cultivo em solo de área de Cerrado e mata alterada, Zilli et al. (2009b) observaram que a população de rizóbio do solo foi determinante para nodulação das plantas de feijão-caupi cultivar Mazagão, não sendo verificada resposta positiva à inoculação e produtividade de grãos no segundo cultivo devido ao aumento da população rizobiana. Resultados semelhantes foram obtidos por Osunde et al. (2003) e Kimiti & Odee (2010).

A massa seca de nódulos (MSN) alcançou o valor máximo de 770 mg/planta, referente a uma taxa de 5,34 x 10<sup>6</sup> células de rizóbio/semente, estimada pelo modelo exponencial (Figura 2). A MSN aumentou significativamente (p=0,0009) a partir de 1,9 x 10<sup>5</sup> células de rizóbio/semente, correspondente a 600 mg/planta, mostrando-se a partir desta concentração superior aos tratamentos controle e controle + N, segundo a estimativa do modelo.

O desempenho da estirpe do inóculo foi alterado pela presença da população rizobiana do solo, uma vez que a inoculação apresentou MSN inferior à do tratamento controle quando foram aplicadas taxas entre 6,65 x 10<sup>3</sup> e 6,65 x 10<sup>4</sup> células de rizóbio/semente.

Xavier et al. (2006), avaliando a especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de

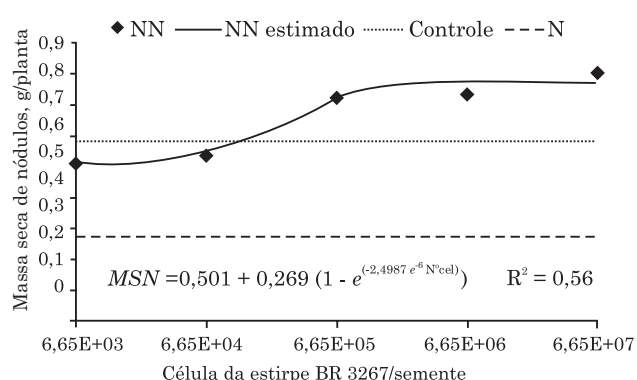
diferentes nacionalidades, comentam que a estirpe BR 3267 foi a única que diferiu significativamente em relação à MSN quando comparada ao controle sem inoculação em solo com população rizobiana nativa de 10<sup>3</sup> rizóbios mL<sup>-1</sup>.

Chagas Júnior et al. (2010), avaliando o efeito da inoculação com cinco estirpes de rizóbio em cultivares de feijão-caupi, relatam que a estirpe BR3267 apresentou, em condições de campo, baixa eficiência para nodulação em relação à da estirpe BR 3262 e semelhante à das estirpes BR 3301 e BR 3302 para a cultivar Nova Era. No entanto, esses autores comentam que, para a cultivar BRS Pujante, a estirpe BR 3267 mostrou alta eficiência em relação à da estirpe 3262 e semelhante à das demais estirpes testadas.

Essa variabilidade na resposta da estirpe BR 3267 pode estar relacionada com a especificidade simbiótica entre estirpes de rizóbios e cultivares de feijão-caupi (Xavier et al., 2006; Leite et al., 2009), como também a diferentes densidades de células do inoculante aplicado nas sementes de feijão-caupi.

O tratamento controle + N apresentou menores NN e MSN em valores absolutos quando comparado ao tratamento controle e às diferentes concentrações da estirpe BR 3267 no inoculante (Figuras 1 e 2). Isso demonstra que a aplicação de N equivalente a 20 kg ha<sup>-1</sup> inibiu a nodulação espontânea em plantas de feijão-caupi, em casa de vegetação. Contudo, Brito et al. (2009) relatam que adição de 27 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia estimulou a nodulação em feijão-caupi, em um experimento de casa de vegetação utilizando vasos plásticos com 5 kg de solo.

Houve efeito significativo (p=0,0020) para a variável massa seca da parte aérea (MSPA) de feijão-



**Figura 2.** Massa seca de nódulos (MSN) por planta de feijão-caupi cultivar BRS Pujante, em função de diferentes concentrações de células da estirpe BR 3267 na semente inoculada. Controle = plantas não inoculadas e sem aplicação de fertilizante nitrogenado; N = plantas não inoculadas e com aplicação de fertilizante nitrogenado; N° cel = número de células da estirpe BR 3267 por semente.

caupi. À medida que houve aumento da concentração de células na semente, aumentou também a MSPA (Figura 3).

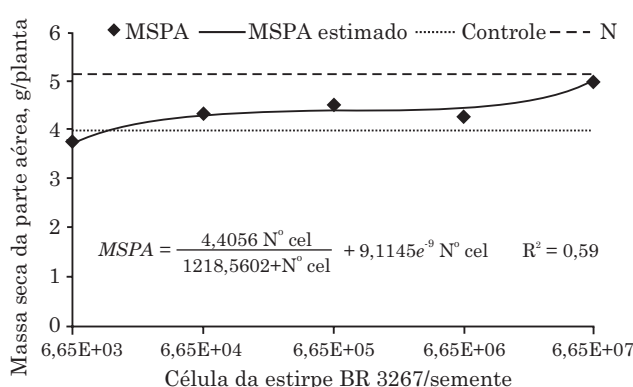
O acúmulo de MSPA foi maior que o do tratamento controle a partir de  $1,2 \times 10^4$  células de rizóbio/semente, segundo a estimativa do modelo. No intervalo entre  $1 \times 10^5$  e  $5 \times 10^6$  células de rizóbio/semente, a MSPA apresentou valores semelhantes.

A aplicação da dosagem mínima recomendada de  $8 \times 10^5$  células de rizóbio/semente apresentou acúmulo de MSPA de 4,41 g/planta; já as plantas do tratamento controle (população rizobiana estabelecida) mostraram acúmulo de MSPA de 3,95 g/planta.

Neste experimento, foi observado que a aplicação da maior taxa de inóculo promoveu aumento da MSPA por planta correspondente a 27 % a mais do que o do tratamento controle. A aplicação da mesma taxa proporcionou o acúmulo de MSPA de 5,03 g/planta, semelhante ao do tratamento controle + N de 5,15 g/planta (Figura 3). Esse resultado evidencia o potencial da estirpe BR3267 em proporcionar crescimento adequado para a cultivar BRS Pujante.

Papakosta (1992) também observou incremento significativo da MSPA após a adição de  $10^5$  células de rizóbio/semente em soja, enquanto Bloem & Law (2001) não observaram diferenças para MSPA de três cultivares de soja em relação à aplicação de  $10^3$  células de rizóbio/semente em solo com população rizobiana nativa de 300 rizóbios g<sup>-1</sup> de solo.

Melo & Zilli (2009), avaliando o potencial simbiótico da cultivar BRS Guariba em campo, relatam que a estirpe BR 3267 apresentou a maior MSPA em relação à do tratamento controle de  $1,9 \times 10^3$  rizóbios g<sup>-1</sup> de solo seco e semelhante à aplicação de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N.



**Figura 3.** Massa seca da parte aérea (MSPA) por planta de feijão caupi cultivar BRS Pujante, em função de diferentes concentrações de células da estirpe BR 3267 na semente inoculada. Controle = plantas não inoculadas e sem aplicação de fertilizante nitrogenado; N = plantas não inoculadas e com aplicação de fertilizante nitrogenado; N° cel = número de células da estirpe BR 3267 por semente.

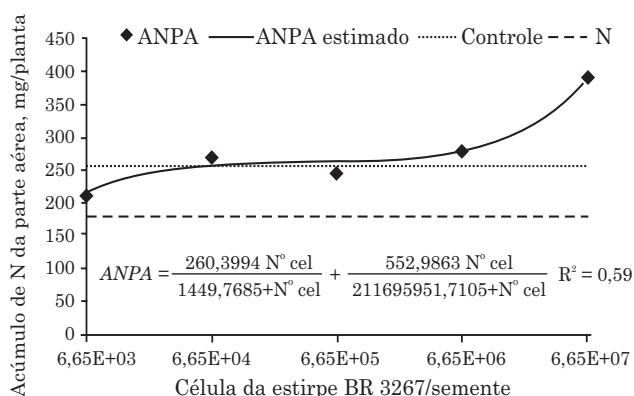
Em ensaio de campo, Zilli et al. (2009b) constataram que a estirpe BR3267, juntamente com BR 3262, proporcionou maior efetividade à produção da MSPA. O mesmo resultado favorável foi encontrado por Zilli et al. (2006), observando que o acúmulo de MSPA pela estirpe foi superior ao dos quatro diferentes tratamentos com inoculação, além do tratamento nitrogenado.

O acúmulo de N na parte aérea (ANPA) de plantas de feijão-caupi submetidas a diferentes taxas de aplicação do inóculo foi maior quando comparado ao do tratamento controle + N, segundo a estimativa do modelo hiperbólico (Figura 4). Além disso, o ANPA foi superior ao tratamento controle a partir da taxa de aplicação de  $4 \times 10^5$  células de rizóbio/semente.

A baixa nodulação ocorrida no tratamento controle + N restringiu o acúmulo de N na parte aérea de plantas de feijão-caupi, sugerindo que grande parte do N acumulado nas plantas cultivadas no solo em estudo foi proveniente da FBN. Nesse sentido, Brito et al. (2009) relatam que 93 % do N acumulado em planta de feijão-caupi foi derivado da FBN com estirpe BR 2001, quando aplicados 27 kg ha<sup>-1</sup> de N.

A aplicação de  $8 \times 10^5$  células de rizóbio/semente correspondeu a 262 mg de N/planta e mostrou-se maior que a população rizobiana estabelecida (tratamento controle), que acumulou 256 mg de N/planta. Quando aplicada uma dose de  $6,65 \times 10^7$  células de rizóbio/semente, as plantas acumularam 392 mg de N na parte aérea.

Neste ensaio, a inoculação com a estirpe BR3267 a partir da aplicação de  $8 \times 10^5$  células de rizóbio/semente forneceu a maior quantidade de N para as plantas (Figura 4). A aplicação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N e a população rizobiana estabelecida no solo foram insuficientes para suprir a demanda de N em plantas de feijão-caupi.



**Figura 4.** Acúmulo de N na parte aérea (ANPA) por planta de feijão caupi cultivar BRS Pujante, em função de diferentes concentrações de células da estirpe BR 3267 na semente inoculada. Controle = plantas não inoculadas e sem aplicação de fertilizante nitrogenado; N = plantas não inoculadas e com aplicação de fertilizante nitrogenado; N° cel = número de células da estirpe BR 3267 por semente.

Resposta semelhante foi relatada por Danso & Owiredo (1988). Esses autores verificaram que em solos com população rizobiana elevada o aumento da taxa de inóculo favoreceu o ANPA em plantas de feijão-caupi. Contudo, Brockwell et al. (1995) comentam que a inoculação em solos que apresentam população rizobiana estabelecida acima de  $10^3$  rizóbios  $\text{g}^{-1}$  de solo é viável, desde que a maioria dos rizóbios seja ineficiente para a leguminosa em estudo.

Os resultados apresentados demonstram a capacidade da estirpe BR3267 em estabelecer simbiose eficiente com a cultivar BRS Pujante em solo com elevada população rizobiana, sendo essa eficiência proporcional ao aumento da taxa de inóculo.

A técnica da inoculação pode ser viável à medida que rizóbios competitivos e eficientes são aplicados em quantidades adequadas, o que contribuirá para o aumento de produtividade do feijão-caupi. Contudo, há necessidade de estudos em campo, objetivando a indicação da quantidade de inóculo a ser aplicada em função de cada estirpe de rizóbio utilizada.

## CONCLUSÕES

1. À medida que se elevou a taxa de inóculo, aumentaram a nodulação e a contribuição da FBN para o crescimento de plantas de feijão-caupi.

2. Em solo com população de  $10^3$  rizóbios  $\text{g}^{-1}$  de solo a inoculação com taxas de inóculo acima de  $6,65 \times 10^6$  células da estirpe BR 3267/semente proporciona maior nodulação e maior quantidade de N acumulado nas plantas de feijão-caupi.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de produtividade em pesquisa, mestrado e doutorado; à CAPES, pela concessão de bolsa de doutorado; e à Embrapa Agrobiologia, pela concessão das estirpes utilizadas neste projeto.

## LITERATURA CITADA

- ANDRADE, D.S. & HAMAKAWA, P.J. Estimativa do número de células de rizóbio no solo e no inoculante por infecção em planta. In: HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S., eds. Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola. Brasília, Embrapa, 1994. p.63-94.
- ARAÚJO, F.F.; CARMONA, F.G.; TIRITAN, C.S. & CRESTE, J.E. Fixação biológica de  $\text{N}_2$  no feijoeiro submetido a dosagens de inoculante e tratamento químico na semente comparado à adubação nitrogenada. Acta Sci. Agron., 29:535-540, 2007.
- BEZERRA NETO, E. & BARRETO, L.P. Métodos de análises químicas em plantas. Recife, Imprensa Universitária da UFRPE, 2004. 165p.
- BLOEM, J.F. & LAW, I.J. Determination of competitive abilities of *Bradyrhizobium japonicum* strains in soils from soybean production regions in South Africa. Biol. Fert. Soils, 33:181-189, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 30, de 12 de novembro de 2010. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de nov. de 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 325, de 14 de set. de 2009. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de set. de 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 24 de mar. de 2011. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 de mar. de 2011.
- BRITO, M.M.P.; MURAOKA, T. & SILVA, E.C. Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) walp.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de  $^{15}\text{N}$ . R. Bras. Ci. Solo, 33:1215-1226, 2009.
- BROCKWELL, J.; BOTTOMLEY, P.J. & THIES, J.E. Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. Plant Soil, 174:143-180, 1995.
- CHAGAS JÚNIOR, A.F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R.R.; SANTOS, G.R. & CHAGAS, L.F.B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. R. Ci. Agron., 41:709-714, 2010.
- DANSO, S.K.A. & OWIREDO, J.D. Competitiveness of introduced and indigenous cowpea *Bradyrhizobium* strains for nodule formation on cowpeas [*Vigna unguiculata* (L.) walp.] in three soils. Soil Biol. Biochem., 20:305-310, 1988.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. Manual de métodos de análise de solos. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- FENING, J.O. & DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. Appl. Soil Ecol., 21:23-29, 2002.
- FILGUEIRAS, G.C.; SANTOS, M.A.S.; HOMMA, A.K.O.; REBELLO, F.K. & CRAVO, M.S. Aspectos socioeconômicos. In: ZILLI, J.E.; VILARINHO, A.A. & ALVES, J.M.A., eds. A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2009. p.23-58.
- FREIRE-FILHO, F.R.; VILARINHO, A.A.; CRAVO, M.S. & CAVALCANTE, E.S. Panorama da cultura do feijão-caupi no Brasil. In: WORKSHOP SOBRE A CULTURA DO FEIJÃO-CAUPI EM RORAIMA, 2007, Boa Vista. Anais... Boa Vista, Embrapa Roraima, 2007. p.2-12 (Documentos, 4).
- FROTA, K.M.G.; SOARES, R.A.M. & ARÊAS, J.A.G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. Ci. Tecnol. Alim., 28:470-476, 2008.



- HAFEEZ, F.Y.; NAEEM, F.; SHAHEEN, N. & MALIK, K.A. Nodulation of *Sesbania* spp., by introduced rhizobia in competition with naturalized strains in different soil types. *Pak. J. Bot.*, 39:919-929, 2007.
- KIMITI, J.M. & ODEE, D.W. Integrated soil fertility management enhances population and effectiveness of indigenous cowpea rhizobia in semi-arid eastern Kenya. *Appl. Soil Ecol.*, 45:304-309, 2010.
- KRASOVA-WADE, T.; DIOUF, O.; NDOYE, I.; SALL, C.E.; BRACONNIER, S. & NEYRA, M. Water-condition effects on rhizobia competition for cowpea nodule occupancy. *Afr. J. Biotechnol.*, 5:1457-1463, 2006.
- LEITE, J.; SEIDO, S.L.; PASSOS, S.R.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. & MARTINS, L.M.V. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soils of the lower half of the São Francisco river valley. *R. Bras. Ci. Solo*, 33:1215-1226, 2009.
- MELO, F.B.; CARDOSO, M.J. & SALVIANO, A.A.C. Fertilidade do solo e adubação. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.A. & RIBEIRO, V.Q., eds. Feijão-caupi: Avanços tecnológicos. Brasília, Embrapa, 2005. p.229-242.
- MELO, S.R. & ZILLI, J.E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão caupi recomendadas para o Estado de Roraima. *Pesq. Agropec. Bras.*, 44:1177-1183, 2009.
- NAZIH, N. & WEAVER, R.W. Numbers of clover rhizobia needed for crown nodulation and early growth of clover in soil. *Biol. Fert. Soils*, 17:121-124, 1994.
- OKA-KIRA, E. & KAWAGUCHI, M. Long-distance signaling to control root nodule number. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 9:496-502, 2006.
- OLIVEIRA, I.P. & CARVALHO, A.M. A cultura do caupi nas condições de clima e de solo dos trópicos úmido e semi-árido do Brasil. In: ARAÚJO, J.P.P. & WATT, E.E., eds. O caupi no Brasil. Brasília, Ita/Embrapa, 1988. p.63-96.
- OSUNDE, A.O.; GWAM, S.; BALA, A.; SANGINGA, N. & OKOGUN, J.A. Responses to rhizobial inoculation by two promiscuous soybean cultivars in soils of the Southern Guinea savanna zone of Nigeria. *Soil Biol. Biochem.*, 37:274-279, 2003.
- PAPAKOSTA, D.K. Effect of inoculant rate on nodulation and various agronomic traits of soybean. *J. Agron. Crop Sci.*, 168:238-242, 1992.
- RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; MARTINS, L.M.V.; MORGADO, L.B. & NEVES, M.C.P. Feijão-caupi tem uma nova estirpe de rizóbio, BR3267, recomendada como inoculante. *Seropédica, Embrapa Agrobiologia*, 2006. 16p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 15).
- SANGINGA, N.; THOTTAPPILLY, G. & DASHIELL, K. Effectiveness of rhizobia nodulating recent promiscuous soybean selections in the moist savanna of Nigeria. *Soil Biol. Biochem.*, 32:127-133, 2000.
- SOARES, A.L.L.; FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, J.P.A.R.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B. & MOREIRA, F.M.S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG): II feijoeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 30:803-811, 2006.
- SYSTAT SOFTWARE INC. Sigmaplot. 10.0. Cary, 2006.
- URENHA, L.C.; PRADELLA, J.G.C.; OLIVEIRA, M.S. & BONOMI, A. Produção de massa celular de rizóbio. In: HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S., eds. Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola. Brasília, Embrapa, 1994. p.95-137.
- VIEIRA NETO, S.A.; PIRES, F.R.; MENEZES, C.C.E.; MENEZES, J.F.S.; SILVA, A.G.; SILVA, G.P. & ASSIS, R.L. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:861-870, 2008.
- VINCENT, J.M. Manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1970. 164p. (IBP Handbook, 15).
- 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*, 19:25-33, 2006.
- ZILLI, J.E.; XAVIER, G.R.; MOREIRA, F.M.S.; FREITAS, A.C.R. & OLIVEIRA, L.A. Fixação biológica de nitrogênio. In: ZILLI, J.E.; VILARINHO, A.A. & ALVES, J.M.A., eds. A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2009a. p.185-22.
- ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; RUMJANEK, N.G. & XAVIER, G.R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. *Acta Amaz.*, 39:749-758, 2009b.
- ZILLI, J.E.; VALICHESKI, R.R.; RUMJANEK, N.G.; SIMÕES ARAÚJO, J.L.; FREIRE-FILHO, F.R. & NEVES, M.C.P. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41:811-818, 2006.
- ZILLI, J.E.; VALISHESKI, R.R.; FREIRE-FILHO, F.R.; NEVES, M.C.P. & RUMJANEK, N.G. Assessment of cowpea rhizobium diversity in cerrado areas of northeastern Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 35:281-287, 2004.