

RHAIANA OLIVEIRA DE AVIZ

INOCULAÇÃO DO FEIJÃO-CAUPI COM ESTIRPES DE ALFA E BETA-RIZÓBIOS  
NATIVAS DE SOLOS DO SEMIÁRIDO

Serra Talhada -PE

2022

**A  
V  
I  
Z  
  
R  
O  
  
I  
N  
O  
C  
U  
L  
A  
Ç  
Ã  
O  
  
D  
O  
  
F  
E  
I  
J  
Ã  
O  
-  
C  
A  
U  
P  
I  
.  
.  
.  
2  
0  
2  
2**

RHAIANA OLIVEIRA DE AVIZ

INOCULAÇÃO DO FEIJÃO-CAUPI COM ESTIRPES DE ALFA E BETA-  
RIZÓBIOS NATIVAS DE SOLOS DO SEMIÁRIDO

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.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup> Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos.

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup> Ana Dolores Santiago de Freitas.

Serra Talhada -PE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A959i

Aviz, Rhaiana Oliveira de  
INOCULAÇÃO DO FEIJÃO-CAUPI COM ESTIRPES DE ALFA E BETA-RIZÓBIOS NATIVAS DE SOLOS DO  
SEMIÁRIDO / Rhaiana Oliveira de Aviz. - 2022.  
50 f. : il.

Orientadora: Carolina Etienne de Rosalia e Silva Santos.  
Coorientadora: Ana Dolores Santiago de Freitas.  
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal  
, Serra Talhada, 2022.

1. Bradyrhizobium. 2. Eficiência simbiótica. 3. Paraburkholderia. 4. Vigna unguiculata. I. Santos, Carolina Etienne  
de Rosalia e Silva, orient. II. Freitas, Ana Dolores Santiago de, coorient. III. Título

CDD 581.15

---

RHAIANA OLIVEIRA DE AVIZ

INOCULAÇÃO DO FEIJÃO-CAUPI COM ESTIRPES DE ALFA E BETA-RIZÓBIOS  
NATIVAS DE SOLOS DO SEMIÁRIDO

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 27 de janeiro de 2022.

Banca Examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – UAST/UFRPE  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Ana Dolores Santiago de Freitas - UFRPE  
Co-orientadora, Examinadora externa

---

Dr. Aleksandro Ferreira da Silva – UniBRAS/Juazeiro  
Examinador Externo

Dedico à Valnice Castro (mãe) e Domingos Pereira (padrasto), por todo o amor, por sempre me apoiarem a buscar meu crescimento profissional e por me ajudarem de todas as formas à realizar meus sonhos.

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, pelas bênçãos recebidas e por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas e de bom coração.

Ao meu pai Régio Aviz (*in memoriam*), que era minha referência e durante a sua vida sempre esteve ao meu lado, dando amor, carinho, compartilhando sonhos, confiando no meu potencial e sempre me incentivando a pensar alto e também melhorar como pessoa.

À minha mãe Valnice Castro, minha irmã Rhaissa Aviz e meu padrasto Domingos Pereira, por serem meu lar, pelo amor e carinho, e também pela assistência durante toda a pós-graduação.

À minha orientadora Carolina Etienne por todo o conhecimento que adquiri através de seus ensinamentos, pelo acolhimento, pela parceria, e por todo o apoio que me deu durante a pós-graduação.

À irmã que ganhei na pós-graduação Nágila Guedes, por toda parceria e cumplicidade, por tornar meus dias mais alegres e por todo apoio.

Aos meus amigos Mayara Bernardo, Domingos Sávio, Baltazar Cirino, Pablo Henrique, Pablo Acácio, Erison Martins, Wagner Martins e Simone Andrea por toda amizade, pelos momentos de descontração e por me ajudarem em vários momentos da execução do meu trabalho de dissertação.

Ao Grupo de Fixação Biológica do Nitrogênio (GFBN) por disponibilizar todo o material biológico e estrutura para realização de análises do trabalho.

Ao Grupo de Agrometeorologia do Semiárido (GAS) por auxiliar na instalação e manutenção da irrigação do experimento.

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal e à Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização do mestrado em produção vegetal, e por toda a estrutura de aprendizado que possibilitou minha boa formação como profissional.

À CAPES pela concessão de bolsa e recursos para realização do trabalho.

À banca examinadora pela disponibilidade em avaliar este trabalho de dissertação.

Erros e acertos não nos definem, e sim a capacidade de continuar com o coração compassivo de que agora poderemos fazer ainda melhor, cultivando a nossa essência divina.

(Diego Ferrari)

## RESUMO

A fertilização química pode acarretar efeitos negativos para o meio ambiente e sustentabilidade financeira dos cultivos, por isso é importante buscar formas alternativas de aportar nutrientes, com destaque para a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar o desenvolvimento e produtividade do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) inoculado com estirpes de alfa e beta-rizóbios nativas de solos do semiárido. O estudo foi realizado na área experimental e laboratórios da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram realizados dois experimentos, sendo um para eficiência simbiótica dos isolados e outro para avaliação agrônômica em campo. No primeiro experimento foi adotado delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo avaliados 17 isolados de beta-rizóbios e 18 de alfa-rizóbios, e no segundo foi adotado delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições, sendo avaliadas 2 estirpes de beta-rizóbios e 2 de alfa-rizóbios selecionados no teste anterior. Para os dois experimentos foram adicionados os tratamentos controle inoculação com a estirpe recomenda (BR 3267), aplicação de fertilizante nitrogenado (80 kg.ha<sup>-1</sup>) e o tratamento sem inoculação e sem fertilizante nitrogenado (controle absoluto). Ao final de cada experimento foram avaliados parâmetros biométricos, nodulação, teor de N e PB, eficiências e produtividade. Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o software RStudio, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na fase de teste de eficiência simbiótica as estirpes de alfa e beta-rizóbios mostraram promissoras como inoculantes para o feijão-caupi devido apresentar resultados iguais ou superiores à estirpes registradas e também ao fertilizante nitrogenado. Para a fase de desempenho agrônômico do feijão-caupi inoculado foram escolhidas quatro estirpes sendo duas de alfa-rizóbios C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) e C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*), e duas de beta-rizóbios C60-2 (*Paraburkholderia sabiae*) e C33-4/1 (*Paraburkholderia sabiae*) devido apresentarem as maiores médias e serem originadas da região semiárida do sertão. Na fase de desempenho agrônômico do feijão-caupi inoculado a estirpes alfa-rizóbio C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*) se destacou dos demais tratamentos em todos os parâmetros propostos e a estirpe alfa-rizóbio C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) também se destacou em relação à produtividade. Conclui-se que as estirpes alfa-rizóbio C78-2 e alfa-rizóbio C98-3 podem ser recomendadas para a produção de inoculantes específicos para o feijão-caupi.

**Palavras-chave:** Bradyrhizobium; Eficiência simbiótica; Paraburkholderia; Vigna unguiculata.

## ABSTRACT

Chemical fertilization can have negative effects on the environment and on the financial sustainability of crops, so it is important to seek alternative ways of supplying nutrients, with emphasis on biological nitrogen fixation (BNF). Thus, this work aims to evaluate the development and productivity of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) inoculated with alpha and beta-rhizobia strains native to semiarid soils. The study was carried out in the experimental area and laboratories of the Serra Talhada Academic Unit (UAST), belonging to the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). Two experiments were carried out, one for the symbiotic efficiency of the isolates and the other for agronomic evaluation in the field. In the first experiment, a completely randomized design was adopted, with 3 replications, being evaluated 17 isolates of beta-rhizobia and 18 of alpha-rhizobia, and in the second, a randomized block design was adopted, with 4 replications, being evaluated 2 strains of beta-rhizobia. and 2 of alpha-rhizobia selected in the previous test. For both experiments, the control treatments inoculation with the recommended strain (BR 3267), application of nitrogen fertilizer (80 kg.ha<sup>-1</sup>) and the treatment without inoculation and without nitrogen fertilizer (absolute control) were added. At the end of each experiment, biometric parameters, nodulation, N and CP content, efficiencies and productivity were evaluated. Data were submitted to analysis of variance, using RStudio software, and means compared by Tukey's test at 5% probability. In the symbiotic efficiency test phase, the alpha and beta-rhizobia strains showed promising as inoculants for cowpea due to their results equal or superior to the registered strains and also to the nitrogen fertilizer. For the agronomic performance phase of the inoculated cowpea, four strains were chosen, two of alpha-rhizobia C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) and C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*), and two of beta-rhizobia C60-2 (*Paraburkholderia sabee*). and C33-4/1 (*Paraburkholderia sabee*) because they have the highest averages and originate from the semi-arid region of the sertão. In the agronomic performance phase of cowpea inoculated with alpha-rhizobium strains C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*) it stood out from the other treatments in all the proposed parameters and the alpha-rhizobium strain C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) also stood out in relation to to productivity. It is concluded that the alpha-rhizobium C78-2 and alpha-rhizobium C98-3 strains can be recommended for the production of specific inoculants for cowpea.

**Keywords:** Bradyrhizobium; Symbiotic efficiency; Paraburkholderia; *Vigna unguiculata*.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

<b>Figura 1-</b> condições climáticas em serra talhada nos meses de fevereiro à abril de 2021. ....	23
<b>Figura 2-</b> condições climáticas de serra talhada nos meses de julho à setembro de 2021. ....	24
<b>Equação 1.</b> Fórmula da eficiência relativa .....	29
<b>Equação 2.</b> Fórmula da eficácia.....	29
<b>Equação 3.</b> Fórmula da efetividade .....	29

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Caracterização química do solo da área experimental da UAST-UFRPE. ... 24
- Tabela 2** – Características de origem e capacidade de produzir AIA, biofilme e solubilizar fosfato de cálcio de isolados de alfa e beta-rizóbios, obtidos de nódulos de feijão-caupi cultivado em diferentes solos e municípios e os tratamentos controle. .... 25
- Tabela 3** - Dados de pH e condutividade elétrica da água utilizada durante o experimento. .... 30
- Tabela 4** - Resultados dos parâmetros biométricos avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 32
- Tabela 5** - Resultados dos parâmetros de nodulação aos 45 dias avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 34
- Tabela 6** - Resultados dos parâmetros de eficiência de fixação de N aos 45 dias avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 35
- Tabela 7** - Resultados dos parâmetros biométricos avaliados em plantas de feijão-caupi aos 45 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 37
- Tabela 8** - Resultados dos parâmetros de nodulação avaliados em plantas de feijão-caupi aos 45 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 37
- Tabela 9** - Resultados dos parâmetros de produtividade avaliados em plantas de feijão-caupi aos 57 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. .... 38
- Tabela 10**- Resultados dos parâmetros de teor de N e PB avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle. ... 39

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1. USO INTENSIVO DE FERTILIZANTES INORGÂNICOS E SEUS EFEITOS NA BIODIVERSIDADE MICROBIANA NO SOLO.....	17
2.2. INOCULANTES À BASE DE RIZOBACTÉRIAS .....	18
2.3. BACTÉRIAS FIXADORAS DE N <sub>2</sub> .....	20
2.4. CULTIVO DO FEIJÃO CAUPI NO SEMIÁRIDO.....	21
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
<b>4. RESULTADOS</b> .....	32
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	44
<b>REFERENCIAS</b> .....	45

## 1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos os produtores rurais utilizam técnicas com o objetivo de aumentar a produtividade das culturas, como aplicação de fertilizantes e produtos químicos para combater patógenos, pragas e disponibilizar nutrientes para as plantas. Atualmente, estima-se que 50% dos nutrientes absorvidos pelas plantas são originados de fertilizantes inorgânicos, que proporcionam aumento de produtividade, entretanto, muitas vezes são aplicados com uma frequência muito alta, o que pode causar degradação do solo (LI et al., 2020; SANTOS; PEREIRA; LANA, 2019). Por isso é necessário buscar formas alternativas de manejo que proporcione a preservação do ambiente de cultivo e que a planta consiga ter um bom desenvolvimento. Uma alternativa para contornar essa problemática no campo é a inoculação com microrganismos promotores de crescimento e fixadores de nitrogênio em culturas de interesse (PAHARI et al., 2020).

Os inoculantes biológicos são produtos que estão sendo utilizados pelos produtores como alternativa para aquisição de nutrientes e economia com fertilizantes industrializados. Esse produto é regulamentado pelo Decreto Nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, que estabelece as normas sobre seu registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e comércio, e o define como “produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas”, e que deve possuir apenas os microrganismos especificados (BRASIL, 2004). Dessa forma, no mercado há inoculantes à base de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e rizobactérias associativas e simbiotes fixadoras de nitrogênio.

Para obtenção de nitrogênio a inoculação em sementes de plantas com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ), tem mostrado resultados bastante promissores, relatados em vários trabalhos científicos com espécies vegetais de interesse econômico, isso porque as bactérias fixadoras de  $N_2$ , através do complexo enzimático chamado nitrogenase, conseguem fixar o nitrogênio atmosférico e disponibiliza-lo para a planta em sua forma assimilável ( $NH_4^+$ ) (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015). Essas bactérias podem ser de vida livre, associativas ou capazes de realizar simbiose com plantas leguminosas. Através de processos fisiológicos, além de realizarem a fixação do nitrogênio, algumas também podem solubilizar fosfato, mineralizar compostos orgânicos e produzir fitohormônios como auxina. Alguns estudos mostram que essas bactérias conferem às plantas maior tolerância à estresse hídrico e salino (ASGHARI; KHADEMIAN; SEDAGHATI, 2020; TAHIR et al., 2019).

Apesar de apresentar várias vantagens para o desenvolvimento das plantas, as bactérias de inoculantes comerciais podem ter sensibilidade aos estresses abióticos do local a serem introduzidas, e isso pode diminuir a eficiência do produto. Dessa forma é importante a seleção de bactérias que sejam adaptadas ao ambiente de cultivo (GARCÍA et al., 2017). O uso de estirpes nativas pode melhorar o desenvolvimento de plantas em ambientes estressantes. Esses benefícios foram evidenciados no estudo realizado por Mengual et al. (2014), que investigaram a contribuição das estirpes nativas (*Bacillus megaterium*, *Enterobacter* sp, *B. thuringiensis* e *Bacillus* sp) inoculadas em mudas de *Lavandula dentata* L. para revegetação de uma área semiárida no Mediterrâneo, e verificaram que os tratamentos com inoculação de estirpes nativas, além de proporcionar melhora no desenvolvimento das plantas, também mostraram aumento de carbono orgânico total, carboidratos solúvel em água e glomalina no solo, que são importantes fontes de carbono para a microbiota presente. Cultivos em regiões de clima semiárido podem ser dificultados por longos períodos de seca e pouca precipitação, por isso é importante o isolamento e seleção de bactérias mais resistentes e promissoras na produção de novos inoculantes mais específicos para as nossas condições ambientais (SCHOEBITZ; MENGUAL; ROLDÁN, 2014).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de grande importância agrícola em regiões semiáridas, devido à sua rusticidade, tolerância ao déficit hídrico e altas temperaturas, além disso é fonte de proteínas, minerais e fibras, por isso seu cultivo é realizado principalmente por agricultores familiares que dispõem de baixa tecnologia de produção (BASTOS, 2016). Além de produzir grãos também produz biomassa rica em nitrogênio, conferindo alto potencial como cobertura de solo, adubo verde e forragem (HUTCHINSON; MCGIFFEN, 2000; IQBAL et al., 2018). Apesar de sua importância, a produtividade dessa cultura na região semiárida do Brasil ainda é baixa comparada ao cultivo em outras condições edafoclimáticas, mesmo com a prática da inoculação com bactérias nodulíferas e fixadoras de N<sub>2</sub>. Por apresentarem maior adaptação e competitividade em solos semiáridos acredita-se que a inoculação de bactérias nativas dessa região possa aumentar a quantidade de nitrogênio fixado e proporcionar melhores condições para o aumento da produtividade do feijão-caupi (SANTOS et al., 2017a).

Dentre as bactérias que são utilizadas para obtenção de um inoculante para leguminosas, as pertencentes aos grupos alfa e betaproteobactérias, possuem grande importância devido à capacidade de formar simbiose com leguminosas e fixar N<sub>2</sub>, por

isso também são conhecidos como alfa e beta-rizóbios. Algumas bactérias também possuem a capacidade de produzir outros compostos como a enzima ACC-desaminase, auxinas, e também têm a capacidade de solubilizar fosfato (MADIGAN et al., 2016). Para o feijão-caupi as estirpes recomendadas para inoculação são pertencentes ao grupo das alfa-proteobactérias, devido à alta eficiência simbiótica, principalmente com o gênero *Bradyrhizobium*, (CHIDEBE; JAISWAL; DAKORA, 2017; MARINHO ET AL., 2017). Nesse contexto, poucos são os trabalhos com a inoculação de beta-proteobactérias em feijão-caupi, pois a sua capacidade de nodular leguminosas tropicais e fixar N<sub>2</sub> foi descoberta recentemente. Silva (2019a) trabalhando com solos do semiárido, sob vegetação de caatinga, encontrou grupos de beta-proteobactérias nodulando o feijão-caupi. De maneira geral, os trabalhos existentes mostram ótimos resultados de fixação de nitrogênio, principalmente quando são utilizadas estirpes de *Paraburkholderia* (HASSEN; LAMPRECHT; BOPAPE, 2020).

A partir do exposto, pressupõe-se que a inoculação com estirpes de alfa e beta-proteobactérias, obtidas de nódulos de feijão-caupi cultivado em solos da região semiárida, proporcione o incremento no desenvolvimento da leguminosa e, além disso, aumente a quantidade de nitrogênio fixado em comparação ao uso de estirpes comerciais e fertilizantes nitrogenados. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de alfa e beta-rizóbios nativos de solos sob vegetação de caatinga preservada sobre o desenvolvimento, produtividade e fixação biológica de N<sub>2</sub> em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. USO INTENSIVO DE FERTILIZANTES INORGÂNICOS E SEUS EFEITOS NA BIODIVERSIDADE MICROBIANA NO SOLO.**

Desde os primórdios da história da agricultura o ser humano busca técnicas que facilitem e incrementem a produção das culturas, e um marco da modernização agrícola foi o início da Revolução Verde (JONES et al., 2013). Esse período de modernização teve início a partir de 1945, e foi caracterizado pelo uso de práticas com objetivo de aumentar a produtividade, como cultivo intensivo através da monocultura, uso de maquinário agrícola, aplicação de fertilizantes inorgânicos, defensivos químicos, entre outros (DUTRA; SOUZA, 2017). Apesar do aumento considerável de produção por área de plantio, o uso contínuo e intensivo dessas técnicas comprometem as características físicas, químicas e biológicas do solo, causando a sua degradação. Segundo Zhang et al. (2017) e Xie et al. (2018), avaliando o efeito da aplicação de fertilizantes inorgânicos no solo à longo prazo, constataram que houve aumento da acidificação, diminuição da população microbiana e carbono orgânico no solo.

A biodiversidade microbiana tem importante papel na manutenção da fertilidade do solo, pois é capaz de mineralizar nutrientes, degradar compostos e resíduos vegetais presentes no solo em aminoácidos, lipídeos e proteínas, além disso também podem ser usada para biorremediação de solos contaminados (MATTOS, 2015), como constatado por Taiwo et al. (2016), que avaliaram o efeito dos microrganismos disponibilizados no solo através de composto na remediação de um solo contaminado com metais pesados, e obtiveram resultado positivo em relação à taxa de remoção de manganês (Mn), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e crômio (Cr) do solo. Apesar disso, algumas características físico-químicas do solo como pH, temperatura, umidade e porosidade do solo, podem ser fatores limitantes para o aumento ou diminuição da população microbiana (MATTOS, 2015). Du et al. (2019) que avaliaram o efeito de corretivos químicos e fertilizantes inorgânicos (NPK) no solo sobre a comunidade microbiana durante 35 anos, constataram que com o aumento da aplicação de nitrogênio inorgânico houve diminuição do pH do solo, e como existe uma alta correlação entre o nível de pH e a biodiversidade microbiana, isso provocou diminuição da população microbiana devido à sensibilidade a acidez.

Atualmente há uma preocupação relacionada aos efeitos que as práticas de cultivo convencional podem causar no ambiente, por isso muitos são os estudos voltados para os métodos sustentáveis de conservação, recuperação e fertilização de solos (TERAVEST et al., 2015; XIONG; SUN; CHEN, 2018), e que sejam também de baixo custo e

proporcionem produtividade igual ou superior ao manejo da agricultura convencional (LANKA; KHADAROO; BÖHM, 2017). As principais técnicas utilizadas por agricultores que estão aderindo à agricultura sustentável proporcionam a ciclagem de nutrientes, aumento de matéria orgânica e atividade microbiana do solo em agroecossistemas, como plantio direto, consorciação com plantas leguminosas, uso de compostagem e biofertilizantes (CORATO, 2020; FUENTES-LLANILLO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2010).

## 2.2. INOCULANTES À BASE DE RIZOBACTÉRIAS

Os inoculantes são produtos que estão sendo utilizados pelos produtores como alternativa para aquisição de nutrientes e economia com fertilizantes químicos. Esse produto é regulamentado pelo Decreto Nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, que estabelece as normas sobre seu registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e comércio, e o define como “produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas”, contudo deve possuir apenas os microrganismos especificados (BRASIL, 2004). Dessa forma, no mercado há dois tipos de inoculantes, à base de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e Rizóbios fixadores de nitrogênio.

A inoculação de plantas com bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> tem mostrado resultados bastante positivos em vários trabalhos científicos com espécies vegetais de interesse econômico. Pesquisas voltadas para o cultivo de grãos (WALKER et al., 2011; XIAO et al., 2017), hortaliças (FLORES-FÉLIX et al., 2013; TRIPTI et al., 2017) e frutíferas (FUNES PINTER et al., 2018; YUAN et al., 2013), mostraram que a inoculação das plantas com rizobactérias promoveu aumento da biomassa, comprimento da parte aérea e raiz, diâmetro do caule, quantidade de folhas e maior absorção de nutrientes pela planta. Essa melhora nas características produtivas dos vegetais está ligada ao fato dessas bactérias realizarem alguns processos, como fixação biológica do nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de sideróforos (compostos orgânicos que aumentam a captação de ferro), produção de fitohormônios como gibberelinas, citocianinas, ácido abscísico, etileno, brassinoesteróides, e auxinas, além disso também produzem enzimas, como β-1,3-glucanase, ACC-desaminase e quitinase que protegem as plantas de ataques de patógenos e conferem resistência à ambientes estressantes (PAHARI et al., 2020; VASSILEV et al., 2015).

As bactérias que compõe esses inoculantes estão presentes naturalmente no solo, principalmente na porção onde estão localizadas as raízes das plantas, a chamada

rizosfera. Essa zona tem suas características bioquímicas influenciadas pela atividade das raízes das plantas, que exsudam enzimas, aminoácidos, polifenóis, entre outros compostos (CARDOSO; ANDREOTE, 2016; PAHARI et al., 2020). Ankati e Podile (2019) verificaram que os exsudatos das raízes de amendoim possuíam ácidos carboxílicos, aminoácidos, ácidos graxos, hidrocarbonetos, e que proporcionaram aumento da colonização de rizobactérias, além disso esses compostos também interagem com essas bactérias, pois possuem também função de sinal bioquímico para nodulação das raízes (VIVES-PERIS et al., 2018).

Alguns estudos mostram que inoculantes comerciais podem perder seu efeito benéfico quando introduzido em condições de solo que não proporcionem a proliferação e nodulação nas raízes por essas estirpes, dentre alguns fatores podemos citar condições de estresses abióticos (como salinidade e temperatura elevada)(QUAGLIOTTO et al., 2009; VIVES-PERIS et al., 2018) e a competição e antagonismo entre as estirpes nativas e as introduzidas no solo (NUZZO et al., 2020). Ouma et al. (2016), em seu trabalho voltado para a eficiência da nodulação de estirpes de rizóbios nativos e comerciais em feijão e soja, verificou que houve maior nodulação das estirpes nativas do que estirpes comerciais. Segundo Schmidt et al. (2015), para que haja eficiência de nodulação equiparada, é necessário uma aplicação de inoculante comercial aproximadamente 100% maior em relação ao inoculante à base de bactérias nativas, o que pode aumentar o custo de produção, entretanto a eficiência da nodulação por estirpes comerciais pode ser aumentada se o solo for pobre em biomassa microbiana nativa.

As estirpes de rizóbios nativos ou indígenas, são as presentes naturalmente no solo de determinado local, e que tem a capacidade de realizar simbiose com leguminosas, podendo promover os mesmos benefícios do inoculante comercial. Além de possuir capacidade nodulífera e fixadora de  $N_2$ , essas estirpes também conseguem proteger a planta de estresses abióticos (YASIN et al., 2018), pragas e doenças (GADHAVE; HOURSTON; GANGE, 2016), isso porque já possuem uma adaptação à essas condições desfavoráveis. Raklami et al. (2019) também observou em seu estudo com feijão fava e trigo duro, que a inoculação desses vegetais com estirpes nativas além de aumentar a produtividade, melhora as características do solo, como pH, matéria orgânica, carbono e nitrogênio disponível em solos de região semiárida. Dessa forma, a inoculação de espécies vegetais de interesse com estirpes de rizobactérias nativas do local de plantio é uma alternativa bastante promissora para incrementar o desenvolvimento de culturas, mesmo em ambientes estressantes.

### 2.3. BACTÉRIAS FIXADORAS DE N<sub>2</sub>

No solo há uma diversidade de espécies de bactérias presentes, entretanto a fixação biológica do nitrogênio através de simbiose e associação com vegetais se restringe a três grupos, sendo eles cianobactérias (*Anabaena*), actinomicetos gram-positivos (*Frankia*) e os rizóbios (gram-negativas). Os rizóbios é o principal grupo de interesse agrícola, pois ele é capaz de estabelecer simbiose principalmente com espécies leguminosas, como feijão, soja e ervilha, entre outras, dessa forma é o principal grupo utilizado para a produção de inoculantes comerciais (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015). Dentro desse grupo as bactérias podem ser classificadas de acordo com a sequência do gene 16S do RNA ribossomal em Alpha, Beta, Gama, Delta, Epsilon e Zetaproteobacteria, e dentro de cada um há uma diversidade de gêneros (MADIGAN et al., 2016).

As alphaproteobactérias são a segunda maior classe de proteobactérias, possuindo cerca de quase mil bactérias descritas, só fica atrás da gammaproteobactéria (possui cerca de 1.500 espécies catalogadas), e dentro dessa classe há bactérias que possuem alguns metabolismos peculiares, como fixação do nitrogênio, redução de sulfato, Metilotropia e Fototropia anoxigênica. Em relação à fixação do nitrogênio, os gêneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Microvirga* se destacam nessa função, realizada através de simbiose com plantas ou de forma livre no solo (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; MADIGAN et al., 2016). Na literatura há estudos que revelam a eficiência desses gêneros para a melhora no desenvolvimento de vegetais, como encontrado em estudos realizados por Menéndez et al. (2020), Nagpal et al. (2020) e Sethi, Mohanty e Pattanayak (2019), onde esses gêneros de bactérias possuem a capacidade de realizar produção de auxina, solubilizar fósforo, produzir enzimas como ACC-desaminase, além disso promoveram, através da fixação do nitrogênio, melhora no desenvolvimento vegetativo de leguminosas e aumento de produtividade.

Em relação as betaproteobactérias, essa classe é a terceira maior, possuindo aproximadamente 500 espécies descritas. Dentre os gêneros presentes, a *Burkholderia* é a que abriga maior quantidade de indivíduos, além disso a maioria tem a capacidade de realizar a fixação biológica do nitrogênio, tanto em simbiose como em vida livre. Segundo (Lardi et al. (2017), Paungfoo-lonhienne et al., (2016) e Santos et al., (2017), o uso de inoculantes contendo bactérias desse gênero promove melhora no desenvolvimento vegetativo e produtividade de diversos vegetais, devido à fixação do nitrogênio, entre eles podemos citar o sorgo, cana de açúcar e leguminosas como feijão-caupi. Além disso, o

uso dessa bactéria também se mostrou eficiente para biorremediação, como observado nos trabalhos Chen et al. (2017) e Liu et al. (2019), onde além de quebrar as moléculas tóxicas no solo, melhora o desenvolvimento vegetativo das plantas em solos contaminados com fenóis e metais pesados.

Para o feijão-caupi as estirpes de rizóbios recomendados para inoculação são pertencentes ao grupo das alfaproteobactérias, devido à alta eficiência simbiótica, que é evidenciada em vários trabalhos científicos, como por exemplo os trabalhos realizados por Chidebe, Jaiswal, Dakora (2017) e Marinho et al. (2017) que verificaram a filogenia de estirpes de bactérias que nodularam feijão-caupi e os resultados mostraram uma predominância do gênero *Bradyrhizobium*. Dessa forma, poucos são os trabalhos com a inoculação de betaproteobactérias em feijão-caupi.

#### 2.4. CULTIVO DO FEIJÃO CAUPI NO SEMIÁRIDO.

Cultivos em regiões de clima semiárido podem ser dificultados por longos períodos de seca. Estudos voltados para a caracterização dos solos semiáridos, como o realizado por Farias et al., 2017, mostram que esses solos possuem tendência a alcalinidade e aumento da condutividade elétrica devido à baixa precipitação (diminuindo a remoção de cátions por lixiviação), além disso possuem baixa CTC e carbono orgânico total, indicando baixa fertilidade natural. Devido essas condições os agricultores familiares locais, que dispõem de baixa tecnologia produtiva, optam pelo uso de culturas que apresentam adaptação às essas condições adversas, como por exemplo mandioca, mamona, amendoim e feijão-caupi.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de bastante importância agrícola em regiões semiáridas, devido à sua rusticidade, tolerância ao déficit hídrico e altas temperaturas, além disso é fonte de proteínas, minerais e fibras, por isso seu cultivo é realizado principalmente por agricultores familiares que dispõem de baixa tecnologia de produção (BASTOS, 2016). Além de produzir grãos também produz biomassa rica em nitrogênio, conferindo alto potencial como cobertura de solo, adubo verde e forragem (HUTCHINSON; MCGIFFEN, 2000; IQBAL et al., 2018).

Apesar de sua importância, a produtividade dessa cultura ainda é baixa comparado ao cultivo em outras condições edafoclimáticas, mesmo com a prática da inoculação com bactérias nodulíferas e fixadoras de N<sub>2</sub>. No trabalho realizado por Marinho et al. (2017), avaliando a eficiência agrônômica de cultivares de feijão-caupi inoculados com rizóbios nas condições do semiárido brasileiro, a cultivar BRS Pujante atingiu produtividade de

cerca de 1.800 kg.ha<sup>-1</sup>, entretanto essa ainda foi inferior a produtividade obtida por Silva et al. (2019), que avaliou desempenho agrônômico de genótipos de feijão-caupi em Minas Gerais e para essa mesma cultivar apresentou produtividade de cerca de 2.230 kg.ha<sup>-1</sup>, representando uma diferença de 19,28%.

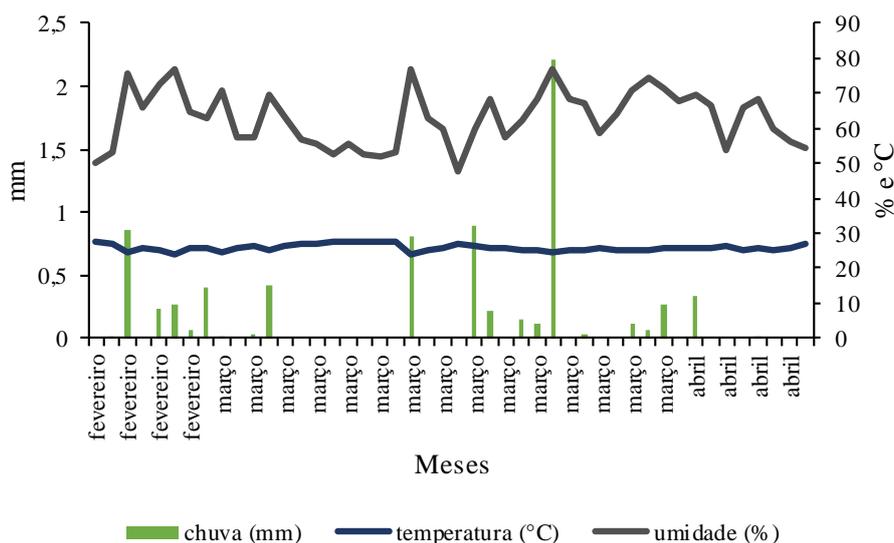
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### LOCAL DA PESQUISA E CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS

O trabalho foi realizado nos meses de fevereiro à abril e julho à setembro de 2021, na área experimental e laboratórios da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

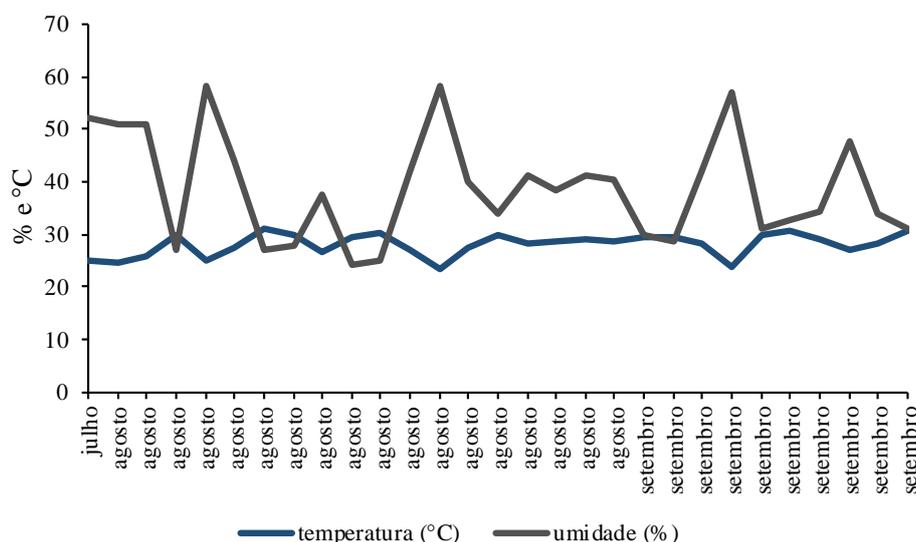
O município de Serra Talhada está localizado no Baixo Sertão do Pajeú, região semiárida do Estado de Pernambuco, entre as coordenadas 07° 59' S (latitude) e 38° 17' W (longitude) e altitude de 429 m. A temperatura média anual do município é de 25,2 °C, precipitação em torno de 642 mm anuais e umidade relativa do ar de 63 %. O clima é do tipo BSw<sup>h</sup>, segundo a classificação de Köppen, caracterizado por apresentar um baixo índice de precipitação pluviométrica sazonal. A vegetação nativa da região é a caatinga do tipo xerófila, herbácea e lenhosa de pequeno porte (CPRM, 2005).

Segundo dados do INMET (2021), no primeiro período da realização do trabalho referente aos meses de fevereiro a abril de 2021 (Figura 01), o município de Serra Talhada apresentou temperatura mínima de 23°C e máxima de 27°C, umidade relativa do ar mínima de 47% e máxima de 77%. Além disso também houve registro de chuvas que apresentaram máxima de 2 mm.dia<sup>-1</sup>.



**Figura 1-** condições climáticas em serra talhada nos meses de fevereiro a abril de 2021.  
**Fonte:** INMET, 2021

Em relação ao segundo período de realização de experimento, sendo ele referente aos meses de julho a setembro de 2021 (Figura 02), foram registradas no município temperatura mínima de 23°C e máxima de 31°C, umidade relativa mínima de 24% e máxima de 58%. Contudo não houve registro de chuvas durante esse período.



**Figura 2-** condições climáticas de serra talhada nos meses de julho a setembro de 2021.  
**Fonte:** INMET, 2021

Foi realizada análise química do solo utilizado no trabalho, com o objetivo de verificar o teor de nutrientes, acidez e nível de fertilidade do solo (Tabela 01). Com o uso de uma cavadeira articulada foram retiradas 10 amostras simples da camada de 0-20 cm de solo, e a partir delas foi formada uma amostra composta que foi enviada para o laboratório de fertilidade do solo pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA).

**Tabela 1** – Caracterização química do solo da área experimental da UAST-UFRPE.

pH	P	Ca	Mg	Na	K	Al	H	S	CTC	V	m
H <sub>2</sub> O	mg.dm <sup>-3</sup>	-----cmolc.dm <sup>-3</sup> -----					-----%-----				
6,80	424	4,50	0,80	0,07	0,33	0,00	1,15	5,7	6,9	83	0

**pH:** potencial hidrogeniônico; **P:** fósforo; **Ca:** cálcio; **Mg:** magnésio; **Na:** sódio; **K:** potássio; **Al:** alumínio; **H:** hidrogênio; **S:** enxofre; **CTC:** capacidade de troca de cátions; **V:** saturação por bases; **m:** saturação por alumínio. **Fonte:** IPA, 2021

### ESTIRPES DE ALFA E BETA-RIZÓBIOS UTILIZADAS

As estirpes testadas fazem parte da coleção obtida de parceria entre o Grupo de Pesquisa em Fixação Biológica do Nitrogênio (GFBN), da UFRPE, e a Embrapa Semiárido. As bactérias foram obtidas em experimento de planta isca, cultivando o feijão-caupi (variedade BRS Pujante) em amostras das principais classes de solos que ocorrem no Semiárido de Pernambuco e cobertos com vegetação de caatinga densa (SILVA, 2019a). As bactérias foram previamente caracterizadas, positivadas para genes específicos de rizóbios (nod e nifH) e identificadas a nível de gênero (Tabela 2) (SILVA, 2019a).

**Tabela 2** – Características de origem capacidade de produzir AIA, biofilme e solubilizar fosfato de cálcio de isolados de alfa e beta-rizóbios, obtidos de nódulos de feijão-caupi cultivado em diferentes solos e municípios e os tratamentos controle.

Isolado	Caracterização	Solo	Região	Município	AIA	Solubilização	Biofilme
<b>Beta-rizóbios</b>							
C28-5/2	<i>Paraburkholderia mimos</i>	Planossolo	Agreste	Buique	--	--	--
C59-4	<i>Cupriavidus taiwanensis</i>	Luvissolo	Sertão	Santa Maria da Boa Vista	--	--	--
C96-2	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Latossolo	Sertão	Santa Cruz	--	--	--
C81-3	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Regolítico	Agreste	Capoeiras	--	--	--
C54-4	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Litólico	Sertão	São José do Egito	--	--	--
C84-3	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Agreste	Venturosa	--	+	--
C64-3	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Sertão	Cabrobó	--	--	--
C35-5	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Sertão	Terra Nova	--	--	--
C26-2	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Sertão	Iguaraci	--	--	--
C20-4	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Argissolo	Sertão	Custodia	--	--	--
C100-1	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Litólico	Agreste	Vertente do Lério	--	--	--
C38-3	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Litólico	Sertão	Afrânio	+	--	--
C21-1	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Quartzarenico	Sertão	Inajá	+	+	--
C60-2	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Neossolo Litólico	Sertão	Verdejante	--	--	--
C25-4	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Sertão	Iguaraci	--	--	--
C33-4/1	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Planossolo	Sertão	Terra Nova	--	--	--
C44-2	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	Argissolo	Sertão	Itapetim	--	--	--
<b>Alfa-rizóbios</b>							
C98-3	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Latossolo	Sertão	Santa Cruz	+	--	+
C66-1	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Argissolo	Sertão	São José de Belmonte	--	--	--
C91-3	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Neossolo Litólico	Sertão	Araripina	--	--	--
C87-2/1	<i>Ensifer sp.</i>	Planossolo	Sertão	Betânia	--	--	--

C69-1	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Latossolo	Sertão	Araripina	--	--	--
C65-4	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Planossolo	Sertão	Cabrobó	--	--	--
C13-2	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Luvisso	Sertão	Custódia	--	--	+
C10-1/1	<i>Rhizobium etli</i>	Luvisso	Sertão	Serra Talhada	--	--	--
C82-2	<i>Rhizobium etli</i>	Regolítico	Agreste	Capoeiras	--	--	--
C25-5	<i>Microvirga zambiensis</i>	Planossolo	Sertão	Iguaraci	--	--	--
C11-5	<i>Microvirga zambiensis</i>	Luvisso	Sertão	Serra Talhada	--	--	+
C51-5	<i>Microvirga zambiensis</i>	Argissolo	Agreste	São Bento do Una	+	--	+
C70-7	<i>Microvirga zambiensis</i>	Latossolo	Sertão	Araripina	--	--	--
C21-5	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Neossolo Quartzarênico	Sertão	Inajá	--	--	--
C11-1	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Luvisso	Sertão	Serra Talhada	+	--	+
C69-5	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Latossolo	Sertão	Araripina	--	--	--
C43-3	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Argissolo	Sertão	Itapetim	--	--	--
C78-2	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Planossolo	Sertão	Salgueiro	--	--	--
<b>Tratamento controle</b>							
Controle com a estirpe recomendada (BR 3267)							
Controle com Fertilizante nitrogenado (80 kg.ha <sup>-1</sup> na forma de ureia)							
Controle Sem Inoculação e sem Fertilizante nitrogenado							

Possui capacidade (+), não possui capacidade (--).

Fonte: Silva, 2019<sup>a</sup>

## TESTE DE EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA

Para avaliar a eficiência simbiótica dos isolados foi implantado um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, em que cada parcela foi constituída de 2 plantas. A cultivar de feijão-caupi utilizada no experimento foi IPA 206, e foram avaliadas as inoculações da leguminosa com os 17 isolados de beta-rizóbios e os 18 de alfa-rizóbios listados na Tabela 1, aplicados isoladamente. Tratamentos controle foram adicionados, sendo eles: a inoculação com a estirpe recomenda (BR 3267), aplicação de fertilizante nitrogenado (80 kg.ha<sup>-1</sup> na forma de ureia) e o tratamento sem inoculação e sem fertilizante nitrogenado (controle absoluto).

O solo utilizado no experimento de eficiência simbiótica foi coletado da área do experimento em campo. Amostras simples da camada superficial do solo foram coletadas em diferentes pontos amostrais, para formar uma amostra composta. O solo foi destorroado e passado em peneira para retirada de pedras e outros resíduos. O solo foi acondicionado em vasos de plástico, com capacidade para 2 litros, que receberam tecido de fibra de viscose com furos (perfex) no fundo para evitar a perda de substrato. Foram semeadas 4 sementes por vaso e 4 dias após a semeadura ocorreu a germinação, o desbaste foi realizado 6 dias após a germinação, deixando-se 2 plantas por vaso. A inoculação foi realizada utilizando 2 mL do inóculo por vaso, aplicando o inoculante próximo das sementes. Para o preparo do inoculante, as estirpes foram cultivadas em condições monoxênicas, em meio extrato de levedura e manitol (YM) por 3 três dias, entretanto, para as estirpes de *Azorhizobium* e *Bradyrhizobium* ocorreu durante 7 dias, à temperatura ambiente, sob agitação constante a 105 rotações por minuto (rpm) (MENEZES et al., 2017).

A irrigação foi realizada diariamente, com o auxílio de um regador com capacidade de 10 L. Para o controle de formigas na área foi aplicado ao redor o produto Mirex-s, e para o controle de pulgão foi aplicado nas plantas caldo de castanha com álcool.

A coleta de dados foi realizada aos 45 dias de desenvolvimento da planta, e foram avaliados:

- Biomassa da parte aérea seca (BPAS) (g.planta<sup>-1</sup>): a parte aérea da planta foi separada das raízes utilizando uma tesoura, colocada em sacos de papel, e levada à estufa de circulação de ar forçada, à 55°C até peso constante e pesada em balança analítica de precisão.

- Número de nódulos: através da contagem dos nódulos presente nas raízes da planta
- Biomassa dos nódulos secos (g): os nódulos foram colocados em sacos de papel, e levados à estufa de circulação de ar forçada, à 55°C durante 4 dias, posteriormente as amostras foram pesadas em balança analítica de precisão.
- Número de folíolos: através da contagem de todas as folhas.
- Altura da planta (cm): medindo do colo até o ápice da parte aérea com auxílio de uma trena graduada;
- Diâmetro do caule (cm): medido através de paquímetro graduado;
- Teor de N da parte aérea: Para digestão das amostras foi pesado 250 mg de material seco de cada amostra, em seguida transferido para tubo de ensaio e adicionado 5ml de ácido sulfúrico concentrado. Esse tubo contendo o ácido foi levado à placa digestora a 350°C, sendo deixado por 30 minutos. Após esfriar foi adicionado 0,5 ml de peróxido de hidrogênio. Novamente colocado na placa aquecedora e deixado por 8 minutos, retirado e deixado esfriar por mais 12 minutos. Esse processo foi repetido até a amostra obter coloração transparente. Quando transparente, foi levada a placa digestora e deixada por 30 minutos para eliminar o peróxido de hidrogênio restante. Após esse processo, usando água deionizada, a amostra resultante foi diluída para 50 ml. Para a etapa da destilação foram pipetados 20 ml da amostra resultante do processo de digestão, e colocados em tubos de ensaio, que foram acoplados ao aparelho de destilação. Paralelamente foram pipetados 10 ml de solução de ácido bórico com indicador em tubo de ensaio em erlenmeyer de 125ml e adicionado 10 ml de NaOH 13N diretamente no copo do destilador, abrindo a torneira lentamente para a solução misturar com o conteúdo do tubo de digestão. Foi lavado o copo com água destilada e a torneira foi fechada. Após esse processo foi ligado o destilador e deixado até o erlenmeyer chegar a 50 ml e coloração azul. Após todo esse processo foi feita a titulação onde usou-se o HCL 0,07 43N, até a mudança da cor azul para rosa escuro. O aparelho titulador calcula o N-total do tecido vegetal em porcentagem, podendo multiplicar esses valores por 10 para serem passados para g/kg (BEZERRA NETO; BARRETO, 2011).

- Eficiência relativa (equação 01), eficácia (equação 02) e efetividade (equação 03)

$$\text{Eficiência relativa} = \frac{\text{acúmulo de N da BSPA de cada tratamento inoculado}}{\text{acúmulo de N da BSPA do controle nitrogenado}} \times 100$$

**Equação 1.** Fórmula da eficiência relativa

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{acúmulo de N da BSPA de cada tratamento inoculado}}{\text{acúmulo de N da BSPA do controle absoluto}} \times 100$$

**Equação 2.** Fórmula da eficácia

$$\text{Efetividade} = \frac{\text{acúmulo de N da BSPA de cada tratamento inoculado}}{\text{acúmulo de N da BSPA do controle com a estirpe referência}} \times 100$$

**Equação 3.** Fórmula da efetividade

## AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DO FEIJÃO-CAUPI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMISSORAS, EM CONDIÇÕES DE CAMPO.

O experimento foi realizado em condições de campo, e o delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com 4 repetições, e as parcelas foram constituídas de 5 linhas de 1m de feijão cultivado. A cultivar de feijão-caupi utilizada no experimento foi a IPA 206, e foram adotados quatro tratamentos com inoculação com estirpes de alfa e beta-rizóbios nativas de solos do semiárido (selecionadas a partir dos resultados do teste anterior de eficiência simbiótica) sendo as estirpes de alfa-rizóbios C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) e C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*), e as estirpes de beta-rizóbios C60-2 (*Paraburkholderia sabiae*) e C33-4/1 (*Paraburkholderia sabiae*). Também foram adicionados três tratamentos controle, sendo eles a estirpe recomendada BR 3267, fertilizante nitrogenado (80 kg ha<sup>-1</sup> na forma de ureia) e sem inoculação e fertilização. As estirpes nativas usadas nesse experimento foram selecionadas a partir dos resultados de eficiências, avaliados no experimento anterior.

As sementes foram inoculadas com inoculante turfoso. Para o preparo do inoculante, as bactérias foram cultivadas em meio líquido contendo extrato de levedura e manitol (YM) e crescidas por 3 três dias, entretanto, para as estirpes de *Azorhizobium* e

*Bradyrhizobium* ocorreu durante 7 dias, obtendo-se uma concentração mínima de  $10^8$  células viáveis. Foram adicionados 12,5 mL desse meio líquido (YM) contendo cada bactéria, em 50 g de turfa, formando assim o inoculante tufoso, em seguida esse inoculante foi adicionado a 100 g de sementes de feijão-caupi por 30 minutos, para que pudesse aderir bem às sementes. Foram semeadas 3 sementes por cova, com espaçamento de 60 cm x 20 cm, e 5 dias após a germinação foi realizado o desbaste das plantas.

O tratamento com fertilizante nitrogenado foi realizado utilizando ureia como fonte de nitrogênio, e foi aplicado 5,6 g/m de ureia. As plantas foram irrigadas 3 vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira) sempre pela manhã, através de sistema de irrigação por gotejamento, também foram realizadas 3 análises de pH (utilizando um pHmetro de bancada) e condutividade elétrica (utilizando um condutivímetro de bancada, e os resultados expressos em  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ) da água utilizada (Tabela 3), em um intervalo de 15 dias. O controle de plantas invasoras foi realizado através de capina quando necessário.

**Tabela 3** - Dados de pH e condutividade elétrica da água utilizada durante o experimento.

Análise	pH	Condutividade elétrica ( $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ )
1	7,30	2,131
2	7,08	2,097
3	7,44	2,133

**Fonte:** a autora

Decorrido 45 dias de desenvolvimento das plantas, foram realizadas as seguintes avaliações biométricas e de nodulação das plantas:

- Número de folíolos: através de contagem de todas as folhas;
- Diâmetro do caule (cm): medido através de paquímetro graduado, a 2 cm do solo;
- Biomassa fresca da parte aérea ( $\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$ ): material lavado em água corrente para retirar impurezas, seco em papel toalha e pesado através de balança analítica;
- Biomassa seca da parte aérea ( $\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$ ): os materiais foram adicionados em sacos de papel e submetidos à estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de  $55^\circ\text{C}$  por 4 dias, posteriormente foram pesados através de balança analítica;

- Altura da planta (cm): medindo do colo até o ápice da parte aérea com auxílio de uma trena graduada;
- Quantidade de nódulos: através de contagem de todos os nódulos presentes na raiz da planta;
- Biomassa fresca do nódulo (g): pesado através de balança analítica de precisão;
- Teor de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) da parte aérea (%) (BEZERRA NETO; BARRETO, 2011)

Aos 57 dias de desenvolvimento da planta deu-se início à colheita das vagens, e foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Vagens por planta: através da contagem das vagens colhidas
- Grãos por planta: através de contagem dos grãos
- Peso de 100 sementes (g): foram contadas e separadas cem sementes de feijão-caupi, que posteriormente foram pesadas em balança analítica
- Produtividade (kg.ha<sup>-1</sup>): obtida através do peso total dos grãos produzidos em cada parcela do experimento, que posteriormente foi convertido para kg.ha<sup>-1</sup>.
- Teor de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) nos grãos (%) (BEZERRA NETO; BARRETO, 2011)

## ANÁLISE DE DADOS

Após a coleta de dados, estes foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e posteriormente à análise de variância, utilizando o pacote ExpDes.pt do software Rstudio. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 4. RESULTADOS

### TESTE DE EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA

De acordo com a análise de variância para as variáveis biométricas houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, exceto para a variável altura da planta (Tabela 4). Em relação ao número de folíolos, o tratamento C20-4, pertencente ao grupo dos beta-rizóbios, apresentou superioridade estatística, entretanto esse tratamento difere somente do alfa-rizóbio C13-2 (17 folíolos), beta-rizóbio C35-5(18 folíolos) e fertilizante nitrogenado (18 folíolos). Em relação ao diâmetro do caule os tratamentos alfa-rizóbios C11-1 (0,55 cm), C11-5 (0,54 cm), beta-rizóbios C96-2 (0,54 cm) e 20-4 (0,55 cm) apresentaram superioridade estatística, mas diferiram somente do tratamento alfa-rizóbio C13-2, que apresentou média inferior aos demais (0,40 cm). Para a variável biomassa seca da parte aérea da planta houve diferença somente entre os tratamentos beta-rizóbio C25-4, C35-5 (2,88 g.planta<sup>-1</sup>), alfa-rizóbio C13-2 (3,06 g.planta<sup>-1</sup>), C82-2 (2,84 g.planta<sup>-1</sup>) e fertilizante nitrogenado, e dentre esses o beta-rizóbio C25-4 mostrou superioridade estatística, com média de 5,60 g.planta<sup>-1</sup>.

**Tabela 4** - Resultados dos parâmetros biométricos avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Altura (cm)	Número de folíolos	Diâmetro (cm)	Biomassa seca p.a. (g.planta <sup>-1</sup> )
Alfa-rizobios				
C10-1/1	34,66 a	22 abc	0,51 ab	4,34 ab
C13-2	30,00 a	17 c	0,40 b	3,06 b
C78-2	35,08 a	22 abc	0,49 ab	4,46 ab
C98-3	38,00 a	20 abc	0,52 ab	3,49 ab
C87-2/1	32,33 a	19 abc	0,52 ab	3,56 ab
C43-3	30,75 a	25 abc	0,48 ab	4,06 ab
C91-3	32,16 a	22 abc	0,51 ab	4,24 ab
C70-7	31,16 a	20 abc	0,46 ab	3,19 ab
C51-5	35,16 a	21 abc	0,53 ab	4,10 ab
C66-1	32,25 a	24 abc	0,50 ab	3,77 ab
C69-5	33,75 a	23 abc	0,50 ab	3,93 ab
C11-1	31,66 a	21 abc	0,55 a	4,38 ab
C82-2	30,00 a	19 abc	0,46 ab	2,84 b
C65-4	32,00 a	20 abc	0,50 ab	4,35 ab
C69-1	33,50 a	19 abc	0,46 ab	3,39 ab
C21-5	29,75 a	24 abc	0,52 ab	4,38 ab
C11-5	31,05 a	23 abc	0,54 a	4,10 ab
C25-5	29,75 a	25 abc	0,52 ab	4,57 ab
Beta-rizobios				
C81-3	31,83 a	19 abc	0,48 ab	3,84 ab

C33-4/1	33,50 a	20 abc	0,50 ab	4,40 ab
C96-2	35,83 a	25 ab	0,54 a	4,53 ab
C100-1	33,41 a	22 abc	0,50 ab	3,93 ab
C44-2	33,66 a	23 abc	0,50 ab	4,16 ab
C25-4	32,66 a	25 abc	0,48 ab	5,60 a
C21-1	31,50 a	21 abc	0,48 ab	3,23 ab
C20-4	34,66 a	26 a	0,55 a	4,89 ab
C54-4	32,58 a	21 abc	0,46 ab	3,52 ab
C59-4	30,25 a	22 abc	0,52 ab	4,32 ab
C84-3	28,33 a	20 abc	0,47 ab	3,20 ab
C60-2	31,58 a	23 abc	0,48 ab	3,62 ab
C28-5/2	30,83 a	23 abc	0,51 ab	5,19 ab
C35-5	33,25 a	18 bc	0,44 ab	2,88 b
C38-3	29,66 a	25 abc	0,44 ab	3,60 ab
C64-3	32,66 a	23 abc	0,48 ab	3,61 ab
C26-2	34,33 a	23 abc	0,51 ab	3,20 ab
<hr/>				
Controles				
Fertilizante nitrogenado	29,08 a	18 bc	0,49 ab	3,07 b
Controle absoluto	31,50 a	22 abc	0,46 ab	3,36 ab
BR 3267	31,33 a	20 abc	0,49 ab	4,02 ab
<hr/>				
C.V. (%)	10,05	11,08	8,59	19,37

Letras minúsculas compararamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; p.a.: parte aérea

**Fonte:** a autora

Em relação aos parâmetros de nodulação da planta a análise de variância mostrou que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 5). De uma maneira geral, houve uma nodulação muito alta, com mais de 100 nódulos para a maioria dos tratamentos, sendo os que tratamentos com alfa-rizóbio C43-3 (171,66 nódulos) e beta-rizóbio C26-2 (178,00 nódulos) proporcionaram maior número de nódulos, entretanto só diferiram do tratamento alfa-rizóbio C78-2 (81,66 nódulos) que apresentou quantidade de nódulos inferior à esses tratamentos. Em relação à variável massa fresca do nódulo o tratamento beta-rizóbio C60-2 apresentou superioridade estatística (1,83g), entretanto esse tratamento diferiu somente de alfa-rizóbio C70-7 (0,83 g), C82-2 (0,78 g), C11-5 (0,93 g) e fertilizante nitrogenado (0,70 g), que foram inferiores estatisticamente. O tratamento beta-rizóbio C25-4 apresentou superioridade estatística para a variável massa seca dos nódulos, mas diferiu somente dos tratamentos alfa-rizóbio C13-2, C87-2/1, C43-3, C70-7, C69-5, C11-1, C82-2, C11-5, beta-rizóbio C81-3, C96-2, C21-1, C59-4, C84-3, C60-2, C64-3 e os controles, que mostraram resultado inferior.

**Tabela 5** - Resultados dos parâmetros de nodulação aos 45 dias avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Número de nódulos	Massa fresca nódulo (g)	Massa seca nódulo (g)
<b>Alfa-rizóbios</b>			
C10-1/1	139,50 abc	1,28 abc	0,34 ab
C13-2	98,50 abc	1,00 abc	0,21 b
C78-2	81,66 c	1,13 abc	0,37 ab
C98-3	126,33 abc	1,02 abc	0,32 ab
C87-2/1	165,83 ab	1,10 abc	0,28 b
C43-3	171,66 a	1,06 abc	0,28 b
C91-3	129,50 abc	1,33 abc	0,32 ab
C70-7	140,33 abc	0,83 bc	0,25 b
C51-5	164,16 ab	1,17 abc	0,29 ab
C66-1	141,66 abc	1,46 abc	0,46 ab
C69-5	122,00 abc	0,99 abc	0,22 b
C11-1	141,00 abc	1,38 abc	0,26 b
C82-2	115,00 abc	0,78 bc	0,19 b
C65-4	138,66 abc	1,27 abc	0,41 ab
C69-1	160,33 abc	1,19 abc	0,30 ab
C21-5	160,50 abc	1,04 abc	0,40 ab
C11-5	146,50 abc	0,93 bc	0,25 b
C25-5	131,66 abc	1,18 abc	0,34 ab
<b>Beta-rizóbios</b>			
C81-3	139,33 abc	1,17 abc	0,28 b
C33-4/1	151,50 abc	1,25 abc	0,31 ab
C96-2	114,16 abc	0,98 abc	0,26 b
C100-1	162,50 abc	1,17 abc	0,30 ab
C44-2	149,16 abc	1,05 abc	0,30 ab
C25-4	154,83 abc	1,54 abc	0,66 a
C21-1	143,83 abc	1,12 abc	0,26 b
C20-4	123,33 abc	1,12 abc	0,31 ab
C54-4	159,83 abc	1,07 abc	0,31 ab
C59-4	135,50 abc	1,04 abc	0,26 b
C84-3	111,16 abc	1,12 abc	0,19 b
C60-2	125,50 abc	1,83 a	0,20 b
C28-5/2	130,00 abc	1,00 abc	0,33 ab
C35-5	144,50 abc	0,96 abc	0,28 b
C38-3	130,00 abc	1,38 abc	0,33 ab
C64-3	107,33 abc	0,99 abc	0,28 b
C26-2	178,00 a	1,21 abc	0,40 ab
<b>Controles</b>			
Fertilizante nitrogenado	89,16 bc	0,70 c	0,21 b

Controle absoluto	141,00 abc	1,61 ab	0,11 b
BR 3267	118,00 abc	1,05 abc	0,25 b
C.V. (%)	18,09	23,91	38,03

Letras minúsculas compararamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferente si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: a autora

Para as variáveis teor de N na planta, eficiência relativa, eficácia e efetividade a análise de variância mostrou que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 6). O tratamento fertilizante nitrogenado mostrou superioridade estatística, apresentando teor de N de 4,29%, eficiência relativa de 100%, eficácia de 120,90% e efetividade de 109,98%. Entretanto, esse tratamento só diferiu dos tratamentos alfa-rizóbio C70-7 e beta-rizóbio C44-2, além disso, na variável eficácia, o fertilizante nitrogenado também diferiu de alfa-rizóbio C13-2, C51-5, C69-1, beta-rizóbio C21-1 e C35-5, que apresentaram resultado inferior.

**Tabela 6** - Resultados dos parâmetros de eficiência de fixação de N aos 45 dias avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Teor de N (%)	Eficiência relativa (%)	Eficácia (%)	Efetividade (%)
<b>Alfa-rizóbios</b>				
C10-1/1	2,79 ab	77,26 ab	91,84 ab	84,18 ab
C13-2	2,70 ab	75,01 ab	88,56 b	81,43 ab
C78-2	3,06 ab	85,51 ab	100,89 ab	92,79 ab
C98-3	3,22 ab	88,21 ab	105,95 ab	96,67 ab
C87-2/1	2,88 ab	80,10 ab	94,39 ab	86,87 ab
C43-3	2,84 ab	78,16 ab	93,27 ab	85,35 ab
C91-3	2,71 ab	74,48 ab	89,14 ab	81,47 ab
C70-7	2,49 b	68,61 b	82,09 b	75,02 b
C51-5	2,69 ab	74,56 ab	88,74 b	81,29 ab
C66-1	2,81 ab	78,57 ab	92,61 ab	85,20 ab
C69-5	2,74 ab	76,27 ab	90,55 ab	83,04 ab
C11-1	2,73 ab	76,35 ab	90,05 ab	82,82 ab
C82-2	2,95 ab	81,60 ab	97,04 ab	88,93 ab
C65-4	2,79 ab	77,88 ab	91,58 ab	84,36 ab
C69-1	2,64 ab	73,36 ab	86,81 b	79,73 ab
C21-5	2,88 ab	81,04 ab	94,94 ab	87,59 ab
C11-5	2,93 ab	82,19 ab	96,50 ab	88,94 ab
C25-5	2,96 ab	82,04 ab	97,44 ab	89,35 ab
<b>Beta-rizóbios</b>				
C81-3	3,32 ab	92,38 ab	108,68 ab	100,10 ab
C33-4/1	3,29 ab	91,50 ab	108,68 ab	99,63 ab
C96-2	2,88 ab	79,08 ab	94,53 ab	86,44 ab

C100-1	2,70 ab	73,83 ab	89,00 ab	81,07 ab
C44-2	2,37 b	64,53 b	77,86 b	70,90 b
C25-4	2,77 ab	77,05 ab	91,30 ab	83,80 ab
C21-1	2,66 ab	72,88 ab	87,41 b	79,81 ab
C20-4	2,73 ab	75,91 ab	89,97 ab	82,58 ab
C54-4	2,75 ab	76,57 ab	90,50 ab	83,17 ab
C59-4	2,91 ab	80,71 ab	96,01 ab	87,97 ab
C84-3	2,86 ab	79,45 ab	93,73 ab	86,22 ab
C60-2	3,31 ab	92,28 ab	108,77 ab	100,08 ab
C28-5/2	3,01 ab	83,64 ab	99,13 ab	90,98 ab
C35-5	2,62 ab	72,73 ab	86,68 b	79,35 ab
C38-3	3,05 ab	85,20 ab	100,70 ab	92,53 ab
C64-3	3,03 ab	84,90 ab	99,75 ab	91,90 ab
C26-2	3,06 ab	85,07 ab	100,64 ab	92,45 ab
<hr/>				
Controles				
Fertilizante nitrogenado	4,29 a	100 a	120,90 a	109,98 a
Controle absoluto	3,04 ab	84,58 ab	100,00 ab	91,88 ab
BR 3267	3,32 ab	91,51 ab	109,35 ab	100 ab
<hr/>				
C.V. (%)	11,04	11,26	10,25	11,11

Letras minúsculas compararamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Fonte:** a autora

## DESEMPENHO AGRONÔMICO DO FEIJÃO-CAUPI INOCULADO.

De acordo com a análise de variância para as variáveis biométricas houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, exceto para a variável biomassa seca da parte aérea da planta (Tabela 7). Em relação à variável altura da planta, os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e beta-rizóbio C60-2 mostraram superioridade estatística, entretanto só diferiram dos tratamentos inoculante BR3267 e beta-rizóbio C33-4/1, que obtiveram resultado inferior. Para a variável número de folíolos a maioria dos tratamentos apresentou superioridade estatística, exceto o tratamento alfa-rizóbio C98-3, que proporcionou uma menor quantidade de folíolos por planta (média de 43,65 folíolos). Os tratamentos alfa-rizóbio C78-2, fertilizante nitrogenado e controle absoluto apresentaram superioridade estatística em relação aos demais, proporcionando maior diâmetro do caule da planta (0,82 cm, 0,81 cm e 0,82 cm). Os resultados da variável biomassa fresca da parte aérea mostraram que os tratamentos alfa-rizóbio C78-2, beta-rizóbio C60-2 e inoculante BR3267 apresentaram superioridade estatística, mas esses

tratamento diferiram somente do tratamento controle absoluto, que apresentou resultado inferior (86,74 g.planta<sup>-1</sup>).

**Tabela 7** - Resultados dos parâmetros biométricos avaliados em plantas de feijão-caupi aos 45 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Altura (cm)	Número de folíolos	Diâmetro do caule (cm)	Biomassa fresca p.a. (g.planta <sup>-1</sup> )	Biomassa seca p.a. (g.planta <sup>-1</sup> )
Alfa-rizóbios					
C78-2	39,65 a	54,55 a	0,82 a	108,61 a	13,08 a
C98-3	37,45 abc	43,65 b	0,73 cd	99,84 ab	12,15 a
Beta-rizóbios					
C33-4/1	35,05 c	53,90 a	0,71 d	91,50 ab	11,67 a
C60-2	39,8 a	53,15 a	0,74 cd	108,10 a	14,36 a
Controles					
Fertilizante nitrogenado	38,2 ab	54,45 a	0,81 ab	105,97 ab	14,18 a
Controle absoluto	37,25 abc	50,30 a	0,82 a	86,74 b	11,07 a
BR 3267	35,65 bc	49,90 a	0,77 bc	107,95 a	12,93 a
C.V. (%)	3,56	5,03	2,53	8,53	13,55

Letras minúsculas comparamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; p.a.: parte aérea.

**Fonte:** a autora

Em relação aos parâmetros de nodulação da planta a análise de variância mostrou que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 8). Em relação à variável número de nódulos os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e inoculante BR3267 apresentaram superioridade estatística em relação aos demais tratamentos, proporcionando médias de 40 e 41,95 nódulos por planta. Os resultados para a variável massa fresca do nódulo mostraram que os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e beta-rizóbio C60-2 foram superiores em relação aos demais tratamentos, apresentando massa fresca do nódulo de 0,54 g e 0,46 g.

**Tabela 8** - Resultados dos parâmetros de nodulação avaliados em plantas de feijão-caupi aos 45 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Número de nódulos	Massa fresca nódulo (g)
Alfa-rizóbios		
C78-2	40,00 a	0,54 a
C98-3	30,10 c	0,34 c
Beta-rizóbios		

C33-4/1	35,75 b	0,17 e
C60-2	26,00 d	0,46 a
Controles		
Fertilizante nitrogenado	29,25 cd	0,18 e
Controle absoluto	35,65 b	0,28 d
BR 3267	41,95 a	0,38 c
C.V. (%)	5,12	6,31

Letras minúsculas comparamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: a autora

Quanto a análise de variância para os parâmetros de produtividade, os resultados mostraram que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 9), exceto para a variável peso de 100 sementes que não apresentou diferença significativa. O parâmetro vagens por planta mostrou que os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e C98-3 se destacaram em relação aos demais, apresentando superioridade estatística. Para a variável grãos por planta os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e C98-3 também foram superiores, entretanto diferiram somente do tratamento beta-rizóbio C33-4/1, que apresentou média inferior. Em relação à produtividade de grãos de feijão-caupi produzidos por ha, os tratamentos alfa-rizóbio C78-2 e C98-3 novamente se destacaram em relação aos demais, apresentando superioridade estatística com produtividade média de 1704,81 kg.ha<sup>-1</sup> e 1597,79 kg.ha<sup>-1</sup> respectivamente.

**Tabela 9** - Resultados dos parâmetros de produtividade avaliados em plantas de feijão-caupi aos 57 dias inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Vagens por planta	Grãos por planta	Peso de 100 sementes (g)	Produtividade (kg.ha <sup>-1</sup> )
Alfa-rizóbios				
C78-2	7,46 a	73,80 a	17,78 a	1704,81 a
C98-3	7,51 a	72,94 a	16,48 a	1597,79 a
Beta-rizóbios				
C33-4/1	4,96 c	51,91 b	17,90 a	1156,87 c
C60-2	5,60 bc	62,32 ab	17,10 a	1273,62 bc
Controles				
Fertilizante nitrogenado	6,26 b	59,76 ab	18,36 a	1372,85 b
Controle absoluto	6,08 b	65,30 ab	17,37 a	1315,02 b
BR 3267	6,50 ab	64,71 ab	18,16 a	1388,26 b
C.V. (%)	7,41	10,5	5,46	3,91

Letras minúsculas comparamas médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: a autora

Para os parâmetros de teor de N e PB a análise de variância mostrou que não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas (Tabela 10).

**Tabela 10-** Resultados dos parâmetros de teor de N e PB avaliados em plantas de feijão-caupi inoculadas com estirpes de alfa e beta-rizóbios, mais os tratamentos controle.

Tratamento	Teor de N p.a. (%)	Teor de N grãos (%)	Teor de PB p.a. (%)	Teor de PB grãos (%)
<b>Alfa-rizóbios</b>				
C78-2	3,01 a	3,14 a	18,82 a	19,64 a
C98-3	3,23 a	3,15 a	20,23 a	19,71 a
<b>Beta-rizóbios</b>				
C33-4/1	3,16 a	3,09 a	19,79 a	19,79 a
C60-2	3,21 a	3,17 a	20,10 a	19,84 a
<b>Controles</b>				
Fertilizante nitrogenado	3,11 a	3,29 a	19,48 a	20,59 a
Controle absoluto	3,13 a	3,41 a	19,59 a	21,32 a
BR 3267	3,28 a	3,22 a	20,53 a	20,12 a
C.V. (%)	7,1	6,16	7,1	6,16

Letras minúsculas compararam as médias das cultivares. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; p.a.: parte aérea; N: nitrogênio; PB: proteína bruta.

**Fonte:** a autora

## 5. DISCUSSÃO

### TESTE DE EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA

O teste de eficiência simbiótica é uma das etapas para a seleção de estirpes que serão usadas para a produção de um novo inoculante, pois a partir dele serão selecionadas as estirpes que possuem maior capacidade de acumular nitrogênio na planta, além disso também é importante avaliar a capacidade dessas estirpes de formarem nódulos. Em relação aos parâmetros de eficiência (Tabela 5) os tratamentos utilizados no trabalho mostram alta eficiência. Apenas dois tratamentos foram em torno de 64% mas a maioria foram acima de 74%, apresentando maior eficiência que estirpes comerciais para o feijão-caupi, como as estirpes UFLA 3-84 e INPA 3-11B que foram estudadas no trabalho de Farias et al. (2016), em que apresentaram médias de eficiência de 65,2% e 73,8%. Entretanto, o teor de N e a eficiência das estirpes avaliadas nesse trabalho foi semelhante a outros trabalhos que testaram estirpes nativas do Semiárido, como os trabalhos de Lira

et al. (2020) e Souza et al. (2021) que obtiveram eficiência para as estirpes nativas, inoculadas em plantas de feijão-caupi da mesma cultivar utilizada nesse experimento, nas faixas de 70% a 100%, e teor de N na faixa de 3% a 4%. Dessa forma as estirpes de alfa e beta-rizóbios avaliadas nesse trabalho apresentaram bons resultados, e se equiparando a estirpes já utilizadas no mercado.

A avaliação da capacidade formadora de nódulos pelas estirpes é importante pois mostra o sucesso da infecção e colonização das bactérias nas raízes da planta, consequentemente a afinidade que a estirpe tem em estabelecer simbiose com a planta (MADIGAN et al., 2016). As estirpes nativas do Semiárido avaliadas no teste de eficiência simbiótica apresentaram boa capacidade noduladora pois a maioria produziram mais de 100 nódulos e não diferiu significativamente da estirpe comercial utilizada no experimento (Tabela 4), além disso os resultados das estirpes nativas também foram iguais ou superiores à estirpes comerciais avaliadas em outros trabalhos científicos, como o trabalhos de Marinho et al. (2017) e Ulzen et al. (2016) que utilizaram as estirpes comerciais BR3262 e BR3267 para a inoculação do feijão-caupi, e obtiveram número de nódulos na faixa de 58 a 132 nódulos por planta, e a massa seca dos nódulos foi na faixa de 0,1g a 0,5g. As estirpes nativas utilizadas nesse trabalho apresentaram número de nódulos semelhante a outros trabalhos que avaliaram estirpes isoladas de solos do Semiárido, como o de Oliveira et al. (2020) que obteve resultados na faixa de 52 a 158 nódulos por planta, entretanto apresentaram massa seca dos nódulos entre 0,14 e 0,29 gramas, resultado inferior ao obtido nesse trabalho, dessa forma as estirpes utilizadas nesse experimento podem promover maior colonização das plantas.

Esses resultados mostram claramente a existência de uma população de rizóbios nativos do semiárido capazes de nodular o feijão-caupi com eficiência fixadora de nitrogênio. Dessa forma as estirpes utilizadas nesse experimento podem promover maior colonização das plantas de feijão-caupi sendo promissoras como futuros inoculantes.

Nos estudos de fornecimento de nutrientes para as plantas é comum a realização da avaliação biométrica, pois a carência ou excesso de determinado nutriente em seu organismo pode causar alterações em sua estrutura (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015; TAIZ et al., 2017). Além disso estudos mostram que dependendo do nível de determinado nutriente ou da técnica usada para o fornecimento do mineral a estrutura da planta pode ter um incremento positivo em seu desenvolvimento (BASTOS et al., 2021; CALZAVARA et al., 2018; SILVA et al., 2019a). No presente estudo as variáveis biométricas (Tabela 3) para as estirpes nativas apresentaram bons resultados pois a

maioria não diferiu dos tratamentos controles com ureia e da estirpe recomendada, além disso as variáveis altura, diâmetro do caule e número de folíolos se assemelharam a outros resultados encontrados em trabalhos científicos de caracterização e avaliação morfológica da cultivar IPA 206, como os trabalhos realizados por Melo et al. (2011), Nascimento, Pedrosa e Tavares Sobrinho (2004) e Sousa et al.(2018).

As avaliações de biomassa da planta, além de determinar o rendimento da cultura, indica se a planta conseguiu acumular nutrientes, principalmente medindo a sua biomassa seca, e isso é mostrado nos trabalhos realizados por Cechin e Valquilha, (2019) e Zhang et al. (2012). Em relação à biomassa seca do presente estudo os resultados se assemelham ao obtido por Lira et al. (2020) e Souza et al. (2021), que apresentaram biomassa seca da parte aérea de plantas inoculadas com estirpes nativas do Semiárido na faixa de 0,5 g à 4,78 g por planta.

#### DESEMPENHO AGRONÔMICO DO FEIJÃO-CAUPI INOCULADO.

Dentre as estirpes avaliadas no experimento de eficiência simbiótica, os alfa-rizóbios C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) e C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*), e os beta-rizóbios C60-2 (*Paraburkholderia sabiae*) e C33-4/1 (*Paraburkholderia sabiae*) foram os que obtiveram as maiores médias dentre as estirpes avaliadas. Essas bactérias são originadas de solos da região do Sertão pernambucano, região onde foi implantado o experimento da fase de avaliação agronômica do feijão-caupi inoculado por essas estirpes, por esses fatores elas foram escolhidas para serem avaliadas em campo.

Entre as estirpes escolhidas a alfa-rizóbio C78-2 teve grande destaque em relação aos demais tratamentos, apresentando superioridade estatística em todas as variáveis, sendo elas biométricas, nodulação, produtividade e teores de N e PB (Tabelas 7 à 10). Essa estirpe é pertencente ao gênero *Bradyrhizobium*, gênero esse que compõe os inoculantes registrados no MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) para o feijão-caupi, como UFLA 3-84, BR3267, INPA3-11B, BR 3262 (BRASIL, 2011), além disso essa estirpe também mostra grande afinidade simbiótica com o feijão-caupi nos trabalhos de identificação da diversidade genética em nódulos de feijão-caupi, como apresentado na pesquisa de Simbine et al., (2021) onde mais de 60% dos isolados são pertencentes a esse gênero.

A estirpe beta-rizóbio C60-2 teve destaque em relação aos parâmetros biométricos e nodulação, mostrando superioridade estatística na maioria das variáveis propostas dentro desses parâmetros, exceto diâmetro do caule e número de nódulos. Essa estirpe é

pertencente ao gênero *Paraburkholderia*, que atualmente está sendo bastante estudado com o objetivo de proteger as plantas de estresses biótico e abióticos (LEDGER et al., 2016; WU et al., 2020), entretanto esse gênero ainda não faz parte das estirpes registradas no MAPA como inoculante para plantas leguminosas produtoras de grãos (BRASIL, 2011).

Dentro os parâmetros avaliados no trabalho, a produtividade é o de maior importância para o agricultor, que investe em novas técnicas com o objetivo de aumentar a produção. A produtividade encontrada nesse trabalho foi superior a 1000 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a média nacional é em torno 400 kg ha<sup>-1</sup>. Os tratamentos com alfa-rizóbios C78-2 e C98-3 se destacaram dos demais, apresentando superioridade estatística (tabela 9), além disso apresentaram bons resultados de produção em comparação ao uso do inoculante comercial e a aplicação de 160 kg ha<sup>-1</sup> de ureia. A produtividade também foi superior à outros trabalhos referente ao cultivo de feijão-caupi no semiárido, como os realizados por Kamai, Gworgwor e Wabekwa, (2014) e Nyaga e Njeru (2020) que obtiveram produtividade na faixa de 300 à 1200 kg.ha<sup>-1</sup>. Em relação aos demais parâmetros de produtividade, sendo eles vagens por planta, grãos por planta e peso de 100 sementes, os tratamentos com alfa-rizóbios também tiveram destaque em relação aos demais tratamentos desse trabalho e também em relação à outros trabalhos, como o realizados por Rocha, Castro e Freitas (2019) e Melo et al. (2011), que apresentaram de 2 à 4 vagens por planta, 25 à 54 grãos por planta e peso de 100 sementes na faixa de 15 à 20 g.

As estirpes de beta-rizóbios C33-4/ e C60-2, apesar de terem apresentado resultado inferior estatisticamente, proporcionaram produtividade maior ou igual aos obtidos em outros trabalhos com cultivo de feijão-caupi inoculados com estirpes comerciais no semiárido (MARINHO et al., 2014) e também em regiões tropicais, que possuem ambientes de cultivo mais propício ao desenvolvimento da planta, como os trabalhos realizados por Farias et al. (2016) e Ferreira et al. (2019) que realizaram cultivo de feijão-caupi inoculado em regiões tropicais e obtiveram produtividade na faixa de 900 à 1100 kg.ha<sup>-1</sup> utilizando as estirpes UFLA03-84 e INPA03-11B. Esses resultados de produtividade alta também pode estar ligado ao fato de que as plantas foram irrigadas durante todo o experimento.

Em relação aos teores de N e PB na parte aérea e nos grãos os resultados foram semelhantes, apresentando aproximadamente 3% de N total e PB entre 18 à 21%, sendo

um resultado bom comparado com outras pesquisas científicas. Oliveira et al. (2017) e Souza et al. (2021) em seus trabalhos com cultivo de feijão-caupi inoculado, obtiveram resultados semelhantes ao presente trabalho, apresentando conteúdo de N entre 1% à 4% e conteúdo de PB na faixa de 16% à 20% .

## 6. CONCLUSÕES

Existe uma população de rizóbios nativos bem estabelecida na região semiárida de Pernambuco, capaz de nodular e fixar N<sub>2</sub> em simbiose com feijão-caupi.

Na fase de teste de eficiência simbiótica as estirpes de alfa e beta-rizóbios mostraram-se promissoras quando inoculados no feijão-caupi, por apresentarem resultados iguais ou superiores a estirpes registradas (BR3267) e ao controle positivo equivalente a 80 kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio (N).

Quatro isolados (C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*); C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*); C60-2 (*Paraburkholderia sabiae*) e C33-4/1 (*Paraburkholderia sabiae*)) foram selecionados para a fase de desempenho agrônômico, por apresentarem as maiores médias e serem originadas da região do sertão.

Os isolados C78-2 (*Bradyrhizobium japonicum*) e C98-3 (*Azorhizobium caulinodans*) proporcionaram as maiores produtividades, superiores, inclusive, ao controle nitrogenado e estirpe comercial.

## REFERENCIAS

AL-DAGHARI, D. S. S. et al. Potential of indigenous antagonistic rhizobacteria in the biological control of *Monosporascus* root rot and vine decline disease of muskmelon. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 70, n. 5, p. 371–380, 2020.

ANKATI, S.; PODILE, A. R. Metabolites in the root exudates of groundnut change during interaction with plant growth promoting rhizobacteria in a strain-specific manner. **Journal of Plant Physiology**, v. 243, 2019.

ASGHARI, B.; KHADEMIAN, R.; SEDAGHATI, B. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) confer drought resistance and stimulate biosynthesis of secondary metabolites in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) under water shortage condition. **Scientia Horticulturae**, v. 263, 2020.

BASTOS, A. V. S. et al. **Immediate and Residual Effects of Mineral and Organomineral Nitrogen Sources Associated with Concentrated Vinasse on Maize** **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 2021.

BASTOS, E. A. **A Cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2016.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L. P. **Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas**. 1. ed. Recife: Editora Universitária da UFRPE, 2011.

BRASIL. Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 15 jan. 2004. Seção 1, p. 2.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 25 mar. 2011. Seção 1, nº 58.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry e molecular biology of plants**. 2. ed. Pondicherry: Wiley Blackwell, 2015.

CALZAVARA, A. K. et al. Associative bacteria influence maize (*Zea mays* L.) growth, physiology and root anatomy under different nitrogen levels. **Plant Biology**, v. 20, n. 5, p. 870–878, 2018.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. Transformações microbiana do fósforo. **Microbiologia do solo**, p. 149–166, 2016.

CECHIN, I.; VALQUILHA, É. M. Nitrogen effect on gas exchange characteristics, dry matter production and nitrate accumulation of *Amaranthus cruentus* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 42, n. 3, p. 373–381, 2019.

CHEN, J. et al. Characterization of *Burkholderia* sp. XTB-5 for phenol degradation and plant growth promotion and its application in bioremediation of contaminated soil. **Land degradation & development**, v. 1099, p. 1091–1099, 2017.

CHIDEBE, I. N.; JAISWAL, S. K.; DAKORA, F. D. Distribution and Phylogeny of Microsymbionts Associated with Cowpea (*Vigna unguiculata*) Nodulation in Three Agroecological Regions of Mozambique. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 2, p. 1–25, 2017.

CORATO, U. DE. Agricultural waste recycling in horticultural intensive farming systems by on-farm composting and compost-based tea application improves soil quality and plant

health: A review under the perspective of a circular economy. **Science of the Total Environment**, v. 738, p. 139840, 2020.

CPRM. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Serra Talhada, estado de Pernambuco**. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005.

DU, Y. et al. Nitrogen fertilizer is a key factor affecting the soil chemical and microbial communities in a mollisol. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 510–521, 2019.

DUTRA, R. M. S.; SOUZA, M. M. O. DE. Cerrado, Revolução Verde E a Evolução No Consumo De Agrotóxicos. **Sociedade & Natureza**, v. 29, n. 3, p. 469–484, 2017.

FARIAS, D. T. DE et al. **Avaliação de atributos químicos e uso de solos da região semiárida**. Instituto Internacional Despertando Vocações, 2017Disponível em: <<http://cointer-pdvagro.com.br/wp-content/uploads/2018/02/AVALIAÇÃO-DE-ATRIBUTOS-QUÍMICOS-E-USO-DE-SOLOS-DA-REGIÃO-SEMIÁRIDA.pdf>>

FARIAS, T. P. et al. Eficiência simbiótica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi no Sul do Maranhão. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 611–618, 2016.

FERREIRA, P. A. A. et al. New rhizobia strains isolated from the Amazon region fix atmospheric nitrogen in symbiosis with cowpea and increase its yield. **Bragantia**, v. 78, n. 1, p. 38–42, 2019.

FLORES-FÉLIX, J. D. et al. Use of *Rhizobium leguminosarum* as a potential biofertilizer for *Lactuca sativa* and *Daucus carota* crops. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 6, p. 876–882, 2013.

FUENTES-LLANILLO, R. et al. Profitability of no-till grain production systems. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p. 77–86, 2018.

FUNES PINTER, M. I. et al. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate stress by AsIII in grapevine. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 267, p. 100–108, 2018.

GADHAVE, K. R.; HOURSTON, J. E.; GANGE, A. C. Developing Soil Microbial Inoculants for Pest Management: Can One Have Too Much of a Good Thing? **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 4, p. 348–356, 2016.

GARCÍA, J. E. et al. In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. **Microbiological Research**, v. 202, p. 21–29, 2017.

HASSEN, A. I.; LAMPRECHT, S. C.; BOPAPE, F. L. Emergence of  $\beta$ -rhizobia as new root nodulating bacteria in legumes and current status of the legume–rhizobium host specificity dogma. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 1–13, 2020.

HUTCHINSON, C. M.; MCGIFFEN, M. E. Cowpea cover crop mulch for weed control in desert pepper production. **HortScience**, v. 35, n. 2, p. 196–198, 2000.

INMET. Dados meteorológicos–estações automáticas. 2021. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>>. Acesso em: 15 dezembro 2021.

- IQBAL, M. A. et al. Forage productivity of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] cultivars improves by optimization of spatial arrangements. **Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias**, v. 9, n. 2, p. 203–219, 2018.
- JONES, D. L. et al. REVIEW: Nutrient stripping: The global disparity between food security and soil nutrient stocks. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 4, p. 851–862, 2013.
- KAMAI, N.; GWORGWOR, N. A.; WABEKWA, J. W. Varietal Trials and Physiological Components Determining Yield Differences among Cowpea Varieties in Semiarid Zone of Nigeria. **ISRN Agronomy**, v. 2014, p. 1–7, 2014.
- LANKA, S. V.; KHADAROO, I.; BÖHM, S. Agroecology accounting: biodiversity and sustainable livelihoods from the margins. **Accounting, Auditing and Accountability Journal**, v. 30, n. 7, p. 1592–1613, 2017.
- LARDI, M. et al. Competition experiments for legume infection identify *Burkholderia phymatum* as a highly competitive  $\beta$ -rhizobium. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1–12, 2017.
- LEDGER, T. et al. Volatile-mediated effects predominate in *Paraburkholderia phytofirmans* growth promotion and salt stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. NOV, p. 1–18, 2016.
- LI, H. et al. Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings. **Soil and Tillage Research**, v. 199, 2020.
- LIRA, T. P. et al. Diversidade e eficiência simbiótica de rizóbios de solos de clima semiárido tropical com diferentes fertilidades. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 25, n. 1, p. 1–9, 2020.
- LIU, X. XIN et al. Biodegradation of Phenanthrene and Heavy Metal Removal by Acid-Tolerant *Burkholderia fungorum* FM-2. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1–13, 2019.
- MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MARINHO, R. DE C. N. et al. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 49, n. 5, p. 395–402, 2014.
- MARINHO, R. DE C. N. et al. Symbiotic and agronomic efficiency of new cowpea rhizobia from Brazilian semi-arid. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 273–281, 2017.
- MATTOS, M. L. T. Microbiologia do solo. In: NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. (Eds.). **Recurso Solo: Propriedades e Usos**. São Carlos: Editora Cubo, 2015. p. 250–272.
- MELO, R. DE A. et al. Caracterização morfo-agronômica de genótipos de feijão-caupi. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 3365–3372, 2011.
- MENÉNDEZ, E. et al. Plant Growth Promotion Abilities of Phylogenetically Diverse Mesorhizobium Strains: Effect in the Root Colonization and Development of Tomato Seedlings. **Microorganisms**, v. 412, n. 8, p. 15, 2020.

- NAGPAL, S. et al. Coordination of Mesorhizobium sp . and endophytic bacteria as elicitor of biocontrol against Fusarium wilt in chickpea. **Eur J Plant Pathol**, 2020.
- NASCIMENTO, J. T.; PEDROSA, M. B.; TAVARES SOBRINHO, J. Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o crescimento e produção de feijão caupi, vagens e grãos verdes. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 174–177, 2004.
- NUZZO, A. et al. Impact of Soil Microbial Amendments on Tomato Rhizosphere Microbiome and Plant Growth in Field Soil. **Microbial Ecology**, v. 80, n. 2, p. 398–409, 2020.
- NYAGA, J. W.; NJERU, E. M. Potential of Native Rhizobia to Improve Cowpea Growth and Production in Semiarid Regions of Kenya. **Frontiers in Agronomy**, v. 2, n. December, p. 1–13, 2020.
- OLIVEIRA, A. P. et al. Yield of sweet potato fertilized with cattle manure and biofertilizer Ademar. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 277–281, 2010.
- OLIVEIRA, G. S. et al. Are Cowpea-Nodulating Bradyrhizobial Communities Influenced by Biochar Amendments in Soils? Genetic Diversity and Symbiotic Effectiveness Assessment of Two Agricultural Soils of Brazilian Drylands. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 439–449, 2020.
- OLIVEIRA, R. S. et al. Improved grain yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) under water deficit after inoculation with *Bradyrhizobium elkanii* and *Rhizophagus irregularis*. **Crop and Pasture Science**, v. 68, n. 10–11, p. 1052–1059, 2017.
- OUMA, E. W. et al. Elucidating the Potential of Native Rhizobial Isolates to Improve Biological Nitrogen Fixation and Growth of Common Bean and Soybean in Smallholder Farming Systems of Kenya. **International Journal of Agronomy**, v. 2016, 2016.
- PAHARI, A. et al. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgp): Prospects and Application. In: NAYAK, S. K.; MISHRA, B. B. (Eds.). . **Frontiers in Soil and Environmental Microbiology**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2020. p. 47–56.
- PAUNGFOO-LONHIENNE, C. et al. Crosstalk between sugarcane and a plant-growth promoting Burkholderia species. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–14, 2016.
- QUAGLIOTTO, L. et al. Three native *Pseudomonas fluorescens* strains tested under growth chamber and field conditions as biocontrol agents against damping-off in alfalfa. **Biological Control**, v. 51, n. 1, p. 42–50, 2009.
- RAKLAMI, A. et al. Use of rhizobacteria and mycorrhizae consortium in the open field as a strategy for improving crop nutrition, productivity and soil fertility. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1–11, 2019.
- ROCHA, H. G. DA S.; CASTRO, H. DE S.; FREITAS, J. R. B. RESPOSTA DE FEIJÃO-CAUPI À INOCULAÇÃO COM ESTIRPE DE RIZÓBIO RESPONSE. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, v. 1, n. 2, p. 123–134, 2019.
- SANTOS, C. E. DE R. E S. et al. Fertilidade e biologia do solo: integração e tecnologia para todos. In: MOREIRA, F. M. D. S.; KASUYA, M. C. M. (Eds.). . **Fertilidade e biologia do solo: integração e tecnologia para todos**. [s.l.] Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), 2017a. v. 2p. 215–237.
- SANTOS, C. L. R. et al. Contribution of a mixed inoculant containing strains of

Burkholderia spp. and Herbaspirillum ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied Soil Ecology**, v. 113, p. 96–106, 2017b.

SANTOS, L. F.; PEREIRA, D. S.; LANA, R. P. Micro-organismos Eficientes (EM): uma realidade presente em sistemas agroecológicos. In: CARMO, D. L. et al. (Eds.). **Pesquisa em Agroecologia: conquistas e perspectivas**. [s.l: s.n.]. p. 89–104.

SCHMIDT, J.; MESSMER, M.; WILBOIS, K. P. Beneficial microorganisms for soybean (*Glycine max* (L.) Merr), with a focus on low root-zone temperatures. **Plant and Soil**, v. 397, n. 1–2, p. 411–445, 2015.

SCHOEBITZ, M.; MENGUAL, C.; ROLDÁN, A. Combined effects of clay immobilized *Azospirillum brasilense* and *Pantoea dispersa* and organic olive residue on plant performance and soil properties in the revegetation of a semiarid area. **Science of the Total Environment**, v. 466–467, p. 67–73, 2014.

SETHI, D.; MOHANTY, S.; PATTANAYAK, S. K. Acid and salt tolerance behavior of *Rhizobium* isolates and their effect on microbial diversity in the rhizosphere of redgram (*Cajanus cajan* L.). **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v. 56, p. 245–252, 2019.

SILVA, J. M. et al. Shoot nutrient contents and vegetative melon plants growth at different pH levels of the nutrient solution. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 31, n. 9, p. 674–678, 2019a.

SILVA, M. B. O. et al. Agronomic performance of cowpea genotypes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 1059–1066, 2019b.

SIMBINE, M. G. et al. Functional and genetic diversity of native rhizobial isolates nodulating cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in Mozambican soils. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2021.

SOUSA, L. V. DE et al. Physiological Responses of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Under Irrigation With Saline Water and Biostimulant Treatment. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 12, p. 24, 2018.

SOUZA, A. C. D. M. et al. Biological nitrogen fixation stability of cowpea cultivars with tropical semi-arid rhizobial strains. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 2, p. 359–369, 2021.

TAHIR, M. et al. Regulation of antioxidant production, ion uptake and productivity in potato (*Solanum tuberosum* L.) plant inoculated with growth promoting salt tolerant *Bacillus* strains. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 178, p. 33–42, 2019.

TAIWO, A. M. et al. Bioremediation of industrially contaminated soil using compost and plant technology. **Journal of Hazardous Materials**, v. 304, p. 166–172, 2016.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TERAVEST, D. et al. Crop production and soil water management in conservation agriculture, no-till, and conventional tillage systems in Malawi. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 212, p. 285–296, 2015.

TRIPTI et al. Biochar and flyash inoculated with plant growth promoting rhizobacteria act as potential biofertilizer for luxuriant growth and yield of tomato plant. **Journal of Environmental Management**, v. 190, p. 20–27, 2017.

- ULZEN, J. et al. Bradyrhizobium inoculants enhance grain yields of soybean and cowpea in Northern Ghana. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. NOVEMBER2016, p. 1–9, 2016.
- VASSILEV, N. et al. Unexploited potential of some biotechnological techniques for biofertilizer production and formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 4983–4996, 2015.
- VIVES-PERIS, V. et al. Root exudates from citrus plants subjected to abiotic stress conditions have a positive effect on rhizobacteria. **Journal of Plant Physiology**, v. 228, p. 208–217, 2018.
- WALKER, V. et al. Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. **New Phytologist**, v. 189, n. 2, p. 494–506, 2011.
- WU, H. et al. Evaluating the combined effect of a systemic phenylpyrrole fungicide and the plant growth-promoting rhizobacteria *Paraburkholderia phytofirmans* (strain PsJN::gfp2x) against the grapevine trunk pathogen *Neofusicoccum parvum*. **Pest Management Science**, v. 76, n. 11, p. 3838–3848, 2020.
- XIAO, X. et al. Interactions of plant growth-promoting rhizobacteria and soil factors in two leguminous plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 23–24, p. 8485–8497, 2017.
- XIE, W. Y. et al. Long-term effects of manure and chemical fertilizers on soil antibiotic resistome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 122, p. 111–119, 2018.
- XIONG, M.; SUN, R.; CHEN, L. Effects of soil conservation techniques on water erosion control: A global analysis. **Science of the Total Environment**, v. 645, p. 753–760, 2018.
- YASIN, N. A. et al. Halotolerant plant-growth promoting rhizobacteria modulate gene expression and osmolyte production to improve salinity tolerance and growth in *Capsicum annum* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 23, p. 23236–23250, 2018.
- YUAN, J. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria strain *Bacillus amyloliquefaciens* njn-6-enriched bio-organic fertilizer suppressed fusarium wilt and promoted the growth of banana plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 16, p. 3774–3780, 2013.
- ZHANG, W. et al. Accumulation and distribution characteristics for nitrogen, phosphorus and potassium in different cultivars of *Petunia hybrida* Vilm. **Scientia Horticulturae**, v. 141, p. 83–90, 2012.