

MICHELLE JUSTINO GOMES ALVES

EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO NA FIXAÇÃO DE N₂ E NA PRODUTIVIDADE DO
FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* L. (WALP)] NA REGIÃO SEMIÁRIDA DE
PERNAMBUCO

Serra Talhada-PE

2016

MICHELLE JUSTINO GOMES ALVES

EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO NA FIXAÇÃO DE N₂ E NA PRODUTIVIDADE DO
FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* L. (WALP)] NA REGIÃO SEMIÁRIDA DE
PERNAMBUCO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Rossanna Barbosa Pragana

Serra Talhada-PE

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

A474e	<p>Alves, Michelle Justino Gomes</p> <p>Eficiência da inoculação na fixação de N₂ e na produtividade do Feijão-Caupi [<i>Vigna unguiculata</i> L. (WALP)] na região semiárida de Pernambuco / Michelle Justino Gomes Alves. – Serra Talhada: A Autora, 2016.</p> <p>51 f.: il.</p> <p>Orientadora: Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2016.</p> <p>Inclui referências.</p> <p>1. Leguminosa. 2. Bactérias diazotróficas. 3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN). 4. Acúmulo de N. I. Santos, Carolina Etienne de Rosália e Silva, orientadora. II. Título.</p>
CDD 631	

MICHELLE JUSTINO GOMES ALVES

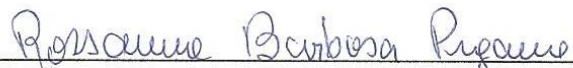
EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO NA FIXAÇÃO DE N₂ E NA PRODUTIVIDADE DO
FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* L. (WALP)] NA REGIÃO SEMIÁRIDA DE
PERNAMBUCO

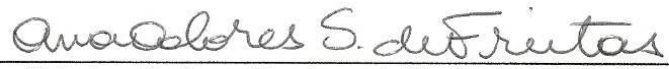
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em 26/07/2016

Banca Examinadora


Prof.^a. Dr.^a. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – DEPA/UFRPE
Orientador


Prof.^a. Dr.^a. Rossanna Barbosa Pragana – UAST/UFRPE
Examinador Externo


Dr.^a. Ana Dolores Santiago de Freitas – DEPA/UFRPE
Examinador Externo

À minha família por todo o apoio e compreensão, em especial a minha mãe que sempre esteve ao meu lado com todo amor e carinho e apoio incondicional em todas as minhas decisões.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a DEUS, pelo dom da vida, da aprendizagem, por iluminar todo o meu caminho e por ter proporcionado mais uma conquista na minha vida.

Aos meus pais, Joseano Justino Alves (*in memorian*) e Maria Rosinaide Gomes Galindo Alves, pelo amor, carinho, confiança, apoio, ensinamentos e dedicação em todos esses anos da minha vida.

Aos meus irmãos, Joseano Justino Alves Júnior e Michel Justino Gomes Alves, pela amizade e pelos inúmeros momentos de alegrias compartilhados.

Aos meus preciosos sobrinhos, Joseano Neto, João Guilherme e Maria Júlia, pelo simples fato de existirem.

A minha cunhada, Maria Nunes dos Santos, pelo afeto e atenção.

Ao meu namorado, Bruno Ketson Lopes Soares, pelo carinho, amor, paciência e apoio no dia-a-dia.

A minha tia Rosimere, por todo incentivo nas minhas buscas.

As professoras Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos e Rossanna Barbosa Pragana, pela dedicação e paciência na orientação, ensinamentos transmitidos e amizade conquistada.

Aos colegas Davi Tavares, Marcondes Souza, Jonatas e Manoel Galdino, pela amizade e apoio a realização do trabalho.

À Unidade Acadêmica de Serra Talhada - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAST- UFRPE), pela oportunidade de realizar esse trabalho e pelo aperfeiçoamento dos meus conhecimentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal por possibilitar a conquista do título de mestre.

A EMBRAPA Agrobiologia, pela disponibilidade de material para o desenvolvimento dessa pesquisa.

A FACEPE pelo financiamento da bolsa.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO GERAL

O uso da inoculação com bactérias tem sido uma alternativa para reduzir os impactos causados ao ambiente pela utilização de insumos agrícolas poluentes, como também, reduzir gastos, uma vez que esses insumos são considerados onerosos. O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), é uma leguminosa que possui capacidade de formar nódulos com bactérias diazotróficas e fixar N₂. O que representa grande importância no estudo sobre simbiose entre esses dois organismos, com a finalidade de produzir inoculantes potenciais com bactérias nativas, eficazes e competitivas. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes inoculantes caseiros no rendimento da cultura do feijão-caupi, produzidos a partir de isolados dos nódulos formados em raízes de feijão-caupi cultivado em diferentes usos de terra, no município de Serra Talhada, região semiárida do Estado de Pernambuco. Foram realizados dois experimentos, um em vaso a pleno sol e outro em campo, com o delineamento inteiramente casualizado. O experimento em vaso foi montado em esquema fatorial 4 x 3, com quatro diferentes sistemas de uso da terra (área de caatinga preservada, área de pousio, sistema agroflorestal, e área de monocultivo de feijão-caupi), e três cultivares de feijão-caupi (Sempre verde, Paulistinha e Canapu Roxo), usadas pelos agricultores locais, com 5 repetições. As amostras de solos foram coletadas em vários pontos, nas diferentes áreas, no município de Serra Talhada, as quais foram colocadas em vasos com capacidade de 9 kg, sendo preenchidos com 7 kg de solo, e cultivadas as plantas iscas, por 35 dias. Os nódulos provenientes desse experimento em vasos foram triturados e misturados à goma de amido para a produção do inoculante caseiro ou de extrato de nódulos, a ser usado no experimento em campo. O experimento em campo foi formado por quatro inoculantes, sendo resultantes dos isolados dos nódulos do experimento em vaso, um tratamento com adubação nitrogenada com 50 kg de N na forma de ureia, um tratamento com inoculante comercial com a estirpe BR 3267 e um controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada, com 4 repetições. A cultivar utilizada, nesse experimento, foi a Paulistinha. As plantas foram coletadas e avaliadas aos 35 dias e no final do ciclo da cultura. Os dados foram submetidos ao teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. No experimento com vasos ocorreram efeitos isolados entre as cultivares e as áreas com diferentes usos da terra, como também, interação para as características número de folhas por planta, massa seca de raízes, número de nódulos e eficiência nodular. As cultivares de feijão-caupi apresentaram respostas positivas a fixação biológica do nitrogênio, sendo facilmente noduladas nas áreas de

caatinga preservada e agrofloresta. Observou-se no experimento de campo que os tratamentos com inoculantes caseiros proporcionaram aumento nos rendimentos de feijão-caupi, quando comparado aos demais tratamentos. Os inoculantes caseiros, de modo geral, proporcionaram boa nodulação, produção de massa seca e acúmulo de N na parte aérea, além de produção de grãos, quando comparadas ao controle, ao inoculante comercial e ao tratamento nitrogenado, significando boas respostas da FBN. Contudo, as relações de simbiose são bastante dependentes das condições edafoclimáticas, principalmente nos locais das regiões de pesquisa. Este estudo mostra a importância do conhecimento das interações entre planta e micro-organismos nativos de cada região, podendo os mesmos serem uma fonte de germoplasma a ser empregada na produção de inoculantes comerciais.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas, FBN, leguminosa, acúmulo de N.

GENERAL ABSTRACT

Using the inoculation has been an alternative to reduce the impacts to the environment by the use of polluting agricultural inputs, as well as reduce expenses, since these inputs are considered expensive. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), Is a legume that has ability to form nodules with nitrogen fixing bacteria and N₂ fixation. What is very important in the study on symbiosis between these two bodies in order to produce potential inoculants effective and competitive with native bacteria. In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of different inoculants in yield of cowpea crop, produced from isolated nodules formed under different land uses in the city of Serra Talhada, semiarid region of Pernambuco. Two experiments were conducted, one pot in full sun and others in the field, with completely randomized design. The experiment vessel was mounted in a factorial 4 x 3, four different land use systems (caatinga area preserved, fallow area, agroforestry, and area of cowpea monoculture). It used three cowpea cultivars (Sempre verde, Paulistinha and Canapu Roxo), used by local farmers, with 5 repetitions. Soil samples were collected at various points in different areas in the city of Serra Talhada, which were placed in pots with 9kg capacity, being filled with 7 kg of soil was used as bait plant for 35 days. The nodules from vessels in this experiment were ground and mixed starch gum for the production of homemade inoculant or nodules extract to be used in the field experiment. The field experiment was formed by four inoculants resulting from isolated from experimental nodules pot, treatment with nitrogen fertilization 50 kg N as urea, a treatment with inoculant with the BR 3267 strain and without inoculation control and without nitrogen fertilization, with 4 repetitions. The cultivar used in this experiment was the Paulistinha. The plants were collected and evaluated at 35 days and at the end of the crop cycle. The data were submitted to the F test and means were compared by Tukey test at 5% probability. There have been isolated effects between cultivars and different areas with different land use, as well as interaction to the characteristics number of leaves per plant, dry weight of roots, number of nodules and nodular efficiency. The cowpea cultivars showed positive responses to biological nitrogen fixation, easily nodulated in the areas of savanna preserved and agroforestry. Homemade inoculants provided increases in cowpea yields when compared to other treatments. Homemade inoculants generally provided good nodulation, dry matter production and accumulation of N in the shoot, as well as grain production, when compared to the control, the inoculant and the nitrogen treatment, meaning good responses from BNF. However, the symbiotic relationships are highly dependent on soil and climatic conditions, especially in places of research areas. This study shows the importance of knowledge of the interactions between plants and microorganisms native to each region, can the same be a germplasm source to be used in the production of inoculants.

Keywords: Diazotrophic bacteria, FBN, legumes, N accumulation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Mapa de localização das áreas com diferentes sistemas de uso da terra, Caatinga Preservada (A), Agrofloresta (B), Pousio (C) e Monocultivo de feijão-caupi (D). Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016..... 20
- Figura 2 Médias dos dados de massa seca de nódulos (A) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (B) de diferentes cultivares de feijão-caupi. Barras sobrepostas por mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015. 25
- Figura 3 Médias dos dados de massa seca da parte aérea (A), diâmetro do caule (B), massa seca de nódulos (C) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (D) submetidos a diferentes usos de terra. Barras sobrepostas por mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015..... 26
- Figura 4 Dados climáticos médios de temperaturas (°C) máxima e mínima e precipitação referentes aos meses de condução do experimento. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (<http://www.inmet.gov.br/portal/>)..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização das áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido de Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	21
Tabela 2	Caracterização química de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido de Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	22
Tabela 3	Análises físicas e classificação textural de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	22
Tabela 4	Análises biológicas de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.....	22
Tabela 5	Valores de “F” para número de folhas por planta (NF), diâmetro de caule (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), eficiência nodular (Efn), Serra Talhada, PE, UFRPE-UAST, 2015.....	24
Tabela 6	Valores médios de número de folhas e massa seca de raízes de três cultivares de feijão-caupi, interagidas em quatro diferentes usos de terra. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015	27
Tabela 7	Valores médios de número de nódulos e eficiência nodular de três cultivares de feijão-caupi, interagidas em quatro diferentes usos de terra. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015	28
Tabela 8	Valores de “F” para massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), eficiência relativa (Efr), Produtividade total (PT), Nitrogênio de grãos (NG), Produtividade de grãos (PG). Serra Talhada, PE, UFRPE-UAST, 2015.....	42
Tabela 9	Valores médios de número de nódulos e eficiência nodular de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015.....	43

Tabela 10 Valores médios de massa seca da parte aérea, massa seca de raiz, acúmulo de nitrogênio na parte aérea e eficiência relativa de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015.....	45
Tabela 11 Valores médios de produtividade total, nitrogênio de grãos e produtividade de grãos de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015	46

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	14
CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SISTEMAS DE USO DE SOLO NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E FIXAÇÃO DE N₂ EM FEIJÃO-CAUPI	16
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO 2 – EFICIÊNCIA DE DIFERENTES INOCULANTES E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA FIXAÇÃO DE N₂ E PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI .	35
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	39
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

APRESENTAÇÃO

A busca por técnicas que impactem menos o meio ambiente está associada ao uso cada vez maior de insumos não poluentes na agricultura, favorecendo dessa forma uma maior sustentabilidade e melhor qualidade de vida, ligada a produção de alimentos de melhor qualidade. Porém, devido ao crescente aumento da população a busca por maiores produtividades e a expansão das áreas agrícolas tem se tornado algo de grande interesse e de grande preocupação ambiental.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), é uma espécie pertencente à família das leguminosas, riquíssima em nutrientes com altos teores de proteínas, carboidratos e aminoácidos essenciais. Além disso, é considerada de grande importância socioeconômica, seja por fazer parte da dieta alimentar, principalmente nas regiões norte e nordeste, como também, por sua adaptabilidade as diversas condições climáticas principalmente nos trópicos.

No Nordeste do Brasil, sobretudo na região semiárida, o seu plantio ocorre, principalmente, por pequenos e médios produtores familiares, onde muitas vezes não dispõem de tecnologias nem de poder aquisitivo suficiente para elevar a produtividade, contudo, esse feijão é componente da alimentação e de renda dos agricultores familiares, gerando empregos.

Uma alternativa viável para o aumento de produtividade, mais econômica e ecológica com relação às leguminosas produtoras de grãos é o uso da fixação biológica de nitrogênio (FBN), que ocorre através da simbiose entre rizóbios e a planta hospedeira, seja pela utilização de inoculantes, como pela própria capacidade de nodulação da cultura com espécies nativas. A FBN é considerada a principal fonte de N nos sistemas agrícolas e naturais, contribuindo com até 50% de melhorias no desenvolvimento e produtividade da cultura, quando utilizadas bactérias fixadoras eficientes.

Como nos solos das regiões tropicais e temperadas, existe naturalmente uma diversidade de rizóbios, pesquisas que avaliem a diversidade e exploração de bactérias nativas fixadoras de nitrogênio, são necessárias por serem estratégias importantes para a seleção de estirpes eficientes e competitivas. A fim de estudar o desempenho da FBN e a produtividade de feijão-caupi inoculado, foram conduzidos duas ações de pesquisa, cujo objetivo foi avaliar a FBN e o potencial produtivo de diferentes cultivares de feijão-caupi sob diferentes usos de terra.

CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SISTEMAS DE USO DA TERRA NO CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E FIXAÇÃO DE N₂ EM FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

A ocorrência de práticas agrícolas de forma itinerante no semiárido vem provocando mudanças principalmente nas características químicas e biológicas dos solos. Em decorrência de técnicas, muitas vezes consideradas onerosas e poluentes, a introdução do nitrogênio via fixação biológica por meio da simbiose entre leguminosas e rizóbios torna-se algo de grande importância. Uma espécie que apresenta facilidade de simbiose com esse grupo de bactérias é o feijão-caupi, que além de possuir grande importância socioeconômica, pode ser utilizada para os mais variáveis fins. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes cultivares e sistemas de uso da terra na nodulação e fixação de N₂, e no crescimento do feijão-caupi, no Semiárido pernambucano. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, composto por doze tratamentos e arranjados em esquema fatorial 4 x 3, sendo o primeiro fator constituído por quatro diferentes usos da terra (área de caatinga preservada, sistema agroflorestal, área de pousio, e área de monocultivo de feijão-caupi) e o segundo fator, por três cultivares de feijão-caupi (Paulistinha, Sempre verde e Canapu Roxo) usadas pelos agricultores locais, com 5 repetições. Após 35 dias da semeadura, no início da floração, as plantas foram coletadas e avaliadas. Ocorreram efeitos isolados entre as cultivares e os usos da terra, como também, interação para as características número de folhas por planta, massa seca de raízes, número de nódulos e eficiência nodular. As cultivares de feijão-caupi apresentaram respostas positivas para a fixação biológica do nitrogênio, sendo facilmente noduladas nos sistemas de uso da terra de áreas de caatinga preservada e agroflorestal.

ABSTRACT

The occurrence of agricultural practices in itinerant form in the semiarid region, has led to changes mainly in the chemical and biological characteristics of the soil. As a result of technical, often considered costly and polluting, the introduction of nitrogen through fixation with rhizobia becomes something of great importance. A species that has ease of symbiosis with this group of bacteria is the cowpea, besides having great socioeconomic importance and may be used for more variables purposes. Thus, this study aimed to evaluate the influence of different cultivars and land use systems in nodulation and N₂ fixation, and growth of cowpea, in Pernambuco semiarid region. The experiment was a completely randomized design composed of twelve treatments and arranged in a factorial 4 x 3, the first factor consists of four different land uses (caatinga preserved, agroforestry, fallow area and cowpea monoculture area) and the second factor of three cultivars of cowpea (Paulistinha, sempre verde and Canapu Roxo) used by local farmers, with 5 repetitions. After 35 days after sowing, or early flowering, the plants were collected and evaluated. There have been isolated effects between cultivars and land use, as well as interaction to the characteristics number of leaves per plant, dry weight of roots, number of nodules and nodular efficiency. The cowpea cultivars showed positive responses to biological nitrogen fixation, and easily nodulated in land use systems preserved caatinga and agroforestry.

1 INTRODUÇÃO

A população mundial que atualmente é da ordem de 7,2 bilhões de pessoas, chegará a 9,6 bilhões em 2050 (ONU, 2014). Esse crescimento populacional traz consigo a necessidade de aumentar a produção de alimentos, em face dessa demanda, sendo imprescindível que a agricultura aumente sua produtividade. Esse acréscimo tem sido obtido por meio da utilização de insumos modernos como fertilizantes, corretivos e defensivos agrícolas aliados a expansão da área cultivada (FELEMA et al., 2013; PATIL et al., 2014), causando mudanças no uso da terra, conseqüentemente grande influência sobre a biota do solo e seus processos.

O uso da terra pode exercer efeito diferenciado sob a biota do solo, alterando dessa forma a diversidade e a distribuição das populações microbianas. Isto ocorre tanto pelas alterações bióticas quanto pelas abióticas do ambiente, tais como, modificação das propriedades químicas do solo, estrutura do solo, teor de umidade e composição da vegetação (SILVA et al., 2009; NÓBREGA, 2006).

Tendo em vista que no Semiárido brasileiro os sistemas agrícolas tradicionais são praticados de forma itinerante, com corte e queima da vegetação nativa existente e, em geral, sem adubação (ARAÚJO et al., 2004), a introdução do nitrogênio via fixação biológica com a simbiose rizóbio-leguminosa torna-se algo de grande relevância.

Dentre os diversos grupos funcionais de microrganismos do solo, capazes de fixar nitrogênio, algumas bactérias têm sido bastante estudadas, entre elas estão os gêneros de: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Mesorhizobium*, entre outros, por apresentarem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico (VARGA & HUNGRIA, 1997).

As bactérias conhecidas genericamente como rizóbios podem formar associações simbióticas com plantas leguminosas, e fixar nitrogênio atmosférico disponibilizando-o para o sistema solo/planta. Nos solos das regiões tropicais e temperadas, existe naturalmente uma diversidade de rizóbios com eficiência variada. Contudo, é possível que as populações sejam mais expressivas nas áreas tropicais, devido à baixa taxa de lixiviação, o que favorece o processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (BARBOSA, 2013). Por outro lado, a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (N₂) é um processo que necessita de grande quantidade de energia, proveniente da fotossíntese realizada pelas plantas hospedeiras, que em troca recebem o nitrogênio fixado, significando enorme importância para os solos das regiões tropicais. Os solos da região Nordeste, devido à variação de características químicas e físicas,

clima e cobertura vegetal, possuem uma diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio que podem ser utilizadas para a produção de inoculantes (JESUS et al., 2005; NASCIMENTO, 2014).

A biodiversidade e o potencial dos rizóbios dos solos podem ser estudados utilizando feijão-caupi como planta-isca, por causa de sua ampla faixa hospedeira (KASCHUK et al., 2006). O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) pertence à família das leguminosas mais adaptadas às condições dessa região, além de ser considerada como a principal cultura de subsistência, sendo consumida na forma de grãos verdes ou secos e riquíssima nutricionalmente. Esta espécie apresenta grande importância socioeconômica, podendo ser utilizada para os mais variáveis fins, como: forrageira verde, feno, farinha, adubação verde, proteção do solo e alimentação humana. É uma cultura cultivada em todos os estados da região Nordeste do Brasil e sua produção corresponde a aproximadamente 60% de área total do feijão do Nordeste e 30% de área total de feijão do Brasil (ALMEIDA, 2008).

Uma característica importante que essa leguminosa possui é a capacidade de, em simbiose com os rizóbios, realizar a fixação biológica do N₂ que, segundo Franco et al. (2002), aumenta a sua produtividade e pode substituir os adubos nitrogenados minerais, uma vez que o baixo teor de nitrogênio do solo é um dos fatores que mais limita a produtividade das culturas.

Vários estudos têm sido realizados sobre o efeito da FBN em relação à produtividade e o desenvolvimento do feijão-caupi (LEITE et al., 2009; XAVIER et al., 2007; XAVIER et al., 2008; GUEDES et al., 2010; GUALTER et al., 2008; CHAGAS JÚNIOR et al., 2012; CHAGAS JÚNIOR et al., 2010; FRIGO et al., 2014; SARR et al., 2015)

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes cultivares e sistemas de uso da terra no crescimento, nodulação e fixação de N₂ em feijão-caupi, no semiárido Pernambucano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e descrição da área experimental

A pesquisa foi desenvolvida em vasos a pleno sol, na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) –, em Serra Talhada-PE. Este município está localizado no sertão pernambucano na latitude 07° 59' 31" S, longitude 38° 17' 54" W, 429 m de altitude. O clima local, de acordo com a classificação de Koppen, é do tipo Bsh, denominado semiárido, com meses chuvosos compreendendo de janeiro a julho, com precipitação média anual de 650 mm e temperatura média anual de 29°C (MELO et al., 2008), constituída pela vegetação de Caatinga do tipo xerófita, herbácea e lenhosa de pequeno porte (CPRM, 2005).

2.2 Procedimentos experimentais e tratamentos

Para coleta dos solos foram selecionadas quatro áreas com diferentes usos da terra, localizadas no município de Serra Talhada (Figura 1), sendo área de caatinga preservada, sistema agroflorestal, área de pousio e área de monocultivo de feijão, cujas características estão descritas na tabela 1.



Figura 1. Mapa de localização das áreas com diferentes sistemas de uso da terra, Caatinga Preservada (A), Agrofloresta (B), Pousio (C) e Monocultivo de feijão-caupi (D). Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016. Fonte: Google Earth (2015).

Tabela 1. Caracterização das áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido de Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

Cobertura do solo	Coordenadas geográficas	Descrição da área amostrada	Ordem de Solo
Caatinga Preservada	07°57'07,4'' S 038°17'40,8'' W	Mata preservada localizada próxima UAST – UFRPE,	Cambissolo
Pousio	07°57'06,5'' S 038°17'41,1'' W	Policultivo – 3 anos sem cultivo, presença de apenas vegetação espontânea	Cambissolo
Agrofloresta	07°57'07,9'' S 038°17' 25,9'' W	Consócio de leguminosas arbóreas e herbáceas	Cambissolo
Monocultivo	07°56'15,9'' S 038°17' 25,9'' W	Monocultivo de feijão-caupi	Cambissolo

Foram coletadas 30 amostras simples para formação das amostras compostas de solo, na camada arável (0-20 cm), em cada área. Após secar ao ar, as amostras foram destorroadas e passadas em peneiras com malha de 2 mm para caracterização química, física e microbiológica.

As análises químicas realizadas foram o pH, determinado em água (1:2,5); o Ca, Mg e Al, que foram extraídos com KCl 1 mol/L e determinados por titulação; o K e o Na foram determinados por fotometria de chama; o P foi extraído com o extrator Mehlich 1 e determinado por espectrofotometria, o carbono orgânico foi determinado por titulação (SANTOS et al., 2009). A caracterização física constou das análises densidade do solo e das partículas e a textura do solo que foi realizada segundo métodos descritos por Amaro Filho et al. (2008). Além destas análises, foram realizadas a respirometria do solo, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (MENDONÇA & MATOS, 2005). Os resultados das amostras de solo estão apresentados nas Tabela 2, 3 e 4.

Tabela 2. Caracterização química de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido de Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

Cobertura do Solo	pH	N	C	P	K	Ca	Mg	Na	Al	H+Al
	Água	mg kg ⁻¹	dag kg ⁻¹	mg dm ⁻³	-----cmoc dm ⁻³ -----					
Caatinga Preservada	6,37	30,33	1,06	114,93	0,60	2,97	1,02	0,12	0,00	2,45
Pousio	6,76	26,44	0,73	105,97	0,75	2,85	0,86	0,11	0,00	2,15
Agrofloresta	6,35	27,22	0,77	75,12	0,73	2,93	1,37	0,11	0,00	2,29
Monocultivo	6,28	31,88	0,53	69,15	0,73	2,04	0,89	0,09	0,00	2,67

Tabela 3. Análises físicas e classificação textural de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

Cobertura do Solo	Ds	Dp	Granulometria (%)			Classificação Textural
	Mg m ⁻³		Areia	Silte	Argila	
Caatinga Preservada	1,45	2,58	73,0	11,7	15,3	Franco Arenoso
Pousio	1,61	2,75	77,2	10,1	12,8	Franco Arenoso
Agrofloresta	1,54	2,50	72,2	10,3	17,5	Franco Arenoso
Monocultivo	1,60	2,60	79,9	16,7	3,4	Franco Arenoso

Tabela 4. Análises microbiológicas de solos coletados em áreas com diferentes formas de uso da terra no semiárido Pernambuco. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 2016.

Cobertura do Solo	qCO ₂	N Biomassa	C Biomassa
	mgC-CO ₂ g ⁻¹	mg kg ⁻¹	µg g ⁻¹
Caatinga Preservada	21,3	4,3	219,9
Pousio	11,5	1,3	142,3
Agrofloresta	15,6	3,9	181,1
Monocultivo	9,63	1,3	116,4

Foram escolhidas para a instalação do experimento as variedades de feijão-caupi Paulistinha, Sempre verde e Canapu Roxo, por serem amplamente utilizadas na região. As sementes do feijão-caupi foram desinfestadas com álcool etílico a 95%, durante 1 minuto e submetidas à imersão com hipoclorito de sódio a 2%, durante 5 minutos, em seguida foram feitas 10 lavagens sucessivas com água destilada para retirar o excesso.

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 9 kg, sendo preenchidos com 7 kg de solo. Cada vaso recebeu 5 sementes, 10 dias após a germinação realizou-se o desbaste deixando 2 plantas por vaso. Durante a condução do experimento foi realizada irrigação diária.

2.3 Coleta, amostragem e análise do material vegetal

Após 35 dias da semeadura, ou no início da floração, as plantas foram coletadas, a parte aérea foi separada do sistema radicular. Os nódulos foram coletados e colocados em tubos de ensaio contendo sílica gel para o posterior isolamento bacterianos a ser usado como inoculante caseiro no experimento em campo.

Foram avaliadas as seguintes características: número e massa seca de nódulos (mg planta^{-1}), número de folhas, diâmetro do caule determinado através de um paquímetro digital e expresso em milímetros (mm), massa seca da parte aérea (g planta^{-1}) e massa seca de raízes (g planta^{-1}) (determinação da massa seca foi feita em estufa com circulação forçada de ar à temperatura $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, até atingir peso constante), nitrogênio acumulado na parte aérea foi determinado calculando-se o teor de N total analisado pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 2009) dado em g kg^{-1} de matéria seca multiplicando-se pela MSPA da planta, resultando em mg planta^{-1} e eficiência nodular ($\text{mg de N da massa seca de planta/mg de nódulos secos}$) $\times 100$, expresso em %.

2.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o DIC (delineamento inteiramente casualizado). O experimento foi composto por doze tratamentos, arranjos em esquema fatorial 4×3 , sendo o primeiro fator constituído por quatro diferentes usos de terra (área de caatinga preservada, sistema agroflorestal, área de pousio, e área de monocultivo de feijão) (Figura 1), e o segundo fator, por três cultivares locais de feijão-caupi (Paulistinha, Sempre verde e Canapu Roxo), com 5 repetições.

Os testes de normalidade e homogeneidade foram realizados, sendo as variáveis número de folhas, número e massa seca de nódulos, transformados pela raiz quadrada para ajustamento aos pré-requisitos da análise de variância (ANOVA). As análises estatísticas foram realizadas com o programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2008), as variáveis submetidas à análise de variância pelo Teste F e para aquelas em que o F foi significativo, comparação entre as médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hipótese da normalidade e homogeneidade dos dados foi aceita para todas as variáveis. Ocorreram efeitos isolados das cultivares e diferentes sistemas de uso da terra que influenciaram significativamente a variável massa seca de nódulos e nitrogênio total acumulado, além de diferenças somente no fator sistemas de uso da terra para o diâmetro do caule e massa seca da parte aérea. Para número de folhas por planta, massa seca de raízes, número de nódulos e eficiência nodular, observou-se interação significativa entre os fatores estudados (Tabela 5). Neste caso, analisou-se o fator cultivares dentro dos diferentes sistemas de uso da terra e o inverso.

Tabela 5 – Valores de “F” para número de folhas por planta (NF), diâmetro de caule (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), eficiência nodular (Efn), Serra Talhada, PE, UFRPE-UAST, 2015.

Fonte de variação	NF	DC	MSPA	MSR	NN	MSN	ANPA	Efn
Cultivares	48.59**	1.16 ns	2.02 ns	0.28 ns	2.38 ns	4.48 *	6.77 **	3.86 *
Uso da terra	30.38**	13.58 **	24.74 **	2.52 ns	4.42 **	7.64 **	23.42 **	8.14 **
Cultivar x uso da terra	5.79 **	0.49 ns	0.54 ns	4.47 **	3.36 **	1.72 ns	1.98 ns	4.85 **
CV (%)	6.49	7.12	30.04	22.76	16.05	15.61	35.02	18.51

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; ns – Não significativo.

Para a variável massa seca de nódulos a cultivar Paulistinha exibiu valores significativamente iguais a cultivar Canapu Roxo, e superior a Sempre Verde, correspondendo a 999,2, 963,9 e 850,9 mg planta⁻¹, respectivamente. Isso evidencia a capacidade dessas cultivares em serem noduladas e de fixarem nitrogênio (Figura 2). A massa seca de nódulos é uma variável utilizada para avaliação da eficiência simbiótica de bactérias capazes de nodularem leguminosas, fazendo parte do protocolo de avaliação de eficiência agrônômica de estirpes no Brasil (MAPA, 2011).

O nitrogênio total acumulado na parte aérea apresentou o mesmo comportamento da massa seca de nódulos, mostrando um comportamento semelhante entre as cultivares Paulistinha (487,02 mg planta⁻¹) e Canapu Roxo (566,22 mg planta⁻¹), sendo esta última superior a Sempre Verde (373,40 mg planta⁻¹). Dessa forma, sugere-se que quanto maior a massa seca de nódulos, maior a FBN, exibindo uma correlação positiva entre essas duas variáveis (DOBEREINER, 1966). Os Resultados dessas variáveis mostram-se superiores aos encontrados por Chagas Júnior et al. (2014), Xavier et al. (2007) e Almeida et al. (2010), em estudos de inoculação em cultivares de feijão-caupi.

No geral, a cultivar Sempre Verde revelou baixa capacidade de nodulação quando comparada as demais, porém superior as cultivares dos trabalhos anteriormente citados.

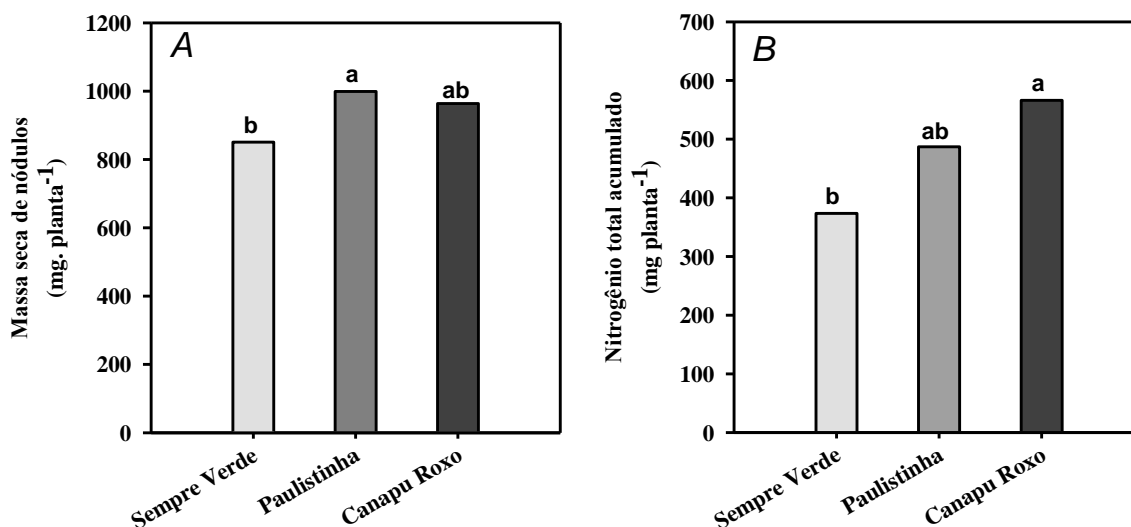


Figura 2. Médias dos dados de massa seca de nódulos (A) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (B) de diferentes cultivares de feijão-caupi. Barras sobrepostas por mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015.

A MSPA, DC e N acumulado na PA demonstraram o mesmo desempenho, tendo os solos provenientes de área de caatinga e agrofloresta os melhores resultados, não diferindo estatisticamente entre si (Figura 3). Quanto à massa seca de nódulos, os solos das áreas de caatinga, agrofloresta e pousio não apresentaram diferenças estatísticas, embora o solo da área de caatinga tenha proporcionado o maior valor (1,08 mg planta⁻¹). Os solos da área de caatinga e agrofloresta além de apresentarem melhores condições químicas e físicas, demonstraram possuir condições biológicas mais equilibradas, conforme pode ser observado

nas tabelas 2, 3 e 4, onde estão exibidos os dados de respirometria, carbono e nitrogênio da biomassa. Deste modo, solos mais estruturados possibilitam um melhor desenvolvimento da cultura. Além disso, a grande diversidade de bactérias diazotróficas nativas desses solos aumentam a probabilidade de nodulação, conseqüentemente melhores respostas pela referida cultura (RUMJANEK et al., 2005).

PEREIRA (2000), avaliando diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra (monocultura, agrofloresta, pastagem capoeira e floresta) na Amazônia, constatou que a pastagem capoeira foi o sistema que proporcionou os melhores resultados, devido as melhores condições químicas.

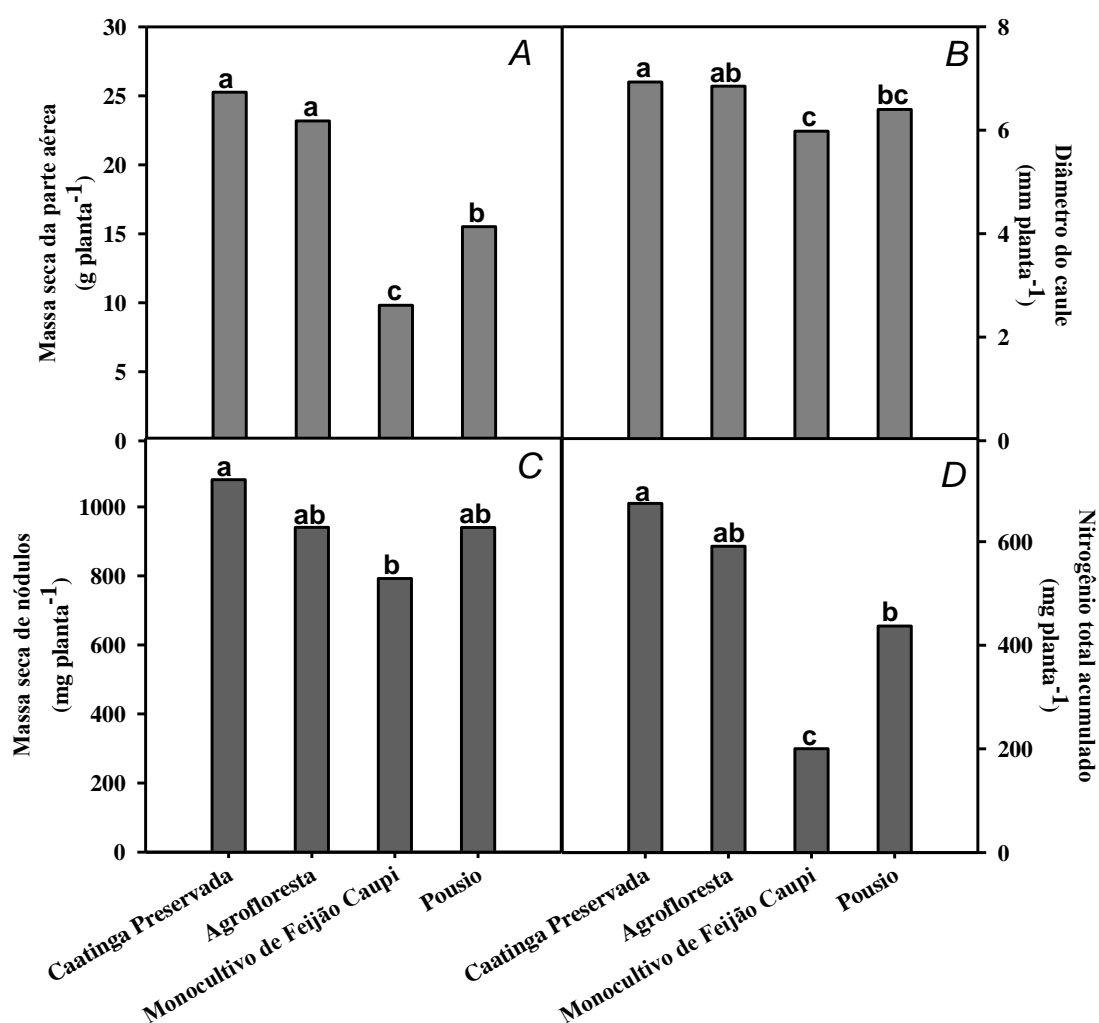


Figura 3. Médias dos dados de massa seca da parte aérea (A), diâmetro do caule (B), massa seca de nódulos (C) e nitrogênio total acumulado na parte aérea (D) submetidos a diferentes usos da terra. Barras sobrepostas por mesma letra não diferem a 5% pelo teste de Tukey. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015.

No geral, o solo oriundo da área de monocultivo de feijão-caupi mostrou os valores mais baixos para a MSPA, DC, MSN e N acumulado, o que pode está relacionado a piores condições químicas, físicas e biológicas da área (Tabela 2, 3 e 4), além de uma baixa diversidade de bactérias, indicando uma perda de potencial da FBN (NÓBREGA, 2006). A presença de N-mineral neste solo, também pode ter proporcionado um impedimento da nodulação, conseqüentemente fixação e acumulação de nitrogênio advinda da FBN.

Desdobrando as cultivares dentro dos usos da terra, pode-se observar que para a variável número de folhas, as cultivares Sempre verde e Canapu Roxo atingiram os melhores valores quando interagidas com os solos advindos de área de caatinga e agrofloresta enquanto que para a Paulistinha o resultado foi satisfatório somente interagindo com a área de caatinga (Tabela 6).

Para a massa seca de raízes não houve diferença estatística entre a cultivar Sempre verde e Paulistinha na interação com os usos de solo caatinga, agrofloresta e pousio, diferentemente da cultivar Canapu Roxo que não apresentou diferença estatística para os usos da terra nas áreas de caatinga, agrofloresta e monocultivo.

Tabela 6 - Valores médios de número de folhas e massa seca de raízes de três cultivares de feijão-caupi, interagidas em quatro diferentes usos da terra. Serra Talhada, UFRPE/UAST,

	Número de folhas (folhas planta ⁻¹)				Massa seca de raízes (g planta ⁻¹)			
	CP	AG	MFC	PO	CP	AG	MFC	PO
Sempre Verde	2.6065 bAB	2.8221 bA	2.2315 bC	2.4887 bBC	3.006 0 aA	2.2760 aAB	1.9940 bB	3.020 0 aA
Paulistinha	3.4855 aA	2.9638 bB	2.7531 aB	2.6823 bB	2.978 0 aA	2.2940 aAB	1.8700 bB	2.644 0 abAB
Canapu Roxo	3.2240 aAB	3.4013 aA	2.6678 aC	3.0574 aB	2.490 0 aAB	2.5200 aAB	3.0460 aA	1.838 0 bB

2015⁽¹⁾.

(1) CP – Caatinga Preservada; AG – Agrofloresta; MFC – Monocultivo de Feijão-caupi; PO – Pousio. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada característica, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Referindo-se ao número de nódulos, no geral não houve diferenciação estatística nas cultivares Sempre verde e Canapu Roxo para todos os usos de solo e Paulistinha para os usos de caatinga preservada, agrofloresta e pousio.

A eficiência nodular mostrou que a cultivar Paulistinha apresenta a melhor capacidade de nodulação, com resultados estatísticos significativamente iguais para todos os sistemas de uso da terra, isso indica maior beneficiamento dessa cultura pela FBN (Tabela 7). A cultivar Sempre verde apresentou melhor eficiência nodular para os usos de solo de caatinga preservada, pousio e agrofloresta, sendo esta última superior numericamente (4,44). A Canapu Roxo, não diferiu para o uso de caatinga preservada (4,05) e agrofloresta (4,90). A diferença entre cultivares para a eficiência nodular também foi evidenciada por Melo e Zilli (2009) no estado de Roraima e no Senegal por Fall et al. (2003).

Tabela 7 - Valores médios de número de nódulos e eficiência nodular de três cultivares de feijão-caupi, interagidas em quatro diferentes usos de terra. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015⁽¹⁾.

	Número de nódulos (nódulos planta ⁻¹)				Eficiência nodular (%)			
	CP	AG	MFC	PO	CP	AG	MFC	PO
Sempre Verde	13.92 aA	11.32 bA	10.25 abA	12.13 aA	3.62 aAB	4.44 aA	2.79 aB	3.64 aAB
Paulistinha	14.87 aA	16.01 aA	9.86 bB	13.05 aAB	3.48 aA	2.70 bA	3.38 aA	2.71 aA
Canapu Roxo	14.03 aA	10.83 bA	13.58 aA	13.51 aA	4.05 aAB	4.90 aA	2.56 aC	2.88 aBC

(1) CP – Caatinga Preservada; AG – Agrofloresta; MFC – Monocultivo de Feijão-caupi; PO – Pousio. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada característica, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Desdobrando os usos da terra dentro das cultivares, nota-se que para o número de folhas a área de caatinga não apresentou diferença estatística entre as cultivares. Em relação aos solos de agrofloresta e pousio, a cultivar Canapu Roxo sobressaiu-se as demais. Para o solo da área de monocultivo, a cultivar Canapu Roxo e Paulistinha não diferiram. Na massa seca de raízes, os solos da Caatinga preservada e agrofloresta foram significativamente iguais. No solo da área de pousio as cultivares Sempre verde e Paulistinha não diferiram

estatisticamente, diferentemente do solo da área de monocultivo onde a Canapu Roxo se destacou.

Para o número de nódulos não houve diferença estatística entre as cultivares para os solos da área de caatinga preservada e pousio. Nos solos da área de agrofloresta a cultivar Paulistinha foi superior, comportamento distinto do obtido pelo solo de monocultivo, onde as cultivares Sempre verde e Canapu Roxo foram superiores a cultivar Paulistinha. Os solos provenientes de área de caatinga preservada, monocultivo e pousio apresentaram eficiência nodular estatisticamente igual entre as cultivares, com exceção do solo de agrofloresta onde Sempre verde e Canapu Roxo foram estatisticamente iguais e superiores a Paulistinha.

No geral, as cultivares obtiveram melhores resultados para usos da terra das áreas de caatinga preservada, agroflorestral e pousio. Por se tratar de cultivares locais, adaptadas as condições da região, tendem a ser facilmente noduladas, além disso, semelhanças morfo-fenológicas contribuíram para esses resultados (XAVIER et al., 2007). A presença de maior diversidade de bactérias nesses solos facilita a interação com essas cultivares.

Soares et al. (2006) e Xavier et al. (2006), afirmam que a variação de nodulação é normalmente encontrada, uma vez que a eficiência nodular e o sucesso simbiótico dependem de fatores relacionados a cultivar e a estirpe, bem como a interação entre estas.

LEITE et al. (2009), estudando a biodiversidade de rizóbios associados a cultivares de feijão-caupi em solos do submédio do Vale do São Francisco, nos municípios de Juazeiro (BA) e Petrolina (PE), demonstraram que apesar de bactérias nativas possuírem alta capacidade de nodulação, o potencial de nodulação das cultivares pode ser bem variáveis, tendo as cultivares Sempre Verde e Canapu Roxo expressados os piores resultados, diferentemente dos encontrados no presente trabalho. Com isso, reforça-se a necessidade de investigação sobre a FBN em feijão-caupi com base na cultivar utilizada.

Os bons resultados ocorridos entre a área de monocultivo e as cultivares, sugere uma seletividade simbiótica dos genótipos vegetais (XAVIER et al., 2006). Além disso, a igualdade ocorrente entre as cultivares e os solos para algumas características, atestam a estimulação de populações de rizóbios pela planta hospedeira (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

4 CONCLUSÃO

As cultivares e os sistemas de uso da terra influenciaram todas as características do feijão-caupi.

As cultivares Paulistinhas e Canapu Roxo mostraram-se favoráveis para as características de nodulação e acumulação de nitrogênio, indicando dessa forma, aptidão para utilização como planta isca e adubo verde.

Os sistemas de uso de terra caatinga preservada e agrofloresta apresentaram as melhores respostas para o crescimento, nodulação e FBN para o feijão-caupi.

As cultivares de feijão-caupi apresentaram respostas positivas a fixação biológica do nitrogênio, sendo facilmente noduladas nos sistemas de uso da terra de áreas de caatinga preservada e agrofloresta, porém, as respostas e as simbioses dependem das condições genéticas das plantas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. L. G. Diagnóstico da fertilidade dos solos cultivados com feijão-caupi e eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio para o Estado do Piauí. Universidade Federal do Piauí, Teresina, 70p. 2008. (Dissertação de mestrado)
- ALMEIDA, A. L. G.; ALCÂNTARA, R. M. C. M.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Agrária**, v.05, n.03, p. 364-369, 2010.
- AMARO FILHO, J.; ASSIS JÚNIOR, R.N. & MOTA, J.C.A. Estrutura do solo. In: AMARO FILHO, J.; ASSIS JÚNIOR, R.N. & MOTA, J.C.A., ed. **Física do solo**. Fortaleza, Imprensa Universitária, p.107-133. 2008.
- ARAÚJO, M. S. B.; SCHAEFER, C. E. G. R.; SAMPAIO, E. V. S. B. Frações de fósforo após extrações sucessivas com resina e incubação, em Latossolos e Luvisolos do semi-árido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n.2, p. 259-268, 2004.
- BARBOSA, M. V. Utilização de rizóbios e fungo micorrizico arbuscular na implantação de um Sistema agroflorestral no semiárido pernambucano. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada - PE, 77p. 2013. (Dissertação de Mestrado)
- CHAGAS JR, A.F.; SANTOS, G.R.; REIS, H.B.; MILLER, L.O.; CHAGAS, L.F.B. Resposta de feijão caupi a inoculação com rizóbio e *Trichoderma* no cerrado, Gurupi, TO. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.7, n.2, p. 242-249, 2012.
- CHAGAS JÚNIOR, A. F.; OLIVEIRA, O. G.; SANTOS, G. R.; REIS, A. F. B.; CHAGAS, L. F. B. Promoção de crescimento em feijão-caupi inoculado com rizóbio e *Tricoderma* spp. No cerrado. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p.190 – 199, 2014.
- CHAGAS JUNIOR, A.F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R.R.; SANTOS, G.R. dos; CHAGAS, L.F.B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.4, p.709-714, 2010.
- CPRM: **Serviço Geológico do Brasil**: Projeto Cadastro de Fontes de Abastecimento por Água subterrânea de Pernambuco – Diagnóstico do município de Serra Talhada. Outubro de 2005. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/pernambuco/relatorios/SETA_148.pdf>. Acesso em 14 de março de 2015.
- DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. nov., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.1, n.1, p. 357–365, 1966.
- FALL, L.; DIOUF, D.; FALL-NDIAYE, M.A.; BADIANE, F.A.; GUEYE, M. Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] varieties determined by ARA and RAPD techniques. **African Journal of Biotechnology**, v.2, n.2, p.48-50, 2003.

FELEMA, J.; RAHIER, A. P.; FERREIRA, C. R. Agropecuária brasileira: desempenho regional e determinantes de produtividade. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.51, n.3, p. 555-573, 2013.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S. M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.8, p.1145-1150, 2002.

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

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

GUEDES, G. N.; SOUZA, A. S.; LIMA, A. S.; ALVES, L. S. Eficiência agronômica de inoculantes em feijão-caupi no município de Pombal – PB. **Revista Verde**. V.5, n.4, p. 82-89, 2010.

JESUS, E. D. C.; MOREIRA, F. M. S.; FLORENTINO, L. A.; RODRIGUES, M. I. D.; OLIVEIRA, M. S. Leguminosae nodulating bacteria diversity from three different land use systems in Brazilian Western Amazon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.8, p. 769-776, 2005.

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CAMPO, R. J. Genetic diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. **Applied Soil Ecology**. v.32, n.2, p.210-20, 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. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.5, p.1215-1226, 2009.

MELO, R.W.; FONTANA, D.C.; BERLATO, M.A.; DUCATI, J.R. An agrometeorological-spectral model to estimate soybean yield, applied to southern Brazil. **International Journal of Remote Sensing**, v.29, n.14, p. 4013-4028, 2008.

MELO, S. R.; ZILLI, J. E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1177-1183, 2009.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. Matéria orgânica do solo; métodos de análises. Viçosa: UFV; 2005. 107 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Protocolo oficial para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica de cepas, inoculantes e tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. Anexo à Instrução Normativa n. 13, de 25 de março de 2011.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.

NASCIMENTO, A. R. L. DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE RIZÓBIOS ASSOCIADOS AO FEIJÃO-FAVA NO SEMIÁRIDO. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada - PE, 53p. 2014. (Dissertação de Mestrado)

NÓBREGA, R. S. A. Efeito de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. Lavras. Universidade Federal de Lavras. 188p. 2006. (Tese Doutorado)

ONU – Organização das Nações Unidas <<http://www.onu.org.br/populacao-mundial-deve-atringir-96-bilhoes-em-2050-diz-novo-relatorio-da-onu/>>. Acesso em: 15 de abril de 2015.

PATIL, S.; REIDSMA, P.; PURUSHOTHAMAN, S. WOLF, J. Comparing onventional and organic agriculture in Karnataka, India: where and when can organic farming be sustainable?. **Land Use Policy**, v.37, p. 40-51, 2014.

PEREIRA, E. G. Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia. Universidade Federal de Lavras, 93p. 2000. Tese (Doutorado)

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES. M. C. P. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. DE A.; SILVA, P. H. S. DA; VIANA, F. M. P. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**, p. 279-335. 2005.

SANTOS *et al.* Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 628p. 2009.

SARR, P. S.; FUJIMOTO, S.; YAMAKAWA, T. Nodulation, Nitrogen Fixation and Growth of Rhizobia-Inoculated Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) In Relation with External Nitrogen and Light Intensity. **International Journal of Plant Biology & Research**, v.3, n.1, p. 1025-1036, 2015.

SILVA, G. A.; SIQUEIRA, J. O.; STURMER, S. L. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos sob diferentes sistemas de uso na região do Alto Solimões na Amazônia. *Acta Amazônica*, Manaus, 2009.

SOARES, A. L. L.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I - Caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n.5, p. 795-802, 2006.

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planatina: EMBRAPA-CPAC, 524p. 1997.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M.; RUMJANEK, N. G.; NEVES, M. C. P. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição *in vitro*. **Revista Caatinga**, v.20, n.4, p.01-09, 2007.

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. **Revista Caatinga**, v.19, n.1, p. 25-33, 2006.

XAVIER, T. F.; Araújo, A. S. F.; Santos, V. B.; Campos, F. L. Inoculação e adubação nitrogenada sobre a nodulação e a produtividade de grãos de feijão-caupi. **Ciência Rural**, v. 38, n. 07, p. 2037-2041, 2008.

CAPÍTULO 2 – EFICIÊNCIA DE DIFERENTES INOCULANTES E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA FIXAÇÃO DE N₂ E PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI

RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é cultivado mundialmente, onde no Brasil a região Nordeste é a maior produtora. É uma leguminosa de elevada importância socioeconômica, seja por fazer parte da alimentação, como também por sua capacidade de adaptação as mais diversas condições, bem como, pela geração de empregos. Geralmente, a produção é feita por pequenos e médios produtores de base familiar e com baixa utilização de tecnologia, resultando em baixas produtividades. Pelo alto custo de fertilizantes químicos, a inoculação das sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio tem se destacado como alternativa para reduzir os custos de produção de leguminosas, causados pela adubação nitrogenada. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes inoculantes produzidos a partir dos nódulos formados nas raízes de feijão-caupi, sob diferentes usos da terra e adubação nitrogenada, determinando qual dos tratamentos proporcionaram o melhor rendimento de grãos da cultura do feijão-caupi, no município de Serra Talhada, região semiárida do Estado de Pernambuco. Os nódulos de cada tratamento foram triturados, peneirados e misturados à goma de amido servindo como inoculantes no experimento em condições de campo. O experimento foi formado por sete tratamentos, sendo quatro inoculantes obtidos dos nódulos do experimento em vaso, um com adubação nitrogenada com 50 Kg de N na forma de uréia, um tratamento com inoculante comercial com a estirpe BR3267 e um controle sem adubação e sem inoculação, com 4 repetições. A inoculação com estirpes nativas da região semiárida de Pernambuco de áreas de agrofloresta e pousio, proporcionam boa nodulação, produção de massa seca e acúmulo de N na parte aérea, além de aumentos na produtividade de grãos, em relação aos tratamentos com inoculante comercial, controle e adubação mineral, podendo estas estirpes serem recomendadas para testes de eficiência agrônômica em outras regiões e posteriormente empregadas na produção de inoculantes comerciais.

ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Is a world produced culture where Brazil in the Northeast is the largest producer. It is a pulse of high socio-economic importance, is to be part of the food, but also by their ability to adapt, as well as the generation of jobs. Generally, the production is done by small and medium producers of family-based and low use of technology, resulting in low productivity. The high cost provided by chemical fertilizers, inoculation of seeds with nitrogen-fixing bacteria has been highlighted with an alternative to reduce legume production costs caused by nitrogen fertilization. The objective of the study was to evaluate the effect of different inoculants produced from the nodules formed in its roots under different land uses and nitrogen fertilization, determining which treatments provide the best performance of the cowpea crop in the municipality of Serra hewn, semiarid region of Pernambuco. The nodules were crushed, sieved and mixed with starch gum later serving as inoculants in an experiment under field conditions. The experiment consisted of seven treatments, four inoculants obtained from experimental nodules in vessel with nitrogen fertilization with 50 kg N as urea, a treatment with inoculant with BR3267 strain and a control without fertilization and without inoculation with 4 replications. Inoculation with native strains of the semiarid region of Pernambuco provided good nodulation, dry matter production and accumulation of N in the shoot, as well as increases in grain yield, compared to treatment with inoculant, control and mineral fertilizer, can these strains they are recommended for agronomic efficiency tests in other regions and later used in the production of inoculants.

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi é uma cultura de grande importância socioeconômica no Brasil, apresentando destaque como constituinte na dieta alimentar da população de baixa renda, principalmente das regiões norte e nordeste (FREIRE FILHO et al., 2011; SOARES et al., 2006). No semiárido nordestino, essa leguminosa é considerada como a principal cultura de subsistência, seja, por suas características de alta adaptabilidade às condições edafoclimáticas dessa região, pela sua precocidade dependendo da variedade, da resistência às condições de déficit hídrico, salinidade e temperatura elevada, como também pelo seu alto teor de proteína nos grãos, sendo também utilizada para alimentação dos animais, a partir do feno feito de seus ramos e folhas, forragem verde, ensilagem, farinha, adubação verde e proteção do solo (OLIVEIRA et al., 2002; TEIXEIRA et al., 2007; ALVES et al., 2009; BATISTA et al., 2012).

O cultivo do feijão-caupi normalmente é realizado por pequenos e médios produtores de agricultura familiar, que além de ser um componente na alimentação humana, torna-se uma fonte de geração de emprego, conseqüentemente, uma das fontes de renda alternativa, cujo excesso de produção é comercializado em feiras livres, sendo mais uma forma de fixar o homem no campo (XAVIER et al., 2007; BEZERRA et al., 2008). Essa cultura mantém a cada ano 1,2 milhão de empregos diretos (FREIRE FILHO, et al., 2011).

Segundo Freire Filho et al. (1999), a produtividade de grãos de feijão-caupi podem atingir valores mais elevados, podendo alcançar níveis de até 6 t.ha⁻¹. Essa produtividade não é alcançada, principalmente, pelas baixas tecnologias usadas pelos agricultores no cultivo dessa cultura, além da baixa disponibilidade de nutrientes do solo como o nitrogênio, gerando apenas cerca de 300 a 400 kg.ha⁻¹ (FREIRE FILHO et al., 2005; XAVIER et al., 2007).

Dessa forma, os agricultores requerem inovações tecnológicas de baixo custo, com potencial para incrementar a produção de grãos do feijão-caupi, uma vez que a maioria não dispõe de recursos financeiros suficientes para adquirir fertilizantes. Uma alternativa viável, mais econômica e ecológica para as leguminosas de grãos se dá pelo uso da fixação biológica de nitrogênio (FBN), que ocorre através da simbiose entre rizóbios-leguminosa, considerada a principal fonte de N em sistemas agrícolas e naturais (BOHLOOL et al., 1992; HUNGRIA & VARGAS, 2000), uma vez que podem reduzir ou substituir os fertilizantes nitrogenados, considerados onerosos e poluentes (MARTINS et al., 2003).

A estimativa da contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) na cultura do feijão-caupi está na ordem de US\$ 13 milhões, somente para a região Nordeste brasileira (RUMJANEK et al., 2005), assim, o uso de inoculantes com bactérias fixadoras mais eficientes, contribuem no aumento de até 50% na produtividade em algumas áreas produtoras, proporcionando um produto mais competitivo no mercado e um agrossistema mais sustentável.

Vários autores têm mostrado a eficiência da inoculação em relação à adubação nitrogenada, 1.953,99 e 1.823,92 kg.ha⁻¹(ALMEIDA et al., 2010); 2.232 e 1.355,00 kg.ha⁻¹ (BODDEY et al., 2013) e 1.231,75 e 880,4 kg.ha⁻¹ (GUALTER et al., 2011). Brito et al. (2011) constataram que as plantas de feijão-caupi acumulam primeiramente o N proveniente da FBN, em seguida, do solo e do fertilizante, e que a fixação simbiótica de N₂ em feijão-caupi submetido à inoculação pode substituir totalmente a adubação nitrogenada, inclusive as doses aplicadas antes das semeaduras.

Porém deve-se avaliar o potencial de nodulação dessa espécie em condições locais e consequente prospecção de micro-organismos do solo com potencial uso como inoculante, uma vez que a seleção de rizóbios provenientes do solo onde vai ser utilizado, visando a produção de inoculantes específicos, é um dos componentes fundamentais para o sucesso desse bioinsumo (SOUZA et al., 2007; NÓBREGA et al. 2012).

Através da inoculação de rizóbios, é possível produzir plantas autosuficientes na nutrição de nitrogênio aumentando assim a produtividade. Uma forma de aumentar o sucesso de inoculantes seria a utilização de estirpes nativas eficazes e competitivas para a nodulação.

Assim, pesquisas que avaliem a diversidade e bioprospecção de bactérias nativas do semiárido fixadoras de nitrogênio, como também o conhecimento ecológico e taxonômico de rizóbios isolados de nódulos de feijão-caupi são necessárias por serem estratégias importantes para a seleção de estirpes eficientes para a confecção de inoculantes e para uso biotecnológico, possibilitando dessa maneira um aumento de produção dessa cultura.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes inoculantes produzidos a partir dos nódulos formados nas raízes de feijão-caupi sob diferentes usos de terra e adubação nitrogenada, determinando qual dos tratamentos proporcionam o melhor rendimento da cultura do feijão-caupi, no município de Serra Talhada, região semiárida do Estado de Pernambuco.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e descrição da área experimental

As informações sobre localização, caracterização, instalação e condução dos experimentos, bem como, tratamentos, unidade e delineamento experimental para a captura das bactérias e a origem dos nódulos foram apresentadas no Capítulo 1. A partir dos nódulos provenientes do experimento em vaso, foram realizadas a preparação dos inoculantes.

A pesquisa foi desenvolvida em campo também na área Experimental da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Serra Talhada-PE. Os dados climáticos de precipitação e temperatura durante a condução dos experimentos encontram-se na Figura 4.

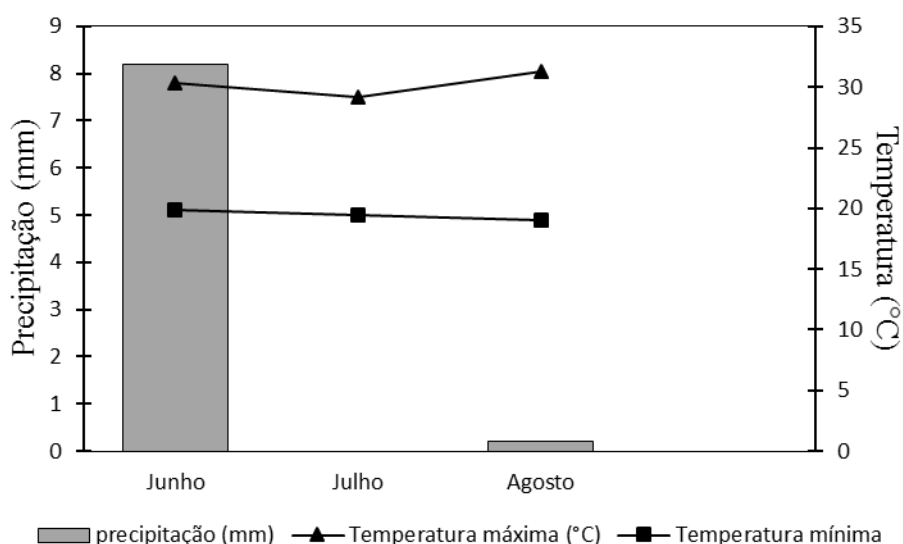


Figura 4. Dados climáticos médios de temperaturas (°C) máxima e mínima e precipitação referente aos meses de condução do experimento. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (<http://www.inmet.gov.br/portal/>).

2.3 Procedimentos experimentais e tratamentos

O experimento foi conduzido em condições irrigadas, com lâminas baseadas na evapotranspiração de referência, cuja a água apresentava condutividade elétrica de $2,70 \text{ dS m}^{-1}$, classificada como salinidade muito alta (ALMEIDA, 2010). A cultivar utilizada foi a

Paulistinha preferida pelos agricultores da região. O experimento foi composto por sete tratamentos, com quatro inoculantes resultantes dos nódulos do experimento em vaso (ICCP - inoculante caseiro proveniente de caatinga preservada; IAG - inoculante caseiro da área de agrofloresta; ICP - inoculante caseiro da área de pousio; ICM - inoculante caseiro da área de monocultivo de feijão-caupi); adubação nitrogenada com 50 Kg de N na forma de ureia; inoculante comercial com a estirpe 3267 (Icomercial) e a testemunha, com 4 repetições.

Antecedendo a semeadura do feijão-caupi, as sementes foram desinfestadas com álcool etílico a 95% durante 1 minuto e submetidas à imersão com hipoclorito de sódio a 2% durante 5 minutos, seguida por 10 lavagens sucessivas com água destilada para retirar o excesso. As sementes foram inoculadas no dia anterior à semeadura, sendo realizada manualmente.

O preparo do solo da área experimental consistiu de uma gradagem. Este solo apresentando a seguinte caracterização: pH 1:2,5 em água 6,90; C 0,71 dag Kg⁻¹ P 47 mg dm⁻³; Na⁺ 0,04 cmolc dm⁻³; K⁺ 0,69 cmolc dm⁻³; Ca⁺² 3,05 cmolc dm⁻³; Mg⁺² 0,70 cmolc dm⁻³; Al⁺³ 0,00 cmolc dm⁻³; H 1,40 cmolc dm⁻³; N 25,66 mg Kg⁻¹; Ds 1,60 Mg m⁻³. Cada tratamento foi disposto em parcelas com dimensões de 2,40 m de comprimento, por 3,50 m de largura, em cinco fileiras de plantas, sendo a área útil constituída das três fileiras centrais. A semeadura se deu a uma profundidade de aproximadamente 0,03 m, com quatro sementes por cova, espaçadas de 0,30 m entre si e 0,70 m entre fileiras, totalizando uma população de 47.620 de plantas ha⁻¹. Após 10 dias realizou-se o desbaste deixando uma planta por cova.

Após 35 dias da semeadura, no início da floração, as plantas foram coletadas e nessa ocasião, realizada a separação da parte aérea do sistema radicular de 8 plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela para as primeiras avaliações.

Foram avaliados o número e massa seca de nódulos (mg planta⁻¹), massa seca da parte aérea e raiz (kg ha⁻¹), nitrogênio acumulado na parte aérea (determinado calculando-se o teor de N total, analisado pelo método Kjeldahl (SANTOS et al., 2009), dado em g kg⁻¹ de matéria seca, multiplicando-se pela MSPA total por hectare, resultando em kg ha⁻¹).

A eficiência relativa (%) de cada tratamento, calculada segundo a fórmula (BERGENSEN et al., 1971): $ER = (MSPA \text{ inoculada} / MSPA \text{ com N}) \times 100$, em que ER é a eficiência relativa; MSPA inoculada é a matéria seca da parte aérea da planta com inoculação; e MSPA com N é a matéria seca da parte aérea da planta com N mineral.

As massas secas, também foram determinadas das mesmas plantas amostrais, após secagem em estufa com circulação forçada de ar, com temperatura regulada a 65 °C, até atingir peso constante.

Ao final do ciclo foram avaliadas as características de produtividade para as 10 plantas restantes da área útil, sendo elas: produtividade total (peso das vagens e grãos) expresso em kg ha^{-1} , produtividade de grãos secos (kg ha^{-1}), e nitrogênio de grãos (g kg^{-1}).

2.5 Preparo dos inoculantes

Para o preparo do inoculante caseiro ou extrato de nódulos, para a inoculação de 150 sementes de feijão-caupi, utilizou-se um volume de cerca de 10 ml de nódulos frescos. Os nódulos foram retirados e desinfestados com álcool a 70% por 2 min, em seguida em hipoclorito a 2% por 5 min e colocados em uma peneira e lavados em água esterilizada. Em seguida medido o volume em um recipiente graduado e adicionado o mesmo volume de água esterilizada, sendo homogeneizado com a ajuda de um pilão. Após isso, passado em peneira limpa e desinfestada com álcool a 70% e com hipoclorito a 2%.

O volume final do filtrado foi medido e adicionado o volume fixo da goma de amido resfriada (14 ml para 150 sementes) servindo como adesivo, completando-se o volume com água destilada de modo a se obter um volume final de inoculante de 1:1,5, em relação ao volume de sementes. Para 150 sementes o volume final do inoculante foi de 28 ml.

No preparo de goma de amido adicionou-se 1,5 g de polvilho doce para 100 ml de água filtrada, levado à fervura em fogo baixo e deixado esfriar.

2.5 Análise estatística

Os testes de normalidade e homogeneidade foram realizados, atendendo aos pré-requisitos da análise de variância (ANOVA). As análises estatísticas foram realizadas com o programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2008), as variáveis submetidas à análise de variância pelo Teste F e para aquelas em que o F foi significativo, comparação entre as médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, pode-se observar que houve diferença estatisticamente significativa para todos os dados avaliados (Tabela 8). De uma maneira geral, o inoculante produzido a partir dos nódulos provenientes da área de pousio obteve os melhores resultados, podendo está relacionado a diversos fatores, sejam eles edafoclimáticos, competição entre estirpes nativas e qualidade da água de irrigação.

Tabela 8 – Valores de “F” para massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), eficiência relativa (Efr), Produtividade total (PT), Nitrogênio de grãos (NG), Produtividade de grãos (PG). Serra Talhada, PE, UFRPE-UAST, 2015.

Fonte de variação	MSPA	MSR	NN	MSN	ANPA	Efr	PT	NG	PG
Tratamentos	11,32 **	11,48 **	13,40 **	15,03 **	14,87 **	10,79 **	3,07 *	10,1 9 **	19,39 **
CV (%)	13,07	13,56	11,17	17,34	13,92	13,07	21,73	6,02	17,45

** Significativo a 1% de probabilidade; * Significativo a 5% de probabilidade; ns – Não significativo.

Para a variável número de nódulos, o tratamento Inoculante caseiro da área de pousio (ICP) formou mais nódulos do que os demais tratamentos, demonstrando uma superioridade de 77 % em comparação com o inoculante comercial e 61 % com a adubação nitrogenada. O fato da área de cultivo localizar-se próximo a área de pousio, apresentando semelhanças em algumas características, colaborou com essas respostas, demonstrando também a alta capacidade de nodulação pelos rizóbios nativos nas plantas de feijão-caupi (RUMJANEK et al., 2005; ZHANG et al., 2007).

Para a massa de nódulos, os inoculantes caseiros e o controle não diferiam estatisticamente entre si, variando entre 144,5 e 179,5 mg planta⁻¹ (Tabela 9), mostrando uma maior eficiência simbiótica de bactérias diazotróficas nativas e melhor adaptação as condições edafoclimáticas da região do que as utilizadas comercialmente (RUMJANEK et al., 2005; MELO & ZILLI, 2009). Medeiros et al. (2007) avaliando a tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de solos dos municípios de Mossoró, Alto do Rodrigues e em Ceará-Mirim no Rio Grande do Norte, afirmaram que as estirpes testadas destes solos são

opções para a produção de inoculante uma vez que apresentam adaptabilidade à temperaturas elevadas e salinidades próximas ao encontrado no ecossistema do Semiárido, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo. Além disso, comprova a eficiência simbiótica dessas bactérias nativas em nodularem essa leguminosa.

A baixa nodulação e MSN no tratamento com 50 kg ha⁻¹ de ureia, deve-se principalmente ao papel inibidor do N-mineral na nodulação e eficiência da FBN. Na presença do N mineral, a demanda nutricional da planta é reduzida provocando redução da exsudação de flavonoides e conseqüentemente menor atração de bactérias e menor nodulação (HUNGRIA et al., 1994).

Tabela 9 - Valores médios de número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN) de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015⁽¹⁾.

Tratamentos	NN	MSN
	nódulos planta ⁻¹	mg planta ⁻¹
ICCP	90,25 bc	150,00 a
ICAG	96,75 bc	144,50 a
ICM	110,50 ab	150,50 a
ICP	126,75 a	180,25 a
IComercial	71,50 c	87,50 b
Ureia	78,00 c	59,50 b
Controle	114,75 ab	179,50 a
CV (%)	11.17	17.34

(1) Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey.

(2) ICCP-Inoculante caseiro da área de Mata de caatinga; ICAG- Inoculante da área de Agrofloresta; ICM- Inoculante da área de monocultivo de feijão-caupi; ICP- Inoculante da área de Pousio.

Os valores obtidos para a característica MSPA mostraram os inoculantes caseiros superiores ao inoculante comercial, ureia e controle, variando entre 675,17 a 782,58 kg ha⁻¹ (Tabela 10), não apresentando diferença estatisticamente significativa entre eles. Dessa forma, sugere-se que a realização da fixação de N₂ esteja sendo eficiente, ou seja, o funcionamento

adequado da atividade da enzima nitrogenase. Gualter et al. (2011) afirma que a fixação biológica de nitrogênio contribui significativamente para o aumento de nitrogênio na planta, consequentemente de massa seca da planta. Apesar do controle não apresentar diferença estatística quando comparado aos inoculantes caseiros para a MSN, a MSPA apresentou resultado inferior, demonstrando a importância da inoculação no crescimento mais rápido da população bacteriana próximo ao sistema radicular das plantas. Além disso, o alto nível de salinidade da água de irrigação e a presença de sódio no solo (ANDRADE et al., 2012; LEITE et al., 2009; XAVIER et al., 2007; ELSHEIKH, 1998), juntamente com a competição sofrida por bactérias diazotróficas nativas, não favorece o estabelecimento das estirpes introduzidas pelo inoculante comercial (SOARES et al., 2006; SANTOS et al., 2007).

Comportamento semelhante ao da MSPA foi observado para o parâmetro N total acumulado na parte aérea e eficiência relativa, indicando novamente que o nitrogênio presente na parte aérea das plantas de feijão-caupi foi oriundo da FBN. Os inoculantes proporcionaram aumentos significativos para MSPA, MSR e N acumulado das plantas, contribuindo para eficiências relativas (ER) superiores em relação ao tratamento com adubação nitrogenada.

A quantidade de N total acumulado na parte aérea é de grande importância na escolha da utilização de leguminosas como adubo verde, uma vez que o material será decomposto e N presente utilizado do desenvolvimento de uma cultura subsequente (NOSOLINE, 2012).

Tabela 10 - Valores médios de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) e eficiência relativa (Efr) de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015⁽¹⁾.

Tratamentos	MSPA	MSR	ANPA	Efr
	-----kg ha ⁻¹ -----			%
ICCP	763,38 a	86,51 a	18,52 a	176,68 ab
ICAG	782,58 a	100,03 a	18,35 a	186,32 a
ICM	778,94 a	88,18 a	15,38 abc	173,32 ab
ICP	675,17 ab	77,14 ab	17,74 ab	158,37 abc
IComercial	513,11 bc	60,72 b	12,16 bcd	136,86 bcd
Ureia	411,46 c	56,99 b	8,53 d	99,99 d
controle	470,05 bc	56,93 b	11,06 cd	119,69 cd
CV (%)	15,08	13,56	13,92	13,07

(1) Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey.

(2) ICCP-Inoculante caseiro da área de Mata de caatinga; ICAG- Inoculante da área de Agrofloresta; ICM- Inoculante da área de monocultivo de feijão-caupi; ICP- Inoculante da área de Pousio.

Apesar dos tratamentos com inoculantes caseiros apresentarem superioridade aos demais tratamentos em relação a matéria seca da parte aérea, em geral, não ocorreu diferença estatística para a produção total (3068,15 - 4615,89 kg ha⁻¹) (Tabela 11), com exceção do inoculante da área de pousio que se revelou superior a adubação com ureia (2681,46 kg ha⁻¹). Isso indica que a FBN foi um fator importante para a produção da cultura, suprimindo a necessidade de N requerida pela planta.

Em relação a adubação nitrogenada, níveis de salinidade muito alto na água de irrigação e temperaturas elevadas dificultam a absorção de água e conseqüentemente nutrientes pelas plantas provenientes de fertilizantes, ocasionando diminuição do crescimento e produção das plantas (XAVIER et al., 2007). Lima et al. (2009), estudando a resposta do feijão-caupi a salinidade da água de irrigação, demonstrou que a salinidade influenciou linearmente no crescimento vegetativo da cultura, onde o maior nível salino (5,0 dS m⁻¹) afetou a área foliar em 65,90%, matéria seca da parte aérea (66,94%), sendo encontrada uma redução de nódulos de 79,3% já no nível salino de 2,13 dS m⁻¹. Considerando que a água utilizada no estudo tinha uma CE de 2,70 dS m⁻¹, demonstra uma influência desse parâmetro

nos resultados obtidos e uma tolerância das bactérias diazotróficas presente no inoculante caseiro da área de pousio.

Quanto ao nitrogênio dos grãos os inoculantes provenientes da área de caatinga e pousio foram estatisticamente iguais e superiores aos demais, sendo o tratamento adubado com ureia o pior resultado (22,59 g kg⁻¹). O que indica que o nitrogênio dos grãos foi proveniente da FBN.

Na produção de grãos secos, os inoculantes derivados dos solos de Agrofloresta e pousio não diferiram estatisticamente entre si e foram superiores aos demais. A produção de grãos secos variou entre 624,64 a 1588,94 kg ha⁻¹ (Tabela 11), despontando acima da média nacional (366 Kg ha⁻¹). A salinidade da água de irrigação, como também o potencial genético da cultivar utilizada, são considerados dois dos principais motivos para as baixas produções de grãos.

Tabela 11 - Valores médios de produtividade total (PT), nitrogênio de grãos (NG) e produtividade de grãos (PG) de feijão-caupi, submetidas a inoculação e adubação nitrogenada. Serra Talhada, UFRPE/UAST, 2015⁽¹⁾.

Fonte de variação	NG	PT	PG
	g kg ⁻¹	-----kg ha ⁻¹ -----	
ICCP	28,47 ab	4439,89 ab	854,78 b
ICAG	26,17 bcd	4018,62 ab	1350,49 a
ICM	26,26 bc	3435,87 ab	624,64 b
ICP	30,01 a	4615,89 a	1588,94 a
IComercial	25,05 bcd	3978,13 ab	931,98 b
Uréia	22,59 d	2681,46 b	746,99 b
Testemunha	24,23 cd	3068,15 ab	639,83 b
CV (%)	6,02	21,73	17,45

(1) Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey.

(2) ICCP-Inoculante caseiro da área de Mata de caatinga; ICAG- Inoculante da área de Agrofloresta; ICM- Inoculante da área de monocultivo de feijão-caupi; ICP- Inoculante da área de Pousio.

Apesar da interferência causada por esses fatores, as respostas encontradas pela produtividade de grãos demonstraram valores superiores aos encontrados por Guedes et al. (2010) que obtiveram uma média de 850 kg ha⁻¹, sendo a maior produtividade constatada com

a estirpe UFLA 03-154 com 1.015 kg ha⁻¹ e menor produção com a estirpe BR 3267, aproximadamente 600 kg ha⁻¹. Avaliando inoculantes e adubação mineral, Gualter et al. (2008) obtiveram produções variando de 1105 a 1231,75 kg ha⁻¹; Silva et al. (2008) de 1.340 a 1.768 kg ha⁻¹ e Almeida et al. (2010) com produções de 1.823,92 a 1.953,99 kg.ha⁻¹, Boddey et al. (2012) encontraram produções de 1.355,00 a 2.232 kg.ha⁻¹ e produções de 880,4 a 1.231,75 kg.ha⁻¹ foram obtidas por Gualter et al. (2011), o que denota diferenças no potencial produtivo dos cultivares, bem como as condições edafoclimáticas particulares da região de cada estudo. Porém, nesse estudo, não se pode considerar baixa a eficiência dos inoculantes, uma vez que foram comprovados pela a eficiência relativa.

4 CONCLUSÕES

Os inoculantes caseiros das áreas de caatinga, agrofloresta e pousio, de modo geral, proporcionaram boa nodulação, produção de massa seca e acúmulo de N na parte aérea, quando comparados ao controle, ao inoculante comercial e a adubação nitrogenada, significando boas respostas da FBN.

As bactérias dos inoculantes caseiros foram tolerantes a condutividade elétrica de 2,70 da água de irrigação, sobressaindo-se ao inoculante comercial e a adubação nitrogenada.

A inoculação com estirpes nativas da região semiárida de Pernambuco de áreas de agrofloresta e pousio, proporcionam aumentos na produtividade de grãos, em relação aos tratamentos com inoculante comercial, controle e adubação nitrogenada, podendo estas estirpes serem isoladas e recomendadas para testes de eficiência agrônômica em outras regiões e posteriormente empregadas na produção de inoculantes comerciais.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. L. G.; ALCÂNTARA, R. M. C. M.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Agrária**, v. 05, n. 03, p. 364-369, 2010.

ALMEIDA, O. A. Qualidade da água de irrigação. Embrapa mandioca e fruticultura. Cruz das Almas. 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26783/1/livro-qualidade-agua.pdf>>. Acesso em 24 de abril de 2016.

ALVES, J. M. A.; ARAÚJO, N. P.; UCHÔA, S. C. P.; ALBUQUERQUE, J. A. A.; SILVA, A. J.; RODRIGUES, G. S.; SILVA, D. C. O. Avaliação agroecônômica da produção de cultivares da produção de cultivares de feijão-caupi em consórcio com cultivares de mandioca em Roraima. **Revista Agroambiente**, v. 3, n.1, p. 15-30, 2009.

ANDRADE, J. R.; BARBOSA, J. W. S.; ALENCAR, A. E. V.; NASCIMENTO, R.; MELO, D. F.; **Crescimento do feijão caupi submetido a inoculação com rizóbio e irrigação com água salina. Revista Verde (Mossoró – RN)**, v. 7, n.3, p. 06-09, 2012.

BATISTA, N. A. S.; LUZ, P. B.; PAIVA SOBRINHOS, S.; NEVES, L. G.; KRAUSE, N.; Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi pelo teste de condutividade elétrica de condutividade elétrica. **Revista Ceres**, v.59, p 550- 554, 2012.

BERGENSEN, F. J. et al. Studies of natural populations and mutants of Rhizobium in the improvement of legume inoculants. *Plant and Soil*, v. 46, p. 3-16, 1971.

BEZERRA, A. A. C.; TÁVORA, F. J. A. F.; FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q. Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.1, p.1519-5228, 2008.

BODDEY, R. M.; ATAKORA, W. K.; GUIMARÃES, A. P.; XAVIER, G. R. Sucesso na inoculação de feijão caupi com rizóbio na África Ocidental. In: Anais do III Congresso Nacional de Feijão Caupi, Recife, 2012.

BOHLOOL, B.B. et al. Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture: A perspective. **Plant and Soil**, The Hague, v.141, n.1/2, p.1-11, 1992.

BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 206-215, 2011.

ELSHEIKH, E. A. E. Effects of salt on rhizobia and bradyrhizobia: a review. **Annals of Applied Biology**, Lannham, v. 132, n. 3, p. 507-524, June 1998.

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

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (eds). Feijão-caupi: Avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 519p. 2005.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. de M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. do S. da R.; RODRIGUES, E. V. Feijão-caupi: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica. 81p, 2011.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, C. A. F., Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) na região do Nordeste. In: QUEIRÓZ, M. A. de; GOEDERT, C. O; RAMOS, S. R. R, (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina - PE: Embrapa Semi-Árido, Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999.

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

GUALTER, R.M. R.; Boddey, R. M.; Rumjanek, N. G.; Freitas, A. C. R.; Xavier, G. R. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.3, p.303-308,2011.

GUEDES, G. N.; SOUZA, A. S.; LIMA, A. S.; ALVES, L. S. Eficiência agronômica de inoculantes em feijão-caupi no município de Pombal – PB. **Revista Verde**. V.5, n.4, p. 82-89, 2010.

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

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio na soja. In: ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M (Eds.). Microrganismos de importância agrícola. Brasília: EMBRAPA-SPI, p. 9-89. 1994.

LEITE, J.; SEIDO, S. L.; PASSOS, S. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soils of the lower half of the São Francisco river valley. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.5, p.1215-1226, 2009.

MARTINS, L.M.V.; RANGEL, F.W.; XAVIER, G. R.; RIBEIRO, J.R. A.; MORGADO, L.B.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N. Contribution of biological nitrogen fixation to

cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, n. 6, p. 333-339, 2003.

MELO, S. R. de; ZILLI, J. E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1177- 1183, 2009.

NOBREGA, C. C; SANTOS, D. R.;ÓL, K. S. S.; OLIVEIRA, SILVA, J. L. L. Efetividade de linhagens de rizóbios nativos do semiárido. **Scientia Plena**, v.8, n.4, p. 1-4, 2012.

OLIVEIRA, A.P.; TAVARES SOBRINHO, J.; NASCIMENTO, J. T.; ALVES, A. U.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 2, p.180-182, 2002.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES. M. C. P. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. DE A.; SILVA, P. H. S. DA; VIANA, F. M. P. (Org.). Feijão caupi: avanços tecnológicos, p. 279-335. 2005.

SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; BORGES, W. L.; NEVES, M. C. P.; RUNJANEK, N. G.; NASCIMENTO, L. R.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; BEZERRA, R. V. Faixa hospedeira de rizóbios isolados das espécies *Arachis hypogaea*, *Stylosanthes guyanensis* e *Aeschynomene americana*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.1, p.20-27, 2007.

SANTOS *et al.* Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2.ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 628p. 2009.

SILVA, R. P.; SANTOS, C. E.; LIRA JÚNIOR, M. A.; STAMFORD, N. P. Efetividade de estirpes selecionadas para feijão caupi em solo da região semiárida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.2, p.105-110, 2008.

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

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

SOUZA, L.A.G.; BEZERRA NETO, E.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.2, p.207-217, 2007.

NOSOLINE, S. M. Avaliação da produção de biomassa vegetal e grãos por cultivares de feijão-caupi. Universidade Federal Rural do Rio janeiro. Seropédica – RJ. 59p. 2012 (Dissertação de Mestrado)

TEIXEIRA, N. J. P.; MACHADO, C. F.; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; GOMES, R. L. F. Produção, componentes de produção e suas inter-relações em enótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de porte ereto. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 374-382, 2007.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M.; RUMJANEK, N. G.; NEVES, M. C. P. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição *in vitro*. **Revista Caatinga**, v.20, n.4, p.01-09, 2007.

ZHANG, W. T.; YANG, J. K.; YUAN, T. Y.; ZHOU, J. C. Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Biology and Fertility of Soils**, v.44, n.1, p.201-210, 2007.