

Eficiência de novas bactérias nodulantes em feijão-caupi isoladas de solos do Piauí ⁽¹⁾

Linnajara de Vasconcelos Martins Ferreira ⁽²⁾; Rafaela Simão Abrahão Nóbrega ⁽³⁾; Franklin Eduardo Melo Santiago ⁽⁴⁾; Gustavo Cassiano da Silva ⁽⁴⁾; Flávia Louzeiro de Aguiar ⁽⁴⁾; Paulo Ivan Fernandes Júnior ⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do MAPA.

⁽²⁾ Mestre em Solos e Nutrição de Plantas, bolsista CAPES/CNPq Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus, PI; CEP: 64900-000, linnajaravasconcelos@hotmail.com; ⁽³⁾ Professora; Universidade Federal do Piauí-CPCE⁵; ⁽⁴⁾ Acadêmicos de Engenharia Agrônoma; Universidade Federal do Piauí-CPCE; ⁽⁵⁾ Pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade simbiótica de estirpes de BNL em feijão-caupi oriundas de solos do PI, quando cultivado em vasos com amostras de solos contrastantes. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (2 solos x16 tratamentos de inoculação). O experimento foi conduzido no viveiro da Universidade Federal do Piauí, no município de Bom Jesus, utilizando vasos com 4 kg de solo. O cultivar de feijão-caupi utilizado foi a BR 17 Gurguéia. A coleta foi realizada aos 45 dias após a germinação, sendo avaliados o número de nódulo, a matéria fresca e seca dos nódulos, da parte aérea, da raiz e total, eficiência relativa comparando com a testemunha nitrogenada, e acúmulo de nitrogênio na matéria seca da parte aérea. Os isolados UFPI B3-4 e UFPI B5-7A apresentaram capacidade e eficiência na nodulação e na fixação de N₂ em feijão-caupi, sendo selecionadas para estudos posteriores em condições de campo.

Termos de indexação: inoculação, fixação biológica de nitrogênio, leguminosa.

INTRODUÇÃO

Inoculação de leguminosas com estirpes eficientes, para promover a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e aumento de produtividade, é uma prática agrícola muito difundida no Brasil para a cultura da soja. Deste modo, é de fundamental importância a difusão dessa biotecnologia de baixo custo, para outras leguminosas de importância agrícola, principalmente aquelas cultivadas por pequenos agricultores, como o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L Walp.).

Estirpes eficientes de rizóbio já foram selecionadas para 94 espécies vegetais no Brasil. Dentre estas estirpes, quatro são recomendadas para o feijão-caupi (BRASIL, 2011). Muitas vezes uma estirpe nova recém-isolada pode ter sua eficiência agrônoma superior às estirpes já recomendadas, o que justifica a constante prospecção por bactérias novas no Brasil (Zilli et al., 2009). Diante disso, a seleção de estirpes eficientes

para otimizar o potencial de fixação de N₂ em leguminosas de importância econômica tem sido o objetivo de vários estudos conduzidos no Brasil, principalmente na região Nordeste (Costa, 2013; Fernandes Júnior et al., 2012; 2011; Martins, 2011a; Martins 2011b). Porém são poucos os trabalhos relacionados à seleção e diversidade bactérias que nodulam leguminosas (BNL) no Estado do Piauí (Martins et al., 2013; Costa, 2013; Martins, 2011a; Martins, 2011b; Zilli et al., 2004).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade simbiótica de estirpes de BNL em feijão-caupi oriundas de solos do PI, quando cultivado em vasos com amostras de solos contrastantes.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas foram cultivadas no viveiro da Universidade Federal do Piauí, localizada no município de Bom Jesus, PI (09°04'28"S e 44°21'31"W) no período de dezembro de 2012 a fevereiro de 2013.

Foram utilizados vasos contendo 4 kg de solo da camada superficial (0-20 cm) de um Latossolo Amarelo e um Neossolo Flúvico, coletados no município de Bom Jesus, PI. Os solos foram secos ao ar, destorroados, peneirados a 5 mm, homogêneos e adicionados aos vasos.

Os isolados em teste neste estudo são oriundas de áreas de várzea produtoras de feijão caupi do município de Bom Jesus, PI. A caracterização fenotípica dos isolados foi realizado por Martins (2011a), autenticada por Martins (2011b) em garrafas *log neck* e testadas vasos de Leonard modificados por Costa (2013).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, e os tratamentos arranjados em esquema fatorial (2 solos x 16 tratamentos de inoculação). Os tratamentos foram constituídos de dois solos contrastantes da região Sudoeste piauiense (Latossolo Amarelo e Neossolo Flúvico) e por inoculações com oito isolados de bactérias obtidos a partir de nódulos de plantas feijão-caupi cultivadas em solos várzea do município de Bom Jesus-PI (UFPI B3-4, UFPI B3-5,

UFPI B3-7, UFPI B4-3 UFPI B4-5, UFPI B4-6, UFPI B5-7A e UFPI B7-6); quatro estirpes de referência recomendadas para cultura do feijão-caupi (UFLA 3-84, BR 3267, BR 3262, INPA 3-11B), duas estirpes em fase de teste (UFLA 3-164 e UFLA 3-154), e dois tratamentos controles: sem inoculação e sem adição de N; sem inoculação e com N mineral (300 mg de N vaso⁻¹). A dose do tratamento com nitrogênio mineral foi parcelada em duas vezes: 165 mg de N no plantio e 135 mg de N, 15 dias após a emergência.

O cultivar de feijão-caupi utilizado foi BR 17 Gurguéia. As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol puro por 5 segundos e hipoclorito de sódio 1% por 2 minutos, com lavagens sucessivas em água destilada estéril. Para composição dos tratamentos, foi inoculado 1 mL de meio 79 semi-sólido (Fred & Waksman, 1928) com as estirpes na fase log de seu crescimento em cada semente. Em cada vaso foram semeadas seis sementes e dez dias após a emergência fez-se o desbaste deixando uma planta por vaso. A coleta foi realizada aos 45 dias após a germinação, sendo avaliados: número de nódulos por planta (NN) e matéria fresca e seca de nódulos (MFN e MSN), produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa em relação a testemunha nitrogenada (EFRE) calculada pela fórmula: $EFRE(N) = (MSPA \text{ inoculada}) * 100 / (MSPA \text{ da planta adubada com N mineral})$, e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA). Para a determinação da produção de matéria seca, a parte aérea e raiz foram acondicionadas em sacos de papel e secos em estufa de ar forçado à 60 °C, até atingir peso constante. Depois da pesagem, a parte aérea foi moída para as determinações dos teores de N na parte aérea, pelo método semimicro Kjeldahl (Liao, 1981). O acúmulo de nutrientes nas folhas foram calculados multiplicando-se o massa seca da matéria seca da parte aérea (g) * (teor % de nutrientes)/100.

Os dados do ensaio foram submetidos à análise de variância empregando o sistema de análise estatística SISVAR, versão 4.2 (Ferreira, 2000). Os dados de NN foram transformados para raiz quadrada de Y+1. Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O NN foi influenciado apenas pelas classes de solo, em que maiores médias foram quantificadas nas plantas cultivadas no Neossolo Flúvico (**Tabela 1**).

O NN da testemunha sem N do Neossolo Flúvico indica que este solo possui uma significativa população nativa de rizóbio capaz de nodular o feijão-caupi, diferentemente do encontrado no Latossolo Amarelo.

Houve interação significativa entre os solos e fontes de N para as variáveis MFN MSN MSPA, MST, EFRE e ANPA (**Tabela 1**). Quanto às formas de fornecimento de N, os isolados UFPI B3-4, UFPI B3-7 e UFPI B4-5 destacaram-se dos demais isolados em fase de seleção por resultar em plantas com maiores MFN e MSN quando as plantas de feijão-caupi foram cultivadas no Latossolo Amarelo, apresentando médias semelhante aos tratamentos com as estirpes inoculantes aprovadas para o feijão-caupi. Porém quando as plantas de feijão-caupi foram cultivadas no Neossolo Flúvico, os tratamentos inoculados com os rizóbios UFPI B3-4, UFLA 3-168, UFLA 3-154, UFLA 3-84, INPA 3-11B e a BR 3262 apresentaram MFN semelhantes entre si. Neste mesmo solo a maior média de MSN entre as plantas inoculadas com os insolados também foi obtida quando com a UFPI B3-4, uma vez que este tratamentos foi igual aos tratamentos inoculados com as estirpes 3-168, UFLA 3-154, UFLA 3-84 e BR 3267. Porém estes ficaram em um grupo inferior aos tratamentos inoculados com as estirpes INPA 3-11B e BR 3262. Resultados semelhantes foram observados por Costa (2003), em vaso Leonard ao verificar que apenas a UFPI B3-4 destacou-se na produção de MSN em feijão-caupi.

A MSPA representa um bom indicativo do estado nutricional das plantas, sendo importante para proporcionar à cultura grande potencial de produção (Souza et al., 2008; Xavier et al., 2006). Essa característica vem sendo utilizada na seleção de estirpes para composição de inoculantes (Souza et al., 2008; Zilli et al., 2006). No presente estudo os isolados UFPI B3-4 e UFPI B5-7A foram as mais eficientes independente do solo, situando-se no mesmo grupo da testemunha que recebeu N mineral e das estirpes aprovadas pelo MAPA para o feijão-caupi (UFLA 3-84, INPA 3-11B, BR 3267 e BR 3262).

Em relação à EFRE, os insolados UFPI B3-4 (98,66%) e UFPI B5-7A (98,77%) destacaram-se, situando no mesmo grupo das estirpes aprovadas como inoculante para a cultura e semelhante ao tratamento nitrogenado independente da classe de solo. Ao avaliar a eficiência de rizóbios nativos do Agreste paraibano em casa de vegetação em vaso com solo Nascimento et al. (2010) encontraram dez estirpes que promoveram a eficiência relativa equivalentes aos das plantas fertilizadas com N mineral ou inoculadas com a estirpe recomendada BR 3267, estirpe que apresenta boa competitividade com BNL do solo (Zilli et al., 2006) e altas taxa FBN, avaliada em condições de casa de vegetação e campo (Martins et al., 2003; Zilli et al., 2006).

Em relação à variável ANPA, plantas inoculadas com os isolados UFPI B3-4, UFPI B4-3, UFPI B4-6, UFPI B5-7A e o tratamento testemunha sem N apresentaram médias similares nos dois solos estudados. As demais bactérias promoveram ANPA superior quando cultivados no Neossolo Flúvico com

exceção do isolado UFPI B7-6, que foi o único a apresentar média de ANPA superior no Latossolo Amarelo.

Entre as formas de fornecimento de N no Latossolo Amarelo os isolados UFPI B3-4, UFPI B5-7A e UFPI B7-6 promoveram ANPA semelhante ao observado em plantas inoculadas com as estirpes inoculantes de feijão-caupi, e as em fase de validação e à testemunha adubada com N mineral (300 mg/vaso). Porém quando as plantas foram cultivadas no Neossolo Flúvico não se observou o mesmo comportamento para ANPA, pois nenhum isolado apresentou média para essa variável semelhante as estirpes inoculantes de feijão-caupi e a testemunha nitrogenada, no entanto, os isolados UFPI B3-4, UFPI B3-5 e UFPI B5-7A ficam no mesmo grupo das estirpes em fase de teste UFLA 3-164 e UFLA 3-154 e em um grupo superior a testemunha sem N.

CONCLUSÕES

Os isolados UFPI B3-4 e UFPI B5-7A apresentaram satisfatória capacidade e eficiência simbiótica em feijão-caupi, sendo recomendadas para estudos posteriores em condições de campo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) pela auxílio financeiro ao projeto.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: Abril. 2012.

COSTA, E. M. **Potencial de promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos do Sudoeste piauiense**. 2013. 150 p. Dissertação (Mestrado em ciência do Solo) - Universidade Federal Lavras, Lavras

FERNANDES JÚNIOR P. I.; SILVA JUNIOR, E. B.; SILVA JUNIOR S. et al. Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: Survival of rhizobia in pre-inoculated seeds and field efficiency. **African Journal of Biotechnology** 11: 2945-2951, 2012.

FERREIRA, L. V. M.; NOBREGA, R. S. A.; NOBREGA, J. C. A. et al. Biological Nitrogen fixation in production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Family Farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, 5:153-160, 2013.

FRED, E. B. & WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology**. New York, McGraw-Hill Book Company, 1928. 143p.

LIAO, C. F. H. Devarda's allow methods for total nitrogen determination. **Soil Science Society of America Journal**, 45:852-855, 1981.

MARTINS, R. N. L. **Bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio em solos sob cultivo de feijão-caupi no Pólo de produção Bom Jesus- PI**. 2011a. 67 p. Dissertação (Mestrado em solos e nutrição de plantas) - Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus.

MARTINS, L. V. **Eficiência simbiótica de isolados de bactérias diazotróficas oriundos de solos da Várzea e do Cerrado Piauiense**. 2011b. 50 p. Monografia (Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2011b.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W. et al. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving yield in the Semi-Arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, 38:333-339, 2003.

NASCIMENTO, L. R. S.; SOUSA, C. A.; SANTOS, C. E. R. S. et al. Eficiência de isolados de rizóbios nativos do agreste paraibano em caupi. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 5:36-42, 2010.

SOUZA, R. A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C. et al. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43:83-91, 2008.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. A. et al. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Caatinga**, 19: 25-33, 2006.

ZILLI, J. E.; VALICHESKI, R. R.; RUMJANEK, N. G. et al. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41:811-818, 2006.

ZILLI, J. E.; VALISHESKI, R.; FREIRI FILHO, F. R. et al. Assessment of cowpea rhizobium diversity in Cerrado areas of Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 281-287, 2004.

Tabela 1. Número de nódulo (NN), matéria fresca e seca dos nódulos (MFN e MSN), matéria seca da parte áreas (MSPA), eficiência relativa (EFRE) e acúmulo de N na parte aérea (ANPA) obtidos de plantas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. inoculadas com isolados oriundos de solo de várzea do Sudoeste piauiense cultivadas em vasos com amostras do horizonte superficial de duas classes de solo.

Fontes de N	NN		MFN		MSN		MSPA		EFRE		ANPA	
	Número planta ⁻¹		-----g planta ⁻¹ -----		-----g planta ⁻¹ -----		-----g planta ⁻¹ -----		-----%-----		g planta ⁻¹	
	Solos											
	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico	Latossolo Amarelo	Neossolo Flúvico
UFPI B3-4	8,50 B	24,00 A	0,67 aB	1,88 aA	0,56 aB	1,57 bA	1,90 aB	2,38 aA	98,66 aA	95,82 aA	0,91 aA	1,10 bA
UFPI B3-5	7,00 B	30,0 A	0,31 bB	1,06 cA	0,22 bB	0,75 dA	0,57 cB	1,82 bA	28,59 cB	72,60 bA	0,32 bB	0,84 bA
UFPI B3-7	5,50 B	26,53 A	0,39 aB	0,75 dA	0,30 aB	0,60 dA	0,55 cB	1,15 cA	28,590 cB	46,20 cA	0,29 bB	0,41 cA
UFPI B4-3	5,25 B	45,41 A	0,11 bB	1,03 bA	0,06 bB	0,74 dA	0,81 cB	1,62 bA	42,284 cB	65,80 bA	0,35 bA	0,64 cA
UFPI B4-5	11,25 B	44,25 A	0,41 aB	1,22 cA	0,31 aB	0,78 dA	0,71 cB	1,57 bA	37,00 cB	62,84 bA	0,30 bB	0,41 cA
UFPI B4-6	5,25 B	79,25A	0,25 bB	0,89 dA	0,14 bB	0,67 dA	0,86 cB	1,56 bA	44,344 cB	62,20 bA	0,45 bA	0,71 cA
UFPI B5-7A	5,25 B	33,51 A	0,34 bB	1,05 cA	0,29 bB	0,83 dA	1,90 aB	2,29 aA	98,776aA	92,08 aA	0,68 aA	0,79 bA
UFPI B7-6	3,50 B	45,27 A	0,04 bB	1,26 cA	0,01 bB	0,82 dA	1,48 bB	1,25 cA	76,598 bB	49,52 cA	0,94 aA	0,44 cB
UFLA 3-164	8,25 B	51,25 A	0,45 aB	1,99 aA	0,30aB	1,72 bA	1,30 bB	2,55 aA	67,165 bB	102,06 aA	0,71 aA	1,04 bA
UFLA 3-154	9,50 B	42,10 A	0,42 aB	1,93 aA	0,22 bB	1,07 cA	1,47 bA	2,47 aA	76,610 bB	98,44 aA	0,76 aA	0,84 bA
UFLA 3-84	5,25 B	30,74 A	0,54 aB	1,89 aA	0,38 aB	1,67 bA	1,78 aB	2,46 aA	92,427 aA	98,24 aA	1,04 aB	1,56 aA
INPA 3-11B	3,20 B	36,73 A	0,66 bB	2,06 aA	0,53 aB	1,89 aA	1,86 aB	2,63 aA	96,842 aA	104,23 aA	0,91 aB	1,42 aA
BR 3262	9,52 B	26,00 A	0,60 aB	2,07 aA	0,48 aB	1,89 aA	1,76 aB	2,50 aA	91,781 aA	100,17 aA	1,03 aB	1,69 aA
BR 3267	7,50 B	30,47 A	0,62 aB	1,69 bA	0,47 aB	1,57 bA	1,68 aB	2,75 aA	87,115 aB	109,65 aA	0,96 aB	1,41 aA
Test. S/N	4,25 B	38,00 A	0,24 bB	1,54 bA	0,04 bB	1,19 cA	0,67 cB	1,87 bA	35,023 cB	75,23 bA	0,28 bA	0,61 cA
Test. C/N	0 B	15,5A	0 cB	0,97 cA	0 cB	0,707 dA	1,93 aB	2,52 aA	100,00 aA	100,0 aA	1,00 aB	1,80 aA
Média	6,50 B	37,43A	0,382 B	1,449 A	0,254 B	1,156 A	1,32 B	2,08 A	68,929 B	83,44 B	0,687 B	0,986 A
CV %	30,20		23,66		26,04		14,48		15,60		30,84	

CV: Coeficiente de variação. Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade