

RANIERI PEREIRA DA SILVA

## **INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO EM CAUPI NO SERTÃO DA PARAIBA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, para obtenção do título de Mestre.

R E C I F E

PERNAMBUCO – BRASIL

2006

RANIERI PEREIRA DA SILVA

## **INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO EM CAUPI NO SERTÃO DA PARAIBA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora:

Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, Dr<sup>a</sup>.

Co – Orientadores:

Prof. Mario de Andrade Lira Junior, Ph.D

Prof. Newton Pereira Stamford, Ph.D

RECIFE

PERNAMBUCO – BRASIL

2006

Ficha catalográfica  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

S586i Silva, Ranieri Pereira da  
Inoculação com rizóbio em caupi no sertão da Paraíba /  
Ranieri Pereira da Silva. -- 2006.  
29 f. : il.

Orientadora: Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos.  
Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.  
Inclui bibliografia.

CDD 631.46

1. Microbiologia do solo
2. Rizóbio
3. Inoculação
4. FBN
5. Caupi
6. Paraíba (BR)
  - I. Santos, Carolina Etienne de Rosália e Silva
  - II. Título

Suely Manzi  
Bibliotecária  
CRB 809

# **INOCULAÇÃO COM RIZÓBIO EM CAUPI NO SERTÃO DA PARAIBA**

**RANIERI PEREIRA DA SILVA**

**Dissertação defendida e aprovada em 13 de março de 2006 pela banca  
examinadora:**

Orientadora:

---

Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, Dr<sup>a</sup>.

Examinadores:

---

Prof<sup>o</sup>. Clodoaldo José da Anunciação Filho, Ph.D

---

Prof<sup>a</sup>. Maria de Fátima Cavalcanti Barros, Dr<sup>a</sup>.

---

Prof<sup>o</sup>. Mario de Andrade Lira Junior, Ph.D

Ao meu pai, Valentim Pereira da Silva (in memorian)

À minha mãe, Maria do Socorro Pinheiro da Silva

À minha esposa, Maria Dantas de Oliveira Pereira

Ao meu Filho, Pedro Dantas de Oliveira Neto

À minha filha, Yasmin Dantas Pereira

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por tudo que tenho conseguido.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela realização deste curso.

A Escola Agrotécnica Federal de Sousa, por proporcionar-me a realização deste curso.

A Escola Agrotécnica Federal do Crato, pelo apoio concedido nas suas instalações.

A minha orientadora, Dr<sup>a</sup>. Carolina Etienne de Rosália Silva Santos, pela sugestão do tema da pesquisa, pela sua orientação em todas as etapas deste trabalho e principalmente pela sua simplicidade.

Aos Co-orientadores: Prof. Ph.D Mario de Andrade Lira Junior, pela realização das análises estatísticas e esclarecimentos e Prof. Ph.D Newton Pereira Stamford, pelas sugestões e esclarecimentos.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo durante o primeiro ano de realização do Curso, Prof. Dr. Fernando José Freire, por ousar em extrapolar os muros da UFRPE, oportunizando para que professores e técnicos das Escolas Agrotécnicas Federais de Sousa-PB, Crato-CE e Iguatu-CE realizassem seus mestrados.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Prof. Ph.D Emídio Cantídio de Oliveira Filho, pelo apoio dado aos mestrados das Escolas Agrotécnicas de Crato, Iguatu e Sousa.

A vice-coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Betânia Galvão dos Santos Freire, pelo apoio dado aos mestrados das Escolas Agrotécnicas de Crato, Iguatu e Sousa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pelos ensinamentos transmitidos.

A Hermano de Oliveira Rolim, Engenheiro Agrônomo da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, pelo apoio dado nas análises químicas.

A Miguel Wanderley de Andrade Filho, Engenheiro Agrônomo da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, pelo apoio dado nas análises físicas.

A Ednaldo Barbosa Junior, Laboratorista da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, pela colaboração nas moagens do material para análise.

Ao Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco pela doação dos inoculantes.

A João Jácome de Oliveira, professor da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, por substituir-me nas minhas aulas quando estava ausente.

A Hílvaro Marques Moreira, estagiário da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, pela colaboração na instalação do experimento e em algumas coletas de plantas.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Maria do Socorro Santana e Severino dos Ramos Basto, pelo apoio.

Aos colegas de turma: Gauberto, Freitas, Pedro, Normando, Zane, Homero, Ulisses, Éder, Rita e Cleópatra, pela excelente convivência.

A Antonio Alves de Sousa Junior, funcionário da Escola Agrotécnica Federal de Sousa, pela colaboração na formatação do texto.

| <b>SUMÁRIO</b>  |     |
|---|-----|
| <b>LISTA DE FIGURAS</b>                                   | ix  |
| <b>LISTA DE TABELAS</b>                                   | x   |
| <b>RESUMO</b>   | xi  |
| <b>ABSTRACT</b>   | xii |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                      | 1   |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                           | 3   |
| 2.1. Fixação biológica do nitrogênio                      | 3   |
| 2.2. Simbiose leguminosa - rizóbio                        | 4   |
| 2.3. Fatores que afetam a fixação biológica do nitrogênio | 6   |
| 2.4. Nitrogênio mineral                                   | 7   |
| 2.5. Seleção de estirpes de rizóbio                       | 8   |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>                              | 10  |
| 3.1. Localização do experimento                           | 10  |
| 3.2. Caracterização climática e do solo                   | 10  |
| 3.3. Dados meteorológicos durante o período experimental  | 11  |
| 3.4. Tratamentos  | 12  |
| 3.5. Características das estirpes utilizadas              | 12  |
| 3.6. Características da cultivar utilizada                | 13  |
| 3.7. Preparo do solo e adubação                           | 14  |
| 3.8. Inoculantes e sementes do caupi                      | 14  |
| 3.9. Implantação e condução do experimento                | 14  |
| 3.10. Coleta de plantas                                   | 15  |
| 3.11. Delineamento experimental e análise estatística     | 16  |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                          | 17  |
| 4.1. Número de nódulos pequenos (NNP)                     | 17  |
| 4.2. Número de nódulos grandes (NNG)                      | 18  |
| 4.3. Número de nódulos (NN)                               | 19  |
| 4.4. Massa seca de nódulos (MSN)                          | 19  |
| 4.5. Massa seca da parte aérea (MSPA)                     | 20  |
| 4.6. Eficiência relativa (ER)                             | 21  |
| 4.7. Teor de N total na parte aérea (TNPA)                | 21  |
| 4.8. Acumulação de N total na parte aérea (ANPA)          | 22  |
| <b>5. CONCLUSÃO</b>                                       | 24  |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                      | 25  |



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Evapotranspiração potencial de referência (ET<sub>o</sub>), Precipitação pluviométrica e irrigações na área do experimento (município de Sousa, PB).....10

**Figura 2.** Coleta das plantas aos 17 d.a.e. para avaliações do número e massa seca de nódulos, massa de material seco, teor e acúmulo de N e eficiência relativa da parte aérea.....14

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Atributos químicos do solo onde foi instalado o experimento.....   | 10 |
| Tabela 2. Atributos físicos do solo onde foi instalado o experimento.....  | 11 |
| Tabela 3. Médias e amplitudes da temperatura do solo (°C) a três profundidades (10, 20 e 30 cm), durante os meses de abril a junho, na área experimental (município de Sousa, PB).....   | 12 |
| Tabela 4. Resultado da análise de variância e os níveis de significância dos dados relacionados ao número de nódulos pequenos (NNP); números de nódulos grandes (NNG); números de nódulos (NN); massa seca dos nódulos (MSN); massa seca da parte aérea (MSPA); eficiência relativa (ER); Teor de N-total na parte aérea (TNPA); acúmulo de N na parte aérea (ANPA). Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB..... | 17 |
| Tabela 5. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos pequenos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....   | 18 |
| Tabela 6. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos grandes. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....  | 18 |
| Tabela 7. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....  | 19 |
| Tabela 8. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a massa seca dos nódulos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....  | 20 |
| Tabela 9. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a massa seca da parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....   | 20 |
| Tabela 10. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a eficiência relativa. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....  | 21 |
| Tabela 11. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao teor de N total na parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....  | 22 |
| Tabela 12. Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao acúmulo de N na parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.....   | 22 |

## RESUMO

Foi conduzido um experimento no campo, no delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições, para avaliar a inoculação com rizóbio na nodulação do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] cultivado em um planossolo do sertão paraibano. Foram testados dois isolados nativos do solo onde foi realizado o experimento, três estirpes recomendadas pela RELARE (BR 3267, INPA 3-11B e UFLA 3-84) e uma selecionada pela UFRPE (NFB 700), inoculadas na cultivar de caupi CNCx 409-11F. O experimento contou ainda com duas testemunhas: uma com adição de nitrogênio mineral e outra sem nitrogênio mineral, ambas sem inoculação. Foram feitas avaliações da nodulação (número e massa seca dos nódulos), massa seca, teor e acúmulo de N total e eficiência relativa da parte aérea, aos 17 dias após a emergência. Houve efeito significativo entre os tratamentos, para número e massa seca de nódulos, matéria seca, N total acumulado e eficiência relativa do N total na parte aérea. Os resultados sugerem a existência de população rizobiana autóctone muito efetiva na fixação de nitrogênio com o caupi. As estirpes INPA 3-11B, BR 3267 e UFLA 3-84 são mais eficientes na nodulação e na fixação de N<sub>2</sub> que os isolados nativos e a estirpe NFB-700, quando inoculadas em feijão caupi, cultivado em um planossolo do sertão da Paraíba. A adição de N fertilizante (50 kg ha<sup>-1</sup>) reduz a nodulação e na fixação de N<sub>2</sub> em caupi.

## ABSTRACT

A field experiment was conducted using a randomized block design, with four replicates, to evaluate rhizobial inoculation on cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] grown on a soil of the "Sertão da Paraíba" (Planossolo). Two native isolates from the soil, three RELARE recommended strains (BR 3267, INPA 3-11B e UFLA 3-84) and an UFRPE selected strain (NFB 700) were inoculated on cowpea cultivar CNCx 409-11F. Two control treatments were also used: one with mineral nitrogen, and the other without added mineral nitrogen, both uninoculated. Nodulation (nodule number and dry mass), aerial part dry mass, N content and total N and relative efficiency, at 17 days after emergence were evaluated. It was observed significant effect to number and dry matter of nodules, dry matter, total N accumulated and relative efficiency of total N accumulated on shoot dry matter. The results suggest the occurrence of native rhizobial population in soil with effective nitrogen fixation on cowpea. Strains INPA 3-11B, BR 3267 and UFLA 3-84 were more effective on nodulation and nitrogen fixation than native rhizobia and strain NFB 700, when inoculated on cowpea grown in a Planossol of the "Sertão da Paraíba". Nitrogen fertilization ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$ ) reduces nodulation and nitrogen fixation on cowpea.

# 1. INTRODUÇÃO

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é nativo da África e bastante cultivado nas regiões tropicais dos continentes africano, asiático e americano, constituindo a principal fonte de proteína, principalmente para populações de baixa renda (Freire Filho et al., 1998). É uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média) e de carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média) e não contém colesterol (EMBRAPA, 2003). É também superior ao feijão comum *Phaseolus vulgaris* L. em termos nutricionais (Bevitori et al. 1992, Araújo e Watt, 1988).

No Nordeste brasileiro o feijão caupi é mais conhecido por feijão macassar ou feijão de corda e é uma das principais culturas desta região, sendo considerado fonte de renda alternativa e alimento básico para sua população. É consumido sob as formas de grãos secos e verdes, além de seus caules e ramos serem usualmente utilizados na alimentação animal (Silva e Oliveira, 1993). Além disso, por sua capacidade de se desenvolver satisfatoriamente em solos de baixa fertilidade e por sua rusticidade, o feijão caupi é considerado uma opção como fonte de matéria orgânica. Nessa forma, é utilizado como adubo verde na recuperação de solos naturalmente pobres em fertilidade, ou esgotados pelo uso intensivo, muito comuns no Nordeste (Oliveira e Carvalho, 1988). Apresenta também, como características principais, a alta tolerância a estresse hídrico, térmico e salino, sendo capaz de se beneficiar da fixação biológica de nitrogênio quando em associação com bactérias conhecidas como rizóbio (Martins et al., 1997).

No estado da Paraíba, o feijão caupi é plantado em quase todas as micro-regiões das áreas onde se cultiva feijão. As quase totalidades dos plantios são feitas em consórcio, principalmente com o milho, adotando-se o regime de parceria na maioria das propriedades.

Historicamente, essa cultura apresenta baixa produtividade, devido às condições de cultivos sem adoção de tecnologias avançadas. Isto porque em condições de experimento e lavouras com melhor uso de tecnologia, o feijão caupi tem apresentado alto potencial produtivo, o que em geral não tem sido explorado.

A produtividade desta cultura seria aumentada pelo uso de inoculantes de rizóbios eficientes, e assim, poderia suprir as necessidades de nitrogênio da planta (Zilli, 2001).

No Brasil, a importância econômica da pesquisa em fixação biológica de  $N_2$ , pode ser exemplificada pelos resultados obtidos com a soja, que devido ao melhoramento vegetal e seleção de rizóbios adaptados, chegou a dispensar o uso de adubo nitrogenado, e com isto, anualmente, retorna ao sistema solo-planta um montante de nitrogênio equivalente a três bilhões de dólares (Hungria e Campo, 2005).

Estirpes de rizóbios eficientes já foram selecionadas para cerca de 100 espécies por várias instituições de pesquisa brasileira, no entanto, do total de cerca de 26 milhões de doses de inoculantes comercializadas (produzidos no Brasil e importados) em 2003, 99% são para a cultura da soja e apenas 1% para as outras espécies, especialmente para o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Portanto, é imprescindível a difusão desta biotecnologia, de baixíssimo custo, para as outras culturas de leguminosas, especialmente para aquelas como o feijão caupi, cultivadas por pequenos agricultores para sua subsistência (Moreira, 2004).

Os adubos nitrogenados, além de caros, oferecem riscos ao meio ambiente, uma vez que excessivas quantidades de nitrato podem contaminar as águas subterrâneas, com efeitos sobre os mananciais e para a saúde humana. Existe também a possibilidade de ocorrer a desnitrificação do nitrato por bactérias específicas, causando o desprendimento de óxido nítrico, que terá uma influência negativa na camada de ozônio (Vieira, 2004).

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da inoculação com rizóbio na nodulação do caupi cultivado em um planossolo do sertão da Paraíba.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)

O nitrogênio é geralmente considerado um dos nutrientes mais limitantes para o crescimento de plantas no seu ambiente natural (Franco e Döbereiner, 1994). Considerando que a atmosfera terrestre é composta de 78% de gás dinitrogênio ( $N_2$ ), a introdução do nitrogênio atmosférico, via fixação biológica de nitrogênio (FBN), tem, frequentemente efeitos positivos no ambiente e na economia (Stacey et al., 1992). O problema básico para a fixação do nitrogênio é a presença da tripla ligação, o que torna este gás extremamente estável a temperatura ambiente (Sprent e Sprent, 1990; Evans e Burris, 1992).

Apesar de termodinamicamente favorável, a reação de redução de nitrogênio atmosférico a amônia (fixação biológica do nitrogênio) requer uma energia de ativação extremamente alta, não ocorrendo espontaneamente sem a presença de catalisadores adequados. Na indústria, por exemplo, o processo de fixação do nitrogênio, como o desenvolvido por Haber-Bosch para a síntese de amônia emprega altas temperaturas (superior a 300 °C) e pressões acima de 800 atm, sendo utilizados catalisadores a base de ferro (Kim e Rees, 1994). A principal finalidade da amônia produzida é a fabricação de fertilizantes, e mais de 100 milhões de toneladas são anualmente usados na agricultura, apresentando uma demanda que implica grandes custos financeiros, energéticos e, sobretudo, ambientais (Newton, 2000).

Na natureza, somente um pequeno número de microrganismos, denominados diazotróficos ou fixadores de nitrogênio, é capaz de reduzir nitrogênio atmosférico à amônia. Esse processo, chamado de fixação biológica do nitrogênio (FBN), é realizado pela enzima nitrogenase, um complexo protéico que catalisa a reação (Eady e Postgate, 1974). A participação da FBN no ciclo biogeoquímico do nitrogênio é, sobretudo importante na medida em que a atividade das bactérias diazotróficas representa cerca de 60% do nitrogênio anualmente fixado na Terra

(Kim e Rees, 1994). Além disso, a FBN é o processo primário através do qual o nitrogênio, quimicamente indisponível para a maioria dos organismos, se torna fisiológica e metabolicamente disponível, inicialmente sob a forma de amônia e, posteriormente, na ciclagem do nitrogênio, podendo formar outros compostos nitrogenados, como nitritos, nitratos e óxido nítrico (Ferguson, 1998)

Em todas as leguminosas a fixação de  $N_2$  não é iniciada até que a planta possa sustentar esta atividade, ou seja, ceder energia para que a bactéria possa entrar em atividade e fornecer o nitrogênio necessário, ou até que se esgote o nitrogênio presente na semente, e a planta, portanto, venha a sentir a falta deste elemento (Mercante et al., 1992).

A partir dos 25 dias da germinação, a necessidade do caupi em nitrogênio é suprida pela fixação do nitrogênio atmosférico, estendendo-se até a floração (Vasconcelos et al. 1976a; Stamford e Neptune, 1979). Essa leguminosa apresenta, normalmente, alta capacidade de nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio na presença de população adequada de rizóbios no solo. Segundo Rackie e Roberts (1974) a quantidade de nitrogênio fixada pelo caupi pode variar entre 73 e 240 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Essa quantidade de nitrogênio fixada pelo processo simbiótico, somada à que o caupi retira do solo, seria suficiente para atender às necessidades da planta (Barreto e Dynia, 1988).

Quando o solo contém suficiente quantidade de N para suprir a demanda da planta, a quantidade de  $N_2$  fixada será pequena, evidenciando que a nitrogenase é um processo flexível que ajusta a demanda da planta por N (Mengel, 1994).

## **2.2. Simbiose leguminosa – rizóbio**

Dentre as associações entre bactérias fixadoras e plantas, a que ocorre entre bactérias comumente chamadas de rizóbio e leguminosas é a mais conhecida. As leguminosas quando em associação com estas bactérias formam estruturas em suas raízes, denominadas nódulos, nos quais ocorre o processo de fixação do nitrogênio atmosférico que é utilizado pela planta para o seu desenvolvimento. Uma associação rizóbio x leguminosa eficiente, na qual a necessidade da planta por nitrogênio seja suprida, é o alvo de muitas pesquisas que são desenvolvidas no mundo,



principalmente nos trópicos, uma vez que o nitrogênio é um dos elementos do solo mais limitantes da produção nestas áreas (Franco e Balieiro, 2000).

Até 1984 os rizóbios eram classificados em uma única família, com dois gêneros e seis espécies. Atualmente, os rizóbios encontram-se em quatro famílias (*Bradyrhizobiaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Rhizo-biaceae*), seis gêneros (*Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*), mais de 30 espécies e vários biovares, todos na ordem *Rhizobiales* (Garrity e Holt, 2001).

O caupi, de uma maneira geral, é nodulado por espécies do gênero *Bradyrhizobium*, e sob esta denominação estão agrupados um grande número de estirpes capazes de nodular inúmeras espécies de leguminosas comuns nas regiões tropicais (Neves et al., 1998).

A formação dos nódulos é um processo complexo que ocorre em várias etapas e envolve mudanças fisiológicas e morfológicas, tanto na célula hospedeira, como na bactéria. As mudanças na bactéria visam, principalmente, o recebimento de fontes de carbono da planta hospedeira, para prover o ATP e poder redutor, necessários para o processo de FBN, enquanto que as mudanças na planta hospedeira visam assimilar a amônia produzida pelas bactérias (Hungria e Campo, 2005).

Espécies de leguminosas tropicais, normalmente são capazes de nodular com uma ampla faixa de rizóbios, contribuindo, desta forma, para a Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN) nessas regiões. Por outro lado, a introdução de inoculantes contendo rizóbios eficientes, é dificultada, pois as estirpes nativas, em geral, são muito competitivas (Santos, 2001). Frente a esta situação, torna-se interessante estudar estratégias para avaliar a composição e a contribuição de estirpes de rizóbios nativos do solo onde se pretende introduzir o inoculante visando realizar uma eficiente fixação do  $N_2$  (Zilli, 2001).

Estudos da simbiose caupi - rizóbio, principalmente envolvendo aspectos ecológicos, como competitividade e sobrevivência da estirpe do inoculante precisam ser considerados paralelamente aos esforços no sentido de otimizar o processo de fixação biológica de nitrogênio (Martins et al. 1997)

Experimentos realizados por Rangel et al. (2001), mostraram que a inoculação durante dois anos consecutivos foi capaz de aumentar a população

relativa das estirpes BR 3267 e BR 3269 usadas no inoculante, indicando ser esta uma estratégia para melhorar o estabelecimento de estirpes eficientes no solo.

### **2.3. Fatores que afetam a FBN**

Inoculação de leguminosas com estirpes eficientes, para promover a fixação simbiótica de nitrogênio e aumentar a produção, é uma prática agrícola muito utilizada. No entanto, a resposta da planta à inoculação é determinada por uma variedade de fatores bióticos e abióticos. Em condições de clima tropical, os principais fatores abióticos que afetam o potencial da fixação biológica de nitrogênio são: acidez e toxidez de alumínio, salinidade e baixa fertilidade do solo (Thies *et al.*, 1991a). Temperaturas do solo elevadas têm, freqüentemente, representando um dos principais fatores climáticos limitantes a FBN em regiões tropicais, uma vez que afetam praticamente todas as etapas de crescimento do rizóbio e das plantas hospedeiras, sendo os efeitos ainda mais drásticos na simbiose (Hungria e Vargas, 2000). Tem-se considerado, tradicionalmente, que os limites de temperatura para a FBN com leguminosas tropicais se situam entre 27°C e 40°C (Hungria e Vargas, 2000). Outro fator climático muito importante é a precipitação pluviométrica. Período de seca antes da germinação pode afetar a nodulação, sendo mais drástico o efeito quanto maior for o intervalo de tempo (Vargas e Suhet, 1980). Os trabalhos de Stamford *et al.* (1990), revelaram que a suspensão de água na 2ª e 5ª semana reduziu o peso dos nódulos e o acúmulo de N-total da parte aérea de plantas de caupi.

Com relação aos fatores bióticos podemos destacar a presença de uma grande diversidade de antagonistas, bacteriófagos, predadores de nódulos (Franco e Neves, 1992) e, principalmente, alta densidade populacional e competitividade de rizóbios nativos, que constitui uma verdadeira barreira no estabelecimento da inoculação, uma vez que competem pela ocupação dos sítios de infecção nas raízes das plantas hospedeiras. Segundo Singleton e Tavares (1986), acima de 20 rizóbios nativos por grama de solo, diminuem o estabelecimento de rizóbios inoculados. Weaver e Frederick (1974), estimaram que há necessidade de inocular 1.000 vezes mais rizóbio na semente do que o número de rizóbio no solo para que as estirpes

superem as do solo, na formação de nódulos. Por outro lado, Thies *et al.* (1991a), propõem que essa relação seja 100:1. Estes autores observaram que a partir de 7 células de rizóbios nativos por grama de solo, não há respostas na inoculação e que quando a quantidade de nitrogênio fixado pela população nativa é adequada para atender a demanda da cultura, o uso de inoculante de elite não promove aumentos na produção.

Outro fator que afeta a eficiência do processo de FBN, no sistema rizóbio-feijão, é a disponibilidade de carboidratos para os nódulos, tanto em quantidade como em qualidade. Na época de formação das vagens, a planta diminui o fluxo de carboidratos para os nódulos, limitando a FBN (Law *et al.*, 1974). Variedades com maior capacidade de manter a constância do fluxo de carboidratos para os nódulos tem mostrado maior eficiência no processo de fixação (Graham e Halliday, 1976; Adms *et al.*, 1978).

Muitas vezes a inoculação das lavouras de caupi com estirpes de rizóbio selecionadas não apresenta contribuição significativa para o acúmulo de nitrogênio. Este fato é atribuído em parte pela capacidade do caupi associar-se com várias espécies e estirpes de rizóbio. Em solos de regiões tropicais tem sido observada a presença de elevada quantidade de *Bradyrhizobium* sp. que normalmente são bastante competitivas na formação de nódulos, porém, muito variáveis quanto a eficiência simbiótica (Neves e Rumjanek, 1997). Estas estirpes acabam impedindo a formação de nódulos pela estirpe inoculante. Neste contexto estudos de seleção de inoculantes que privilegiem testes com rizóbios nativos ou naturalizados no local de seleção, têm sido considerados capazes de apresentar melhores resultados, à medida que estirpes já estabelecidas no solo, normalmente são mais competitivas que estirpes introduzidas de outros locais (Thies *et al.*, 1991b).

#### **2.4. Nitrogênio mineral**

O nitrogênio mineral afeta a simbiose de várias formas (Pereira, 1982). Em excesso o N mineral pode causar uma diminuição da eficiência simbiótica, porém quando em pequenas quantidades aplicadas na cultura do feijão, permite um aumento no crescimento dos nódulos e maior fixação de nitrogênio, sendo que

teores muito baixos de nitrato no solo podem ser limitantes na atividade simbiótica (Ruschel e Saito, 1977).

Quando o nível inicial de nitrogênio no solo é baixo, o período de alta demanda por nitrogênio pela planta é retardado, podendo reduzir a produção, a nodulação e a fixação de  $N_2$  (Eaglesham et al., 1993).

Segundo Oliveira e Dantas (1984), quando o feijão caupi é plantado em áreas recentemente desbravadas ou em solos muito arenosos, pode apresentar deficiência de nitrogênio. Nessas condições de solo, a população rizobiana pode ser insuficiente para permitir uma boa nodulação das plantas, ou mesmo, pode não existir, tornando necessária a adubação nitrogenada e/ou inoculação. Possivelmente por essa razão são encontradas respostas do caupi ao nitrogênio em algumas áreas do Nordeste, bem como em outras regiões.

## **2.5. Seleção de estirpes de rizóbio**

Um aspecto interessante a considerar num trabalho de seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas é a inclusão de um tratamento com as estirpes de rizóbio nativas do solo (Xavier e Souto, 1988; Thies et al., 1991). Outro aspecto é o da testemunha nitrogenada ser usada para comparar a eficiência das estirpes a serem avaliadas (Oliveira, 1988). Segundo Date (1977), a estirpe é considerada efetiva, quando a planta inoculada com a mesma produz mais de 80% de matéria seca do obtido pelas plantas com aplicação de adubo nitrogenado.

Martins et al. (1997), avaliando a diversidade de rizóbios de solos, utilizando caupi como planta-isca nas regiões dos estados de Pernambuco e Sergipe encontrou cerca de 76 grupos de rizóbios capazes de nodular esta leguminosa, baseados em características morfológicas da colônia e fisiológicas da associação. Dentro do grupo foram encontrados estirpes com diferentes níveis de eficiência em relação a FBN em caupi em experimentos conduzidos em casa de vegetação.

Estudos feitos por Lacerda et al. (2004), mostraram que as estirpes UFLA 03-35, UFLA 03-36 e UFLA 03-129 são mais eficientes que a estirpe BR 2001 na produção de matéria seca da parte aérea do caupi em casa de vegetação e a inoculação das sementes no campo com as estirpes INPA 03-11B, UFLA 03-36,

UFLA 03-84 e UFLA 03-129 resultaram em rendimentos de grãos equivalentes ao da testemunha que recebeu nitrogênio mineral. Trabalhos conduzidos por Soares et al. (2002), em Perdões e por Pereira et al. (2004), em Iguatama, municípios de Minas Gerais, mostraram que as estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11B foram bastante eficiente nos testes de fixação biológica do N<sub>2</sub>, podendo ser recomendadas para novos testes agronômicos em outras regiões.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Localização do experimento

O experimento foi realizado em uma área pertencente à Escola Agrotécnica Federal de Sousa, localizada no Perímetro Irrigado de São Gonçalo, município de Sousa – PB, situando-se a 233,06 m de altitude, com latitude sul de 6° 45' e longitude oeste de 38° 13'. A área experimental está localizada no vale do Rio Piranhas, integrante do Trópico Semi-Árido do Nordeste Brasileiro.

#### 3.2 Caracterização climática e de solo

O clima da região é quente e semi-árido. As temperaturas máximas, médias e mínimas anuais são de 38°C, 27 °C e 12 °C, respectivamente. Tal condição climática, tipo Bsh, segundo classificação de Koppen, é caracterizada por evaporação maior que precipitação (DNOCS, 1997).

O solo do local é um planossolo de relevo plano e textura franco arenosa EMBRAPA, (1999). Foram feitas amostragens nas camadas de 0 – 20 cm, 20 – 40 cm e 40 – 60 cm, e as análises dos atributos químicos e físicos foram realizadas de acordo com as recomendações da EMBRAPA (1997), e os resultados constam nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1.** Atributos químicos do solo onde foi instalado o experimento.

| Camada<br>cm | pH  | P<br>mg dm <sup>3</sup> | K<br>-----<br>cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> | Ca  | Mg  | Na   | Al  | H+Al | SB   | T    | PST  | V<br>-----<br>% | M.O.<br>-----<br>g kg <sup>-1</sup> |
|--------------|-----|-------------------------|---|-----|-----|------|-----|------|------|------|------|-----------------|-------------------------------------|
| 0-20         | 6,9 | 21                      | 0,37  | 3,2 | 0,7 | 0,08 | 0,0 | 1,3  | 3,98 | 5,48 | 1,46 | 72,6            | 6,3                                 |
| 20-40        | 6,8 | 18                      | 0,16  | 4,4 | 1,3 | 0,11 | 0,0 | 1,5  | 5,97 | 7,67 | 1,43 | 77,8            | 6,09                                |
| 40-60        | 7,1 | 23                      | 0,12  | 4,4 | 1,5 | 0,20 | 0,0 | 1,2  | 6,22 | 7,52 | 2,66 | 82,7            | 4,07                                |

Análises realizadas pelo Laboratório de Solos da Escola Agrotécnica Federal de Sousa-PB

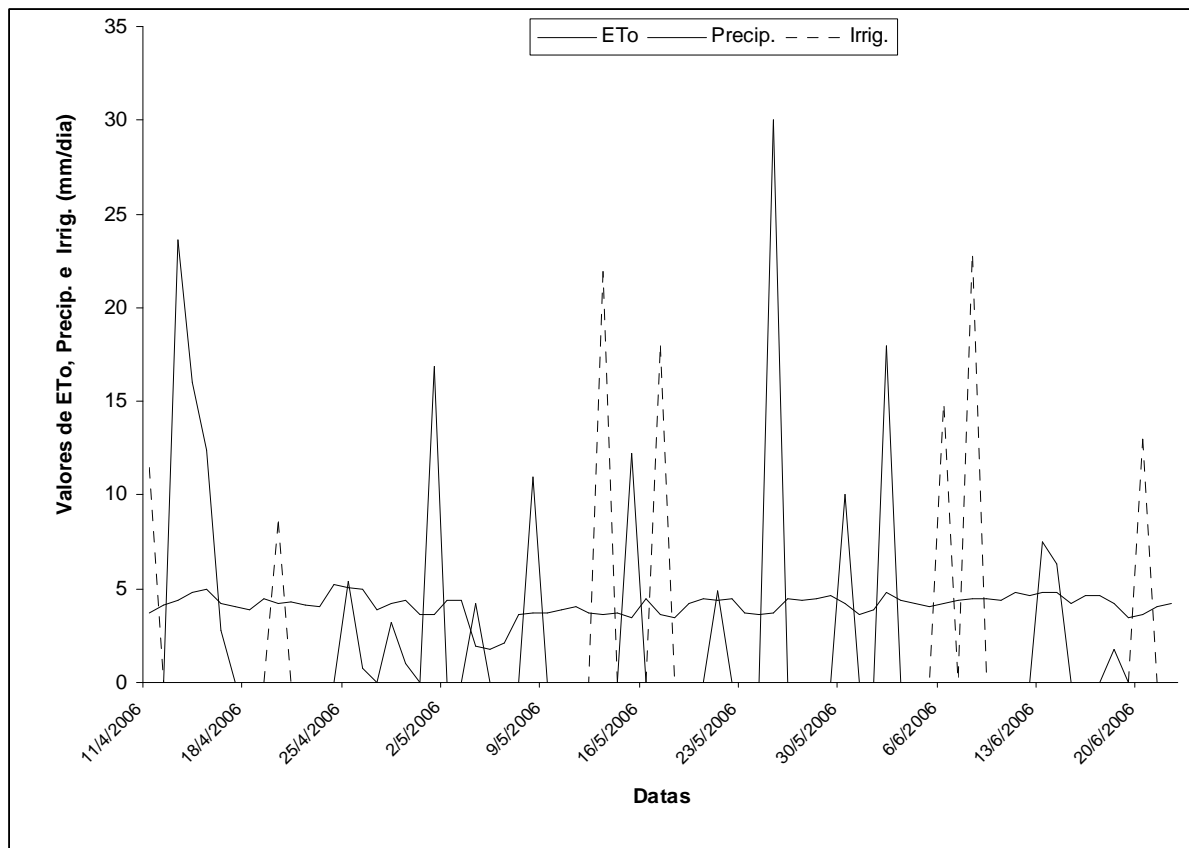
**Tabela 2.** Atributos físicos do solo onde foi instalado o experimento.

| Camada | Granulometria(%) |       |        | Classe textural | Densidade (g cm <sup>-3</sup> ) |           |
|--------|------------------|-------|--------|-----------------|---------------------------------|-----------|
|        | Areia            | Silte | Argila |                 | Global                          | Partícula |
| 0-20   | 72               | 18    | 10     | Franco arenoso  | 1,36                            | 2,77      |
| 20-40  | 67               | 20    | 13     | Franco arenoso  | 1,36                            | 2,69      |
| 40-60  | 72               | 18    | 10     | Franco arenoso  | 1,25                            | 2,69      |

Análises realizadas pelo Laboratório de Solos da Escola Agrotécnica Federal de Sousa-PB.

### 3.3 Dados meteorológicos durante o período experimental

As precipitações pluviais e as evapotranspirações de referência (Eto) e as irrigações realizadas estão registradas na figura 1.



**Figura 1.** Evapotranspiração potencial de referência (Eto), precipitação pluviométrica e irrigações na área do experimento (município de Sousa, PB).

As médias da temperatura do solo, medida diariamente às 15 horas, a três profundidades (10, 20, e 30 cm) e a amplitude encontram-se na tabela 3.

**Tabela 3.** Médias e amplitudes da temperatura do solo (°C) a três profundidades (10, 20 e 30 cm), durante os meses de abril a junho, na área experimental (município de Sousa, PB).

| Temperatura(°C)           | Profundidade (cm) | Abril     | Maio      | Junho     |
|---------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|
| Média                     | 10                | 36,7      | 35,0      | 33,9      |
|                           | 20                | 33,5      | 32,4      | 31,3      |
|                           | 30                | 32,9      | 31,1      | 30,7      |
| Amplitude de temp. mensal | 10                | 34,4-38,8 | 30,4-36,8 | 27,8-35,4 |
|                           | 20                | 32,6-37,4 | 28,6-34,2 | 28,0-33,6 |
|                           | 30                | 31,8-33,8 | 28,0-32,6 | 28,2-32,4 |

### 3.4. Tratamentos

Os tratamentos consistiram na inoculação de sementes de feijão caupi (cv. CNCx 409-11F). Foram avaliados dois isolados nativos do solo onde se realizou o experimento; três estirpes recomendadas pela RELARE (BR 3267; INPA 3-11B; UFLA 3-84) e uma estirpe selecionada pela UFRPE (NFB-700). Foram adicionados dois tratamentos controles, ambos sem inoculação, sendo um com nitrogênio, na forma de uréia, nas dosagens de 20 kg ha<sup>-1</sup> no plantio e 30 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura, aos 20 dias após a germinação, de acordo com as Recomendações de Adubação para o Estado de Pernambuco (Cavalcanti et al., 1998).

### 3.5. Características das estirpes utilizadas

A estirpe BR 3267 foi inicialmente isolada em experimento com caupi, realizado em Petrolina, com a participação da equipe da EMBRAPA (Agrobiologia) e



da EMBRAPA (Semi-árido). A estirpe apresenta resistência a temperaturas elevadas e é eficiente em solo com deficiência de umidade, tendo sido recomendada, em caráter provisório, pela RELARE (Rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola - RELARE).

As estirpes INPA 3-11B e UFLA 3-84, recomendadas definitivamente pela RELARE, foram isoladas de solos da Amazônia, respectivamente de Manaus e Rondônia, sendo adaptadas a altas temperaturas. A INPA 3-11B foi isolada de nódulos de *Centrosema sp.*, tendo sido inicialmente selecionada em condições controladas (vasos com substrato estéril), em 1982, no INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia), e posteriormente avaliada na UFLA, em experimento de campo. A estirpe UFLA 3-84 foi isolada em trabalhos experimentais do projeto ASB (Alternatives for Slash and Burn) em solo de pastagem, usando caupi como planta isca. A avaliação resultou de experimentos em câmara de crescimento, casa de vegetação e campo, realizados em Minas Gerais (Moreira, 2004).

A estirpe NFB 700 foi isolada de guandu em experimento realizado em casa de vegetação e selecionada para caupi em experimento de campo, conduzidos pela equipe do Núcleo de Fixação Biológica do Nitrogênio nos Trópicos – UFRPE.

Os isolados nativos foram provenientes do solo do local do experimento, usando caupi como planta isca, em experimentos realizados em casa de vegetação, também pela equipe do Núcleo de Fixação Biológica do Nitrogênio nos Trópicos – UFRPE.

### **3.6. Características da cultivar utilizada**

A cultivar de feijão caupi, CNCx 409-11F, utilizada neste experimento apresenta hábito de crescimento determinado, floração aos 30 a 40 dias após a emergência e ciclo de 72 dias.

### **3.7. Preparo do solo e adubação**

O solo foi preparado com uma aração, seguida de duas gradagens, sendo a primeira realizada logo após a aração e a segunda um dia antes da semeadura. Todos os tratamentos foram adubados na semeadura a 5 cm de profundidade, com aplicação de 20 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato simples) e 20 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (cloreto de potássio), de acordo com os resultados da análise de fertilidade do solo, e seguindo as Recomendações de Adubação para o Estado de Pernambuco, (Cavalcanti et al., 1998).

### **3.8. Inoculantes e sementes do caupi**

Os inoculantes foram produzidos no Núcleo de Fixação Biológica do Nitrogênio nos Trópicos – UFRPE, usando como veículo turfa esterilizada em autoclave a 120°C por uma hora, na proporção de 3:1 (turfa: caldo de cultura). A bactéria foi cultivada em meio líquido contendo extrato de levedura e manitol (YM) com utilização do caldo de cultura no período de fase log (após cinco dias de crescimento), com concentração mínima de 10<sup>8</sup> células viáveis, por grama de turfa. As sementes foram fornecidas pela Escola Agrotécnica Federal de Sousa e foram inoculadas na noite anterior à semeadura, na proporção de 200 g do inoculante por 10 kg de sementes, empregando-se água açucarada a 10% para preparar a pasta de inoculante.

### **3.9. Implantação e condução do experimento**

O experimento foi instalado em 32 parcelas, formadas por 5 linhas de 6 m de comprimento e espaçamento de 1,0 m entre si. A área útil de cada parcela constou de 15 m<sup>2</sup>, correspondendo as 3 linhas centrais desprezando-se 0,5 m de cada lado (bordadura).

A semeadura foi realizada no espaçamento de 1,0 m entre fileiras e 0,4 m entre covas, colocando-se quatro sementes por cova e deixando-se duas plantas após o desbaste, realizado aos 15 dias após a emergência. Foram feitas irrigações

por aspersão na ocorrência de falta de chuvas. As ervas daninhas foram controladas efetuando-se duas capinas manuais.

### 3.10. Coletas de plantas

Foram coletadas, ao acaso, na área útil de cada parcela, 6 plantas (3 covas) aos 17 dias após a emergência (Figura 2). Foram feitas as seguintes avaliações: a) número e massa seca de nódulos; b) massa de material seco, teor e acúmulo de N e eficiência relativa da parte aérea. Para avaliação dos nódulos todas as plantas foram coletadas a uma profundidade de 40 cm, sendo as raízes devidamente identificadas e armazenadas em freezer para posterior contagem dos nódulos. Após a contagem os nódulos foram colocados para secar em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 65-70°C até massa constante, em seguida colocados em um dessecador, e pesados utilizando balança com precisão de 0,0001 g.



**Figura 2.** Coleta das plantas aos 17 d. a. e. para avaliações do número e massa seca de nódulos, massa de material seco, teor e acúmulo de N e eficiência relativa para N total na parte aérea.

Para a avaliação da parte aérea das plantas os ramos foram colocados em sacos de papel, devidamente identificados, levados para estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65-70°C até massa constante, em seguida pesados em balança de 0,01 g de precisão e posteriormente moídos, (moinho tipo Willey). A determinação do N total foi realizada pelo método semimicro Kjeldhal, de acordo com o procedimento descrito por Tedesco (1995). O N acumulado na parte aérea foi calculado multiplicando-se as suas respectivas massas secas (g) pelos seus respectivos teores de N. A eficiência relativa de cada tratamento foi calculada dividindo-se a massa seca das plantas inoculadas com rizóbios, e das plantas sem inoculante e sem N, pela massa seca das plantas sem inoculante e com N, e multiplicado por 100 (Bergensen et al., 1971).

### **3.11. Delineamento experimental e análise estatística**

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições. A análise estatística foi conduzida utilizando o “Guided Data Analysis Procedure” do SAS (SAS Institute, 1999). Foi realizada análise de variância dos tratamentos, e para a comparação realizou-se, para cada variável, os seguintes contrastes: test. Sem N vs demais tratamentos (testemunha sem N vs testemunha com N, nativa 1, nativa 2, NFB 700, INPA 3 –11B, BR 3267, UFLA 3 – 84); test. com N vs tratamentos inoculados (testemunha com N vs nativa 1, nativa 2, NFB 700, INPA 3 –11B, BR 3267, UFLA 3 – 84) RELARE vs demais tratamentos (INPA 3 –11B, BR 3267, UFLA 3 – 84 vs testemunha sem N, testemunha com N, nativa 1, nativa 2, NFB 700); RELARE definitiva vs RELARE provisória (INPA 3 –11B, UFLA 3 – 84 vs BR 3267); NFB 700 vs nativas (NFB 700 vs nativa 1 e nativa 2); nativa 1 vs nativa 2 (isolado do solo nativa 1 vs isolado do solo nativa 2).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância dos tratamentos estudados no experimento e seus níveis de significância encontram-se na Tabela 4. Houve efeito significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos para número de nódulos pequenos, número de nódulos grandes, número de nódulos, massa seca dos nódulos, massa seca da parte aérea, eficiência relativa e acúmulo de N na parte aérea.

**Tabela 4.** Resultado da análise de variância e os níveis de significância dos dados relacionados ao número de nódulos pequenos (NNP); números de nódulos grandes (NNG); números de nódulos (NN); massa seca dos nódulos (MSN); massa seca da parte aérea (MSPA); eficiência relativa (ER); Teor de N-total na parte aérea (TNPA); acúmulo de N na parte aérea (ANPA). Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Fonte de var. | NN     | NNP    | NNG    | MSN    | MSPA   | ER     | TNPA   | ANPA   |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Tratamento    | 0,0443 | 0,0237 | 0,0513 | 0,0209 | 0,0079 | 0,0081 | 0,1752 | 0,0398 |
| CV%           | 10,39  | 14,19  | 33,26  | 22,88  | 16,78  | 16,24  | 6,67   | 19,27  |

Os resultados dos contrastes realizados e os níveis de significância para cada variável avaliada no experimento encontram-se nas tabelas de 5 a 12.

### 4.1. Número de nódulos pequenos (NNP)

A tabela 5 apresenta as estimativas dos contrastes e os níveis de significância relacionados ao NNP. Percebe-se que houve significância apenas para os contrastes RELARE vs demais tratamentos e Nativa 1 vs Nativa 2. Os resultados indicam que as estirpes recomendadas pela RELARE apresentam maior NNP que os demais tratamentos e o isolado nativa 1 proporcionou menor número de nódulos pequenos que o isolado nativa 2.

**Tabela 5.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos pequenos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | 23,0000    | 0,5867 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | 31,1666    | 0,3975 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 41,0000    | 0,0067 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | 24,3333    | 0,0888 |
| NFB 700 vs nativas                     | 16,3333    | 0,2444 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | 19,8333    | 0,0199 |

#### 4.2. Número de nódulos grandes (NNG)

A tabela 6 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao NNG. Verifica-se que houve significância apenas para os contrastes testemunha com nitrogênio vs inoculadas (BR 3267, INPA 3 –11B, UFLA 3-84, NFB – 700, Nativa 1 e Nativa 2) e NFB –700 vs nativas. O tratamento com nitrogênio apresentou menor NNG que os tratamentos inoculados e a estirpe NFB –700 foi superior às nativas.

**Tabela 6.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos grandes. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | 51,0833    | 0,0838 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | -51,5833   | 0,0464 |
| RELARE vs demais tratamentos           | -1,5833    | 0,8652 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | 1,7500     | 0,8511 |
| NFB 700 vs nativas                     | 26,1666    | 0,0098 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -5,8333    | 0,2851 |

### 4.3. Número de nódulos (NN)

A tabela 7 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao NN. Verifica-se que houve significância para os contrastes RELARE vs demais tratamentos e NFB -700 vs nativas. As estirpes recomendadas pela RELARE proporcionaram maior NN que os demais tratamentos e a NFB -700 proporcionou maior NN que as nativas.

**Tabela 7.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao número de nódulos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | 63,7302    | 0,1276 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | -30,7698   | 0,3865 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 29,0635    | 0,0435 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | -22,5833   | 0,0996 |
| NFB 700 vs nativas                     | 32,1468    | 0,0272 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -15,3135   | 0,0778 |

### 4.4. Massa seca de nódulos (MSN)

A tabela 8 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a MSN. Observa-se que houve significância para os contrastes testemunha com N vs tratamentos inoculados e NFB -700 vs nativas, indicando que o tratamento com nitrogênio apresentou menor valor de MSN que os tratamentos inoculados e a estirpe NFB-700 foi superior as nativas.

**Tabela 8.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a massa seca dos nódulos. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | 0,1268     | 0,1910 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | -0,2379    | 0,0081 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 0,0225     | 0,4712 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | -0,0151    | 0,6280 |
| NFB 700 vs nativas                     | 0,0792     | 0,0176 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -0,0201    | 0,2693 |

#### 4.5. Massa seca da parte aérea (MSPA)

A tabela 9 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a MSPA. Verifica-se que houve significância para os contrastes testemunha sem N vs demais tratamentos, testemunha com N vs tratamentos inoculados, NFB -700 vs nativas e nativa 1 vs nativa 2. A testemunha sem N apresentou menor MSPA que os demais tratamentos, a estirpe NFB-700 apresentou maior MSPA que as nativas e o isolado nativa 1 menor do que a nativa 2.

**Tabela 9.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a massa seca da parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | -6,1021    | 0,0129 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | 4,0771     | 0,0482 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 0,3988     | 0,6017 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | 0,0258     | 0,9721 |
| NFB 700 vs nativas                     | 0,21991    | 0,0140 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -0,9783    | 0,0307 |



#### 4.6. Eficiência relativa (ER)

A tabela 10 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados à ER. Verifica-se que houve significância para os contrastes testemunha sem N vs demais tratamentos, NFB -700 vs nativas e nativa 1 vs nativa 2. Verifica-se que a testemunha sem N apresentou menor eficiência relativa que os demais tratamentos, a NFB -700 foi melhor que as nativas e a nativa 1 menor que a nativa 2.

**Tabela 10.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados a eficiência relativa. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | -138,3291  | 0,0139 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | 85,0140    | 0,0705 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 9,7940     | 0,5769 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | -2,7950    | 0,8691 |
| NFB 700 vs nativas                     | 48,7420    | 0,0171 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -23,7600   | 0,0232 |

#### 4.7. Teor de N-total na parte aérea (TNPA)

A tabela 11 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao TNPA. Verifica-se que houve significância apenas para os contrastes RELARE vs demais tratamentos. Onde as estirpes recomendadas pela RELARE obtiveram maior teor de N-total na parte aérea das plantas que os demais tratamentos.

**Tabela 11.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao teor de N total na parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | 1,0450     | 0,4051 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | 0,4675     | 0,6652 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 1,1125     | 0,0116 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | -0,1050    | 07968  |
| NFB 700 vs nativas                     | -0,1850    | 0,6506 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | 0,2750     | 0,2500 |

#### 4.8. Acumulação de N total na parte aérea (ANPA)

A tabela 12 apresenta as estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao ANPA. Verifica-se que houve significância para os contrastes testemunha com N vs tratamentos inoculados e RELARE vs demais tratamentos, onde o tratamento da testemunha com N foi superior aos tratamentos inoculados e as estirpes recomendadas pela RELARE foram superiores aos demais tratamentos.

**Tabela 12.** Estimativas dos contrastes e os seus níveis de significância relacionados ao acúmulo de N na parte aérea. Experimento conduzido em campo no município de Sousa, PB.

| Parâmetros                             | Estimativa | Pr > F |
|--|------------|--------|
| Test. Sem N vs demais tratamentos      | -123,0476  | 0,0607 |
| Test. Com N vs tratamentos inoculados  | 119,3625   | 0,0375 |
| RELARE vs demais tratamentos           | 44,0175    | 0,0419 |
| RELARE definitiva vs RELARE provisória | -0,0975    | 0,9962 |
| NFB 700 vs nativas                     | 23,8800    | 0,2530 |
| Nativa 1 vs nativa 2                   | -20,0950   | 0,1014 |

Todos os tratamentos apresentaram boa nodulação com quantidades de nódulos variando de 60 a 62 nódulos por cova. O número de nódulos, obtido aos 17 dias neste experimento foi superior ao encontrado por Lacerda et al. (2004), que encontrou NN variando de 11 a 21 por planta e Soares et al. (2004), que encontrou 15 a 31 NN por planta com as estirpes INPA 3-11B e UFLA 3-84 na cultivar de caupi BR 14 Mulato em um argissolo vermelho-amarelo distrófico típico no município de Perdões-MG e por Pereira et al. (2004), que encontrou valores de NN por planta variando de 15 a 17, com as mesmas estirpes, a mesma cultivar e o mesmo tipo de solo no município de Iguatama – MG, na fase de floração. Foi também superior ao encontrado por Mendes et al. (1994), que obteve resultados variando de 12 a 43 nódulos por planta de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) aos 16 d.a.e. com várias estirpes de *Rhizobium spp.* em um solo de várzea recuperado através de drenagem, no qual a população nativa de rizóbio era muito baixa, no município de Planaltina, DF.

A adubação com N-fertilizante na dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> inibiu a nodulação do caupi por rizóbios nativos, pois o NN da testemunha sem N superou ao da testemunha com N, enquanto nos trabalhos realizados por Lacerda (2002) e Soares et al. (2004), o N fertilizante na dose de 70 kg ha<sup>-1</sup> não foi suficiente para inibir a nodulação por rizóbios nativos. Já no trabalho de Pereira et al. (2004) o N-fertilizante na dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> inibiu a nodulação do caupi por rizóbios nativos.

A quantidade de nódulos encontrados na testemunha sem inoculante e sem N-fertilizante indica a presença de estirpes nativas no solo, as quais, embora capazes de suprir as plantas com o N<sub>2</sub> fixado pela simbiose rizóbio-caupi, podem ter limitado o estabelecimento das estirpes inoculadas.

O local onde foi instalado o experimento, já vem sendo cultivado feijão caupi há muito tempo, o que favoreceu a ocorrência de uma população rizobiana autóctone efetiva quanto à fixação de nitrogênio com o caupi.

## 5. CONCLUSÕES

As estirpes INPA 3-11B, BR 3267 e UFLA 3-84 são mais eficientes na nodulação e na fixação de  $N_2$  que os isolados nativos e a estirpe NFB –700, quando inoculadas em feijão caupi, cultivado em um planossolo do sertão da Paraíba.

A população rizobiana existente no solo da realização deste experimento é muito efetiva quanto à fixação biológica de nitrogênio com caupi.

A adição de N fertilizante na dose de  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  reduz a nodulação e a fixação de  $N_2$  em caupi.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. W. ; WIERMSA, J. V.; SALALAR, J. Differences in starch accumulation among dry bean cultivars. **Crop Sci**, v. 18, p. 155-157, 1978.

ARAÚJO, J. P. P. e WATT. ; E. E. (Org.) **O caupi no Brasil**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA -DPU, 1988. 722 p.

BARRETO, P. D. e DYNIA, J. F. Sistema de produção de caupi em monocultura no trópico semi-árido brasileiro. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WALT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA-DPU, 1988. p. 390-391.

BERGENSEN, F. J.; BROCKWELL, J.; GIBSON, A. H.; SCHWINGHAMER, E. A. Studies of natural populations and mutants os Rhizobium in the improvement of legume inoculants. **Plant and Soil**, Hangué, p. 3-16, 1971. Suplemento 1.

BEVITORI, R., NEVES, R. P.; RIOS, G. P.; OLIVEIRA, I. P.; GUAZZELI, R. J. A cultura do caupi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n.16 p.12-20,1992.

CAVALCANTI, F. J. de A. et al. **Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco**. 2ª aproximação. Recife: IPA, 1998. 198 p.

DATE, R. A. Inoculation of tropical pasture legumes. In: VINCENT, J. M.; HITNEY, A. S.; BOSE, J., (ed.). **Exploiting the legume Rhizobium symbiosis in tropical griculture**. Hawaii: University of Hawai, 1977. p. 293-311.

EADY, R. R. e POSTGATE, J. R. Nitrogenase. **Nature**, n. 249, p. 805-810, 1974.

EAGLESSHAM, A. R. J.; HASSOUNA, S.; SEEGERS, R. Fertilizer-N effects on N<sub>2</sub> fixation by cowpea; soybean. **Agronomy Journal**, v. 75, p. 61-66, 1993.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo de feijão caupi**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2003. Sistemas de produção 2. Disponível em:<http://www.cpamn.embrapa.br/pesquisa/graos/Feijãocaupi/importancia.htm>. >Acesso: em 12.10.2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA - CNPS, 1997. 212 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

EVANS, H. J. e BURRIS, R. H. Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years. In: STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J (ed.). **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992, p.1-42.

FERGUSON, S. J. Nitrogen cycle enzymology. *Curr. Opin. Chem. Biol.* n. 2, p. 182-193, 1998.

FRANCO, A. A. e NEVES, M. C. P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.) **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992, p. 219-230.

FRANCO, A. A. e BALIEIRO, F. de C. **The Role of Biological Nitrogen Fixation in Land Reclamation, Agroecology and Sustainability of Tropical Agriculture**. Seropédica: EMBRAPA-CNPBS, 223 p. 2000´.

FRANCO, A.A. e DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathológica**, São Paulo, v. 20, n.1, p. 68-74, 1994.

FREIRE FILHO, F. R; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D. e SANTOS, C. A. **Melhoramento genético do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na região do Nordeste**. In: Workshop, Petrolina, 1998, [S. I.], Embrapa Semi-Árido, 1998.

GARRITY, G. M. e HOLT, J. G. The road map to the *Manual*. In: BOONE, D. R. e CATENHOLZ, R. W.,( eds.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. New York: Springer-Verlag, 2001. v.1, p. 119-166.

GRAHAM, P. H.; HALLIDAY, J. Inoculation: nitrogen fixation in the gender *Phaseolus*. In: **REUNIÃO LATINO-AMERICANA DE Rhizobium**, 8, Cali, 1976 .*Anais... Cali: CIAT*, 1976. p. 313-337

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

HUNGRIA, M. e CAMPO, R. J. Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 30, 2005, Recife. **Anais...Recife**, 2005. 1 CD-ROM.

KIM, J. e REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry**, n. 33, p. 389-397, 1994.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. de S.; ANDRADE, M. J. B. de; SOARES, A. L. de L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão caupi. **Revista Ceres**, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

LAWN, R. J.; BRUN, W. A. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source sink manipulations. **Crop Science**, v. 14, p. 11-16, 1974.

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

MENDES, L. C. ; SUHET, A. R. ; PERES, J. R. R. e VARGAS, M. A. T. Eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 421-425. 1994.

MENGEL, K. Symbiotic dinitrogen fixation: its dependence on plant nutrition and its ecophysiological impact. **Bodenk**, v. 157, p. 233-241, 1994.

MERCANTE, F. M. **A inoculação do feijoeiro comum com rizóbio**. Centro Nacional de Pesquisa de Biologia do Solo, 1992. 8 p. (CNPBS. Comunicado Técnico, 10).

MOREIRA, F. M. S. **Estirpes de bactérias altamente eficientes que fornecem nitrogênio para caupi foram selecionadas na UFLA e já são recomendadas para produção de inoculantes comerciais**. Disponível em: <http:// www.dcs.ufla.br/artigocaupi.pdf> .Acesso em: 30 de abril de 2004.

NEVES, M. C. P. e RUMJANEK, N. G. Diversity and adaptability of Soybean cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 889-895,1997.

NEVES, M. C. P.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. **Levantamento de estirpes de rizóbio capazes de nodular caupi (*Vigna unguiculata*) em solos do Nordeste do Brasil. I. Sertão**. Seropédica: Embrapa-Agrobiologia, 1998. 10 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 46).

NEWTON, W. E. Nitrogen fixation in perspective. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G.; NEWTON, W. E. (ed.) **Nitrogen Fixation: From Molecules To Crop Productivity**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000.

OLIVEIRA, I. P. e CARVALHO, A. M. A cultura do caupi nas condições de clima e de solo dos trópicos úmidos e semi-árido do Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. 1. ed., Brasília: EMBRAPA-DPU, 1988, p. 63-96.

OLIVEIRA, F. L. de; PITARD, R. M.; SOUTO, S. M. **Seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas *Arachis pintoi* e *Cratylia argentea***. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1998. 19 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 53).

OLIVEIRA, I. P. e DANTAS, J. P. **Sintomas de deficiências nutricionais e recomendações de adubação para o caupi**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1984. 23 p. (Embrapa-CNPAF. Documento, 8.)

PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M.; NOGUEIRA, C. G.; SOARES, A. L. L.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. **Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* cultivar Poços de Caldas por estirpes**

**selecionadas de rizóbio no Município de Iguatama.** FERTBIO, 2004, Lages, SC. Resumo expandido. CD-ROM.

PEREIRA, P. A. A. Fixação biológica de nitrogênio do feijoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, p. 41-46, 1982.

DNOCS - DEPARTAMENTO NACIONAL DE OBRAS CONTRA AS SECAS, 2º Distrito de Engenharia Rural, 1997 (mimeografado).

RACHIE, K. O. e ROBERTS, L. M. Grain legumes of the lowland tropics. **Adv. Agron.**, v. 26, p. 1-132, 1974.

RANGEL, F. W.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RIBEIRO, J. R. A.; MORGADO, L. B.; NEVES, M. C. P. e RUMJANEK, N. G. **Influência da inoculação de caupi com estirpes eficientes de rizóbio na população rizobiana nativa no solo da região semi-árida brasileira.** In: Reunião Nacional de Pesquisa de Caupi, 5, 2001, p. 273-278.

REBOUÇAS, M. A.; CRISÓSTOMO, L. A.; BEZERRA, P. Estudo da adubação nitrogenada do feijão-de-corda, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. , pela análise química das folhas. **Ciência Agrônômica**, v. 7, n. 1 / 2, p. 87-92, 1977.

RUSCHEL, A. P. e SAITO, S. M. T. Efeito da inoculação de Rhizobium, nitrogênio e matéria orgânica na fixação simbiótica de nitrogênio em feijão ( *Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.1, p. 21-24, 1977.

SANTOS, C. E. de R. e S. **Diversidade de rizóbio nativo na Região Nordeste do Brasil capaz de nodular amendoim (*Arachis hypogala*) *stylosanthes* e *aeschynomene*.** 2001. 174p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

SAS INSTITUTE. **The SAS System for Windows.** CD-ROM for Windows 32-bits. 1999.

SILVA, P. S. L.; OLIVEIRA, C. N. Rendimentos de feijão verde e maduro de cultivares de caupi. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 2, p. 133-135, 1993.

SINGLETON, P.W. e TAVARES, J. W. Inoculation responses of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous Thizobium populations. **Applied Environmental Microbiology**, v. 51, p. 1013-1018, 1986.

SOARES, A. L.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. **Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* cultivar BR 14 Mulato por estirpes selecionadas de rizóbio no Município de Perdões.** FERTBIO, 2004, Lages, SC. Resumo expandido. CD-ROM.

SPRENT, J. I. e SPRENT, P. **Nitrogen fixing organisms.** London: Chapman and Hall, 2 ed., 1990. 256p.



STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, H. J. **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992. 943p.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, D. R. ; SILVA, V. M.; SANTOS, C. E. R. S. ; MONTEIRO, M. C. Fixação do N<sub>2</sub> e matéria seca do caupi em dois solos do Semi-árido Brasileiro submetidos à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.14, p. 283-290, 1990.

STAMFORD, N. P. e NEPTUNE, A. M. L. Especificidade hospedeira e competição entre estirpes de *Rhizobium* em inoculação cruzada com quatro cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Cad. Omega**, Recife, n. 3, p. 25-34, 1979.

TEDESCO, J. M. ; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H. A.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre, UFRGS, 1995. 174 p.

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

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

VARGAS, M. A. T. e SUHET, A. R. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 4, p.17-21. 1980.

VASCONCELOS, I.; ALVES, J. F. ; LIMA, I. T. Nodulação de feijão-de-corda, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., ao longo do ciclo cultural da planta. **Ciencia Agronomica**, Fortaleza, v. 6, n. 1/2, p. 11-15, 1976a.

VIEIRA, R. F. **Adubação molibídica no feijoeiro**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 2 p. (Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 10).

WEAVER, R. W. e FREDERICK, L. R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* (L.) Merrill. II. Field studies. **Agron. J.**, Madison, n. 66, p. 233-236, 1974.

XAVIER, D. F. e SOUTO, S. M. Potencial das estirpes naturais de *Rhizobium* em Calopogonio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25., 1988, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1988. p. 203.

ZILLI, J. L. E. **Caracterização e seleção de estirpes de rizóbio para inoculação de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] em áreas do cerrado**. 2001. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.