# Eficiência Simbiótica de Novos Isolados de Rizóbio de Feijão-Caupi do Submédio do Vale do São Francisco

Symbiotic Efficiency of New Cowpea Rhizobia from the Submedium Part of São Francisco Valley

Rejane de Carvalho Nascimento<sup>1</sup>; Helanne Silva Santos Barden<sup>2</sup>; Tailane Ribeiro do Nascimento<sup>1</sup>; Katherine Gomes Oliveira<sup>3</sup>; Indra Elena Costa Escobar<sup>4</sup>; Paulo Ivan Fernandes Júnior<sup>5</sup>

#### Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de estirpes de rizóbios nativas do Submédio do Vale do São Francisco no feijão-caupi 'BRS Pujante'. Os 29 tratamentos consistiram de: uma testemunha absoluta (sem inoculação e sem aplicação de N); outra sem inoculação e com aplicação de nitrato de amônio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), com 20 mg de N por planta, aplicado semanalmente, um tratamento inoculado com a estirpe de referência BR 3262; e mais 26 isolados que foram obtidos no campo. O experimento foi implantado em vasos com areia autoclavada com três repetições em delineamento inteiramente casualizado. Foram avaliadas as variáveis massa da

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Graduação em Ciências Biológicas, UPE, Petrolina, PE, estagiária da Embrapa Semiárido:

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Bióloga, Mestranda em Fitotecnia, UFPI, Bom Jesus, PI;

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Graduação em Ciências Biológicas, UPE, Petrolina, PE, bolsista PIBIC/CNPq da Embrapa Semiárido;

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Bióloga, D.Sc. em Biologia de Fungos, Bolsista PNPD, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, Univasf, Petrolina, PE;

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup>Biólogo, D.Sc. em Ciência do Solo, Pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, paulo.ivan@embrapa.br.

parte aérea seca (MPAS), massa das raízes secas (MRS), massa dos nódulos secos (MNS), número de nódulos (NN), teor de N da parte aérea (TNPA). Não houve diferença significativa (p> 0,05) para a MPAS, MSR, MSN. No entanto, houve diferença significativa (p< 0,05) para o NN e para o TNPA. A partir dos resultados obtidos nesse estudo, o novo isolado 17.17 deve ser considerado em estudos futuros para avaliações de competitividade e eficiência agronômica.

Palavras-chave: fixação biológica do nitrogênio, inoculante, Semiárido.

## Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) apresenta boa adaptação a diversos tipos de solo e se desenvolve bem em solos de baixa fertilidade natural. Devido a essas características, é cultivado em todo o Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste com baixo emprego de tecnologia. Contudo, a produtividade do feijão-caupi em áreas semiáridas é baixa (330 kg.ha<sup>-1</sup>) quando comparada com aquela obtida nas regiões Norte (860 kg.ha<sup>-1</sup>) e Centro-Oeste (1230 kg.ha<sup>-1</sup>) (NASCIMENTO et al., 2009); evidenciando a necessidade de adoção de tecnologias de baixo custo que proporcionem aumentos na produtividade (MARINHO et al., 2014).

O feijão-caupi é capaz de adquirir nitrogênio por meio do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN), quando associado com rizóbios específicos, eficientes e competitivos. A inoculação de sementes com estirpes de rizóbios selecionadas é uma alternativa econômica sustentável para o fornecimento de nitrogênio para culturas, reduzindo as despesas com fertilizantes químicos nitrogenados, além de eliminar o impacto negativo sobre o meio ambiente (MARTINS et al., 2003).

Estudos já demonstraram que o feijão-caupi pode se beneficiar da inoculação de estirpes de rizóbio em condições de campo no Semiárido (MARTINS et al., 2003; MARINHO et al., 2014). Entretanto, para a obtenção de isolados mais eficientes que resultem em maior adoção por parte dos produtores da tecnologia de inoculação, estudos prospectivos, que avaliem a diversidade e a eficiência de isolados de rizóbio, são necessários (NASCIMENTO et al., 2014). Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de novos isolados de rizóbio de feijão-caupi, nativos do Submédio do Vale do São Francisco, na variedade BRS Pujante em condições de casa de vegetação.

### Material e Métodos

O experimento foi instalado em casa de vegetação da Embrapa Semiárido e os isolados de rizóbios foram obtidos a partir de plantas de feijão-caupi cultivadas no Campo Experimental de Mandacaru, em Juazeiro, BA. Os isolados foram previamente obtidos por Nascimento et al. (2014) e estão estocados na Coleção de Culturas de Micro-organismos de Interesse Agrícola da Embrapa Semiárido.

As sementes da variedade BRS Pujante, foram desinfestadas superficialmente com peróxido de hidrogênio a 5% (v/v) e lavadas oito vezes com água destilada autoclavada. Foram plantadas guatro sementes por vaso com capacidade de 500 mL preenchidos com areia também autoclavada. A inoculação se deu com a aplicação de 1 mL do caldo de cultivo (aproximadamente 10<sup>9</sup> células/mL) sobre cada semente no momento do plantio. Para evitar a contaminação, as sementes inoculadas foram cobertas com uma fina camada de areia autoclavada. Após 10 dias da emergência das plantas, procedeu-se o desbaste, deixando-se uma planta por vaso. As plantas receberam água conforme necessário e foram colhidas aos 45 dias após a emergência (DAE). A parte aérea foi destacada, as raízes foram lavadas e, os nódulos, retirados manualmente e contados. A secagem das diferentes partes foi feita em estufa de circulação forcada de ar a 65 ºC até atingirem massa constante. Foram realizadas as seguintes avaliações: massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), massa seca dos nódulos (MSN), número de nódulos (NN), teor de N da parte aérea (TNPA) pelo método semi-micro Kieldahl (MALAVOLTA et al., 1997).

Os 29 tratamentos consistiram de uma testemunha absoluta (sem inoculação e sem aplicação de N); uma testemunha sem inoculação e com aplicação de nitrato de amônio (NH $_4$ NO $_3$ ), com 20 mg de N por planta, aplicado semanalmente; um tratamento inoculado com a estirpe de referência BR 3262; e mais 26 tratamentos de inoculação com isolados que foram oriundos de um vertissolo do Campo Experimental de Mandacaru. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com três repetições, totalizando 87 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise estatística de variância e, quando significativos, submetidos ao teste de Scott-Knott (p< 0,05). As análises foram realizadas com o programa Assistat 7.7 Beta (2011).

## Resultados e Discussão

Verificou-se que não houve contaminação no experimento pela ausência de nódulos nos tratamentos não inoculados (testemunha absoluta e

testemunha nitrogenada). Os demais isolados foram capazes de induzir a formação de nódulos (Tabela 1). Não houve diferença significativa (p> 0,05) entre os tratamentos para as variáveis MSPA, MSR e MSN. No entanto, houve diferença significativa (p< 0,05) para o NN e para o TNPA.

**Tabela 1.** Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), massa seca de nódulos (MSN), número de nódulos (NN) e teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA) em plantas de feijão-caupi inoculadas com rizóbios.

	MDAG	MDO	MANIO		
Tratamento/Estirpe	MPAS	MRS	MNS	NN nod/planta	TNPA
		g/planta		nod/planta	mg/g
1.10	1,68 a	1,01 a	0,10 a	49 b	20,91 b
4.14	1,34 a	0,50 a	0,09 a	51 b	28,68 a
4.19	1,48 a	0,66 a	0,07 a	35 c	19,20 b
10.12	1,56 a	0,70 a	0,08 a	52 b	21,66 b
10.14	1,33 a	0,49 a	0,09 a	57 b	25,01 b
10.19	1,26 a	0,84 a	0,07 a	33 c	21,42 b
10.3	1,45 a	0,64 a	0,09 a	39 c	25,29 b
10.5	1,64 a	0,67 a	0,11 a	56 b	20,59 b
10.8	1,13 a	0,59 a	0,06 a	28 c	28,93 a
15.16	1,12 a	0,48 a	0,08 a	38 c	32,38 a
15.18	1,70 a	0,59 a	0,12 a	54 b	20,71 b
15.3	1,70 a	0,79 a	0,32 a	49 b	20,90 b
15.5	1,61 a	0,57 a	0,10 a	74 a	22,68 b
17.16	1,59 a	0,62 a	0,11 a	56 b	27,37 a
17.17	1,37 a	0,46 a	0,15 a	101 a	27,44 a
17.19	1,60 a	0,60 a	0,09 a	43 c	20,89 b
17.20	1,66 a	0,76 a	0,10 a	32 c	24,54 b
17.9	1,76 a	0,94 a	0,09 a	55 b	21,00 b
23.16	0,88 a	0,52 a	0,06 a	34 c	31,83 a
23.18	1,36 a	0,70 a	0,09 a	63 b	28,65 a
23.19	1,49 a	0,65 a	0,09 a	81 a	23,33 b
23.20	1,89 a	1,03 a	0,09 a	38 c	25,38 b
23.8	1,28 a	0,61 a	0,11 a	56 b	34,38 a
29.7	1,40 a	0,78 a	0,08 a	24 c	25,10 b
31.16	1,35 a	0,63 a	0,11 a	55 b	24,10 b
31.17	1,60 a	0,79 a	0,10 a	41 c	22,99 b
BR3262	2,26 a	0,54 a	0,12 a	79 a	26,04 b
SI*	1,18 a	0,53 a	0,00 a	0 c	23,49 b
SI + N* *	1,47 a	0,72 a	0,00 a	0 c	28,37 a

<sup>\*</sup> SI= sem inoculação; \* \* SI+ N= sem ino culação + nitrogênio mineral

Maior NN foi observado nos tratamentos 15.5, 17.17, 23.19 e BR3262 quando comparados aos demais. Para a variável TNPA, foram observados maiores valores para os tratamentos inoculados com as estirpes 4.14, 10.8, 15.16, 17.16, 17.17, 23.16, 23.18, 23.8. Para o controle com aplicação de nitrogênio, todos esses tratamentos foram superiores àqueles obtidos com a estirpe de referência BR 3262 e com a testemunha absoluta.

O número e o peso seco dos nódulos são alguns dos critérios utilizados na avaliação da eficiência simbiótica entre rizóbios e leguminosas (CAMPO; HUNGRIA, 2007). As estirpes 10.8, 15.16 e 23.16, mesmo apresentando um baixo número de nódulos, obtiveram alto teor de N, indicando elevada eficiência simbiótica dos rizóbios inoculados. Estudos para avaliar a eficiência simbiótica de bactérias oriundas de nódulos de feijão-caupi no Semiárido têm indicado bactérias potenciais para emprego na cultura do feijão caupi (COSTA et al., 2013). Da mesma forma, os resultados obtidos no presente estudo indicam que o vertissolo do Campo Experimental de Mandacaru hospeda isolados com potencial biotecnológico.

### Conclusão

A maioria dos isolados proporcionou teores de N na parte aérea iguais ao observado por plantas inoculadas com a estirpe de referência (BR 3262) ou suplementadas com N mineral, indicado o potencial destes isolados para estudos de avaliação da eficiência agronômica.

#### Referências

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agronômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA, 13., 2006, Londrina. Anais. Londrina: Embrapa Soja, 2007. p. 89-123. (Embrapa Soja. Documentos, 290).

COSTA. E. M.; NÓBREGA. R. S. A.; CARVALHO. F.; TROCHMANN. A.; FERREIRA. L. V. M.; MOREIRA. F. M. S. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MARINHO, R. C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; ZILLI, J. E.; XAVIER, G. R.; SANTOS, C. A. F.; AIDAR, S. T.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 49, n. 5, p. 395-402, 2014.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 38, p. 333-339, 2003.

NASCIMENTO, H. T. S.; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; RIBEIRO, V. Q.; SILVA, K. J. D. Produção, avanços e desafios para cultura do feijão-caupi no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 2.; REUNIÃO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 7., 2009, Belém, PA. **Da agricultura de subsistência ao agronegócio**: anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 1 CD-ROM.

NASCIMENTO, R. C.; BARDEN, H. S. S.; NASCIMENTO, T. R.; FERREIRA, T. S. D.; NOBREGA, R. S. A.; MARTINS, L. M.; FERNANDES JUNIOR, P. I. Caracterização de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi cultivado em Vertissolo em Juazeiro, BA. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 9., 2014, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2014. p. 177-182. (Embrapa Semiárido. Documentos, 261).