



THIAGO PALHARES FARIAS

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE ESTIRPES DE
RIZÓBIO EM FEIJÃO-CAUPI CULTIVADO EM
ÁREAS DO MARANHÃO**

LAVRAS - MG

2014

THIAGO PALHARES FARIAS

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM ÁREAS
DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Fatima Maria de Souza Moreira

Coorientador

Dr. Bruno Lima Soares

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Farias, Thiago Palhares.

Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em Feijão-caupi
cultivado em áreas do Maranhão / Thiago Palhares Farias. – Lavras :
UFLA, 2014.

107 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Fatima Maria de Souza Moreira.

Bibliografia.

1. *Vigna unguiculata*. 2. *Bradyrhizobium*. 3. Tolerância à acidez.
4. Nitrogênio - Fixação. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 631.46

THIAGO PALHARES FARIAS

**EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM ÁREAS
DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de março de 2014.

Dr. Bruno Lima Soares	UFLA
Dra. Márcia do Vale Barreto Figueiredo	IPA/SEAGRI
Dr. Messias José Bastos de Andrade	UFLA
Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro	UFLA

Dra. Fatima Maria Souza Moreira
Orientadora

LAVRAS - MG

2014

A Deus, pelo dom da vida e da saúde.

A José Anastácio, meu pai (in memoriam), meu “cais” e fonte de fé e esperança.

A Lúcia, minha mãe, “arquiteta e operária” da minha trajetória de vida.

Aos meus irmãos, Alessandro, Tatiane e André, pela amizade, incentivo e apoio.

A Ayla Thaís e Clarisse, minhas filhas e meus “tesouros”.

Em especial, a Lourdiana Gonçalves Bogéa Farias, a minha esposa e amiga.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA) pela concessão do afastamento e bolsa de estudo. Em especial aos Campus de São Luís – Maracanã e de São Raimundo das Mangabeiras por oportunizar e viabilizar a realização do trabalho.

À Fazenda Cajueiro, pelo espaço concedido e pela doação das sementes utilizadas na condução dos experimentos.

Ao meu irmão André Luiz Palhares Farias e ao meu tio Francisco das Chagas Farias pelas inestimáveis colaborações no trabalho.

À professora Fátima Maria Souza Moreira pela orientação, apoio e ensinamentos passados.

Ao Dr. Bruno Lima Soares, pela coorientação na realização dos trabalhos e pela amizade.

Aos amigos José Zenóbio, Sílvio Coelho, Edvaldo Nascimento, Antônio Anísio, João Correia, Marcos Lima, Claudina Barbosa, Eduardo Del Sarto, Joaz Amorim, Márcio Vilela, Ana Régia, Wandson Pessoa, Luiz Júnior e todos os estudantes, pela preciosa colaboração.

Aos funcionários Marlene Aparecida e Manuel Aparecido pelo apoio dentro do Laboratório de Microbiologia do Solo.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo, em especial à Márcia Rufini, Teotônio Carvalho e André Trochmann pela colaboração.

Muito obrigado!

“Nada te perturbe. Nada te espante. Tudo passa. Só Deus não muda. A paciência tudo alcança. Quem Deus tem, nada lhe falta! Só Deus basta!”

Santa Tereza

RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência agrônômica de três novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio em feijão-caupi cv. BRS Guariba frente às estirpes referência e a influência da calagem na simbiose e produtividade da cultura em áreas do Maranhão. Foram conduzidos quatro experimentos de campo, em Balsas, São Raimundo das Mangabeiras, Dom Pedro e São Luís. O delineamento experimental foi blocos casualizados e sete tratamentos em Balsas, São Raimundo das Mangabeiras e Dom Pedro. Em São Luís, o delineamento foi blocos casualizados com quatro repetições e esquema fatorial 7 x 2, sendo a calagem o segundo fator. A eficiência agrônômica das estirpes foi determinada pela massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea, teor e acúmulo de N na parte aérea, teor e acúmulo de proteína bruta na parte aérea, número de vagens/planta, número de grãos/vagem, rendimento de grãos e teor e acúmulo de N no grão. As estirpes UFLA 03-154 e UFLA 3-164 destacaram-se na eficiência simbiótica de N₂ em Balsas e a UFLA 3-153 e UFLA 3-164 em São Raimundo das Mangabeiras e Dom Pedro e a UFLA 3-153 em São Luís. As estirpes UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164 são mais eficientes que as estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B e são recomendadas para inoculação do feijão-caupi no Maranhão. As estirpes e a cultivar BRS Guariba apresentam tolerância à acidez do solo. No entanto, o feijão-caupi responde em produtividade à melhoria da fertilidade do solo proporcionada pela e, portanto, essa prática é recomendada.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium*. Tolerância à acidez. FBN.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the agronomic efficiency of three new nitrogen fixating bacteria strains in caupi bean cv. BRS Guariba against reference strains, as well as the influence of liming over symbiosis and productivity of the culture in areas of Maranhão, Brazil. Four field experiments were conducted in ferries, São Raimundo das Mangabeiras, Dom Pedro and São Luís. The experimental design was in randomized blocks with seven treatments in ferries, São Raimundo das Mangabeiras and Dom Pedro. In São Luís, the design was randomized blocks with four replicates and a 7 x 2 factorial scheme, with liming as the second factor. The agronomic efficiency of the strains was determined by the nodules dry mass, shoot dry mass, content and accumulation of N in the shoot, content and accumulation of crude protein in the shoot, number of pods/plant, number of grains/pod, grain yield and content and accumulation of N in the grain. The strains UFLA 03-154 and UFLA 3-164 were highlighted regarding symbiotic efficiency of N₂ in ferries and UFLA 3-153 and UFLA 3-164 in São Raimundo das Mangabeiras and Dom Pedro and UFLA 3-153 in São Luís. The strains UFLA 3-153, UFLA 3-154 and UFLA 3-164 are more efficient than the strains UFLA 3-84 and INPA 3-11B approved as inoculant and are recommended for inoculation of the caupi-bean in Maranhão. The strains and cultivar BRS Guriba present tolerance to soil acidity. However, the caupi-bean responds in productivity to the improvement of soil fertility provided and, therefore, this practice is recommended.

Keywords: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium*. Tolerance to acidity. FBN.

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Atributos químicos do Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de Balsas e Latossolo Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de São Raimundo das Mangabeiras - MA.....47
- Tabela 2 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta^{-1}), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta^{-1}), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (kg ha^{-1}), proteína bruta (PB) (%) e acúmulo de proteína bruta (APB) (kg ha^{-1}), cultivar BRS Guariba dos experimentos conduzidos em Balsas e São Raimundo das Mangabeiras - MA⁽¹⁾.....51

ARTIGO 2

- Tabela 1 - Atributos químicos da camada de 0 a 20 cm do Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de Dom Pedro - MA.....74
- Tabela 2 - Atributos químicos da camada de 0 a 20 cm do Latossolo Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de São Luís - MA75

- Tabela 3 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de Dom Pedro – MA⁽¹⁾ 80
- Tabela 4 - Valores médios do número de vagens por planta (NVP) (Unidade), número de grãos por vagem (NGV) (Unidade), peso de cem (100) sementes (p.100sem.) (g), rendimento de grãos (RG) (kg ha⁻¹), teor de nitrogênio no grão (TNG %), acúmulo de nitrogênio no grão (ANG) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de Dom Pedro – MA⁽¹⁾ 81
- Tabela 5 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de São Luís – MA⁽¹⁾ 87
- Tabela 6 - Valores médios do número de vagens por planta (NVP) (Unidade), número de grãos por vagem (NGV) (Unidade), peso de cem (100) sementes (p.100sem.) (g), rendimento de grãos (RG) (kg ha⁻¹), teor de nitrogênio no grão (TNG %), acúmulo de nitrogênio no grão (ANG) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de São Luís – MA⁽¹⁾ 88

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Fatores edafoclimáticos e produção agrícola no Maranhão	14
2.2	O feijão-caupi	18
2.3	Importância da fixação biológica na cultura do feijão-caupi	21
2.4	Efeitos da acidez do solo na simbiose entre bactérias fixadoras de nitrogênio e feijão-caupi	24
2.5	Seleção de novas estirpes de bactérias mais eficientes em fixar nitrogênio	30
	REFERÊNCIAS	33
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	42
	ARTIGO 1 Simbiose eficiente de rizóbio com feijão-caupi como alternativa forrageira no Sul do Maranhão	42
1	INTRODUÇÃO	44
2	MATERIAL E MÉTODOS	46
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	61
	ARTIGO 2 Inoculação com rizóbio e calagem aumentam a produtividade de feijão-caupi em áreas do Maranhão	66
1	INTRODUÇÃO	68
2	MATERIAL E MÉTODOS	72
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1	Área experimental de Dom Pedro	79
3.2	Área experimental de São Luís	86
4	CONSIDERAÇÕES GERAIS	96
5	CONCLUSÕES	97
	REFERÊNCIAS	100

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Viabilizar a produção agropecuária nos trópicos úmidos exige um domínio dinâmico e complexo de conhecimentos e tecnologias que assegurem o equilíbrio entre o desenvolvimento e a conservação do meio ambiente.

O Estado do Maranhão possui diversidade de climas, solos e ecossistemas. Explorando essa diversidade, há sistemas produtivos díspares que, independentemente de suas finalidades, desperdiçam recursos naturais, sobretudo nutrientes. Assim, para tornar-se sustentável, a produção agropecuária necessita inserir, nos sistemas de produção, práticas integradas de manejo que garantam a produtividade das lavouras e a conservação dos ecossistemas.

O aprimoramento de processos e as técnicas mais eficientes no fornecimento de nutrientes em regiões tropicais têm contribuído para esta realidade de desenvolvimento e conservação e a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um dos mais notórios.

A produção agropecuária integra, entre outros, o cultivo de leguminosas, essenciais na alimentação humana e animal e a evolução condicionou a maioria das leguminosas a uma simbiose mutualística com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico. A FBN é o principal processo natural de suprimento de N nos sistemas biológicos. O conhecimento humano transformou esse processo eficiente de suprimento em uma poderosa ferramenta na produção de alimentos e na fertilização e proteção do solo, com grande impacto econômico, sobretudo por permitir substancial economia de fertilizantes químicos nitrogenados.

O feijão-caupi beneficia-se da FBN, é tolerante à seca e a altas temperaturas, adapta-se a solos pobres, é compatível em consórcios com outras culturas agrícolas, tem rápido crescimento e cobertura do solo e produz resíduos

ricos em nitrogênio, que melhoram a fertilidade do solo. Essas características o tornam uma cultura estratégica entre as principais leguminosas e o destacam como um componente alimentar valioso para a alimentação humana e animal.

No Brasil, é cultura tradicional no Norte e Nordeste e, recentemente, vem sendo introduzido nas grandes fronteiras agrícolas do Cerrado, como cultura de safrinha.

O caupi, juntamente com a fava, é um dos feijões produzido no Maranhão, estando presente tanto na agricultura de subsistência quanto no agronegócio. Apesar de sua importância para o Estado, apresenta baixa produtividade, condicionada pela baixa fertilidade natural dos solos e pelo baixo nível tecnológico da maioria dos produtores.

A FBN tem possibilitado aumentos no rendimento de grãos de feijão-caupi; no entanto, alcançar uma alta eficiência no suprimento de N_2 à cultura, elevando a sua produtividade com baixos custos de produção, na diversificada realidade do Maranhão, é o desafio da pesquisa.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência agronômica de novas estirpes de rizóbios inoculadas em feijão-caupi frente às estirpes referências em áreas produtivas do estado do Maranhão, potencializando a utilização da cultura como fonte de alimentação humana e animal e adubação verde para o aumento da fertilidade dos solos. Integra ainda como objetivo deste trabalho, a avaliação da influência da calagem sobre a eficiência simbiótica das estirpes testadas e na produtividade do feijão-caupi.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fatores edafoclimáticos e produção agrícola no Maranhão

O estado do Maranhão está localizado entre os paralelos 1° 01' e 10° 21' Sul e os meridianos 41° 48' e 48° 50' Oeste. É o oitavo maior estado brasileiro e o segundo do Nordeste em extensão territorial (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2002). Possui cinco mesorregiões geográficas, subdivididas em 21 microrregiões, onde estão inseridos seus 217 municípios. A subdivisão em mesorregiões é baseada nas características edafoclimáticas do Estado. Os biomas que caracterizam as mesorregiões são: Amazônia, Litoral, Cocais, Cerrado e Caatinga (IBGE, 2002).

O Maranhão apresenta variações climáticas, geológicas e edáficas que condicionam essa diversidade de ecossistemas. São quatro tipos climáticos predominantes no estado, segundo a classificação de Thornthwaite (MARANHÃO, 2002): úmido tipo B₂rA'a', úmido tipo B₁WA'a', sub-úmido do tipo C₂WA'a' e o sub-úmido seco do tipo C₁dA'a'. O B₂ é caracterizado por pequena ou nenhuma deficiência de água (R); o B₁ e o C₂, por moderada deficiência de água no inverno (W), entre os meses de junho a setembro; e o C₁ é caracterizado por pouco ou nenhum excesso de água (d). Todos são megatérmicos (A'), ou seja, temperatura média mensal sempre superior a 18 °C e a soma da evapotranspiração potencial nos três meses mais quentes do ano é inferior a 48% em relação à evapotranspiração potencial anual (a'). Com a grande extensão territorial e sua localização geográfica como área de transição, o Maranhão apresenta grandes contrastes pluviométricos anuais, com variações que vão de 2.784 a 700 milímetros de chuva (MARANHÃO, 2002).

A intensa radiação solar, elevadas temperaturas, estações chuvosas com precipitações intensas e elevada umidade do ar favorecem a produção de

biomassa constante, rápida ciclagem de nutrientes, e grande diversidade de pragas, doenças e plantas daninhas que afetam a produção vegetal, além de exporem o solo à intemperização, lixiviação de nutrientes e erosão, tornando-o vulnerável à degradação (RÉFFEGA, 1997).

O Maranhão apresenta grande variabilidade de solos. De acordo com Carvalho Filho (2011), as principais classes de solos que expressam maior importância, do ponto de vista socioeconômico são: Latossolo Amarelo (33,87%), Plintossolo Argilúvico (13,67%), Argissolo Vermelho-Amarelo (9,54%), Argissolo Vermelho-Amarelo petroplúntico (9,22%), Neossolos Quartzarênicos (8,84%), Neossolos Litólicos (6,98%) e Luvisolo Crômico (6,70%), representando 88,22% do estado.

O Maranhão é um estado de economia de base agrária, com tradição histórica na monocultura de cana-de-açúcar e algodão nos Vales do Pindaré, Itapecuru e Mearim até o século XIX. Atualmente possui uma agricultura moderna com base na produção de grãos, na exploração pecuária extensiva de corte e no extrativismo do babaçu (ALMEIDA, 2008; MESQUITA, 2011). Entre os Estados da federação, ocupa uma das últimas posições em relação aos indicadores econômicos e sociais, com aproximadamente 40% da população vivendo no meio rural, que tem na pobreza crônica e generalizada sua principal marca.

A extinção do tráfico negreiro, o flagelo da seca que forçou a emigração em massa de cearenses e piauienses e o remanescente das populações indígenas nativas formam a estrutura social da economia agrícola maranhense, constituída por camponeses que têm na exploração da terra sua forma de sobrevivência (ALMEIDA, 2008; MESQUITA, 2011).

As práticas agrícolas adotadas pelos camponeses são primitivas, com um modelo de produção de subsistência ainda dominante no Maranhão, caracterizado pelo processo de derruba e queima, em um sistema de agricultura

itinerante, que ocorre de forma rudimentar, conhecido como "roça no toco", em que as mais importantes ferramentas de produção são a foice, a enxada e o palito de fósforo. O sistema consiste da derrubada da vegetação, queima dos resíduos para a limpeza da área e fertilização pelas cinzas, com o plantio em consórcio entre as culturas em roça não destocada. Esses agricultores são a base da mão de obra da agricultura familiar e as principais culturas são arroz, milho, mandioca e feijão-caupi, geralmente acompanhadas de baixos índices de produtividade. O cultivo anual com essas técnicas primitivas, associadas a solos de baixa fertilidade natural e alta precipitação, levam a uma rápida degradação do solo (ALMEIDA, 2008; HOLSCHER, 1997; MESQUITA, 2011; MOURA, 2006).

Integram ainda essa estrutura social da economia agrícola maranhense os emigrantes sulistas, que exploram, de forma empresarial, a produção de grãos para a exportação (MESQUITA, 2011), atraídos pelas vastas extensões de terras e as boas condições edafoclimáticas do cerrado maranhense, que é de relevo plano, de baixo custo imobiliário e potencial de escoamento da produção.

O cerrado maranhense favoreceu o desenvolvimento das fronteiras agrícolas do Sul e do Leste do Estado com sistemas de produção com alta tecnologia e potencial produtivo capazes de superar os gargalos tecnológicos do cerrado, sobretudo a baixa fertilidade natural dos solos. Nas microrregiões de Gerais de Balsas e Chapadinha, concentram-se grandes empresas agropecuárias especializadas, indústrias de transformação e logística e companhias exportadoras. As principais *commodities* são a soja e o milho; no entanto, há expressiva produção de cana-de-açúcar para a produção de álcool anidro, algodão, arroz, sorgo e, mais recentemente, o feijão-caupi e a pecuária intensiva em sistema de integração.

O Maranhão é hoje o décimo produtor de cereais, leguminosas e oleaginosas em nível nacional e o segundo no Nordeste, ficando atrás somente da Bahia. Estima-se que a área plantada na safra de 2013 com cereais,

leguminosas e oleaginosas tenha sido de 1.496.516 hectares, com produção de 3.375.584 toneladas. É o terceiro maior produtor de arroz do Brasil com mais de 400.000 hectares e produção de 685.400 toneladas, com rendimento médio de 1.598 kg ha⁻¹, e o quarto do Nordeste em produção de feijão-caupi, com 90.000 hectares e produção de 41.500 toneladas, alcançando um rendimento médio de 461 kg ha⁻¹ (IBGE, 2013).

Contudo, apesar da taxa de crescimento de 3,2% ao ano, o setor agropecuário do Maranhão não manteve a representatividade que já teve no passado em nível regional e nacional, perdendo posição como celeiro de produção de grãos, sobretudo alimentos básicos como arroz e mandioca (MESQUITA, 2011).

Esse declínio está ligado principalmente a fatores estruturais da agricultura maranhense, como a alta concentração fundiária, que marginaliza a grande maioria dos agricultores do estado; o desmonte de instituições estatais responsáveis pela pesquisa, extensão e assistência técnica à agricultura, em função da ingerência governamental; e da influência das ideias neoliberais que limitou a intervenção do Estado na agricultura, precarizando, sobretudo, a agricultura familiar de baixo nível tecnológico, além da desorganização política e econômica dos agricultores (MESQUITA, 2011).

Diferente do agronegócio, com tecnologias e insumos modernos, a agricultura itinerante de “corte e queima”, pressionada pela concentração fundiária, é um sistema incapaz de restaurar a fertilidade do solo e garantir a produção de alimentos com o crescimento da população. Por outro lado, manter o agronegócio dentro do sistema atual de produção, altamente dependente de energia, é insustentável. A inclusão de leguminosas como o feijão-caupi, dentro dos sistemas de produção, é capaz de fixar grandes quantidades N₂ em simbiose com bactérias diazotróficas em um padrão de cultivo que insere a rotação de culturas. A proteção do solo é capaz de garantir a contínua restauração da

fertilidade do solo com o acúmulo de nitrogênio e matéria orgânica, além de diminuir a dependência energética e financeira e, sobretudo, garantir a segurança alimentar humana e animal (MESQUITA, 2011; MOURA, 2006).

2.2 O feijão-caupi

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] é uma dicotiledônea da família *Fabaceae* (leguminosa), subfamília *Faboideae* (papilionoídea), tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, seção *Catianga* (MARÉCHAL; MASCHERPA; STAINIER, 1978; PADULOSI; NG, 1997; VERDCOURT, 1970). São plantas geralmente anuais, eretas ou trepadoras, das mais amplamente adaptadas, versáteis e nutritivas leguminosas para grão, forragens e hortaliças em muitas regiões tropicais e subtropicais (EHLERS; HALL, 1997; XU et al., 2010).

Esta cultura desempenha papel importante como componente da dieta humana e alimentação animal em países da África, América e Ásia, como fonte de proteínas para complementar os cereais, raízes e tubérculos ricos em amido (PHILLIPS et al., 2003). Suas folhas verdes possuem de 27,1 a 34,7% de proteínas e os seus grãos de 22 a 25% (BELANE; DAKORA, 2010). Os grãos são ricos em proteínas (lisina), com alto valor nutricional e sua composição é rica em compostos fenólicos capazes de ativar várias enzimas (SREERAMA; SASHIKALA; PRATAPE, 2012). A sua capacidade de obtenção significativa de nitrogênio através da fixação biológica de nitrogênio, que pode chegar a 201 kg ha⁻¹, o torna extremamente valioso para ser utilizado em rotação com outras culturas e na proteção e melhoramento da fertilidade do solo (DAKORA et al., 1987; SREERAMA; SASHIKALA; PRATAPE, 2012; TIMKO; EHLERS; ROBERTS, 2007).

Assim como outras leguminosas herbáceas, o feijão-caupi é uma forma mais evoluída, em resposta à alteração do ambiente no curso de sua emigração para regiões subtropicais, temperadas e áridas. No curso do processo evolutivo, houve mudança de hábito de crescimento a partir de árvores lenhosas de grande porte para arbustos e ervas anuais herbáceas (NG, 1995; NORRIS, 1967).

Estima-se que a domesticação do feijão-caupi tenha ocorrido há mais de 1.500 anos a.C., em área de savana que abrange Nigéria, Níger, Burkina Faso, Benim, Togo e Camarões (NG, 1995). Pode ter servido inicialmente como forragem para alimentação animal, principalmente o gado, que já havia se estabelecido na África há mais de 3.000 anos a.C. (PADULOSI; NG, 1997). Através da seleção, foi domesticado e amplamente disseminado, constituindo-se parte da dieta humana. A cultura foi introduzida na Europa por volta de 300 a.C., na Índia e no Sudeste Asiático há 200 a.C. No Brasil, o relato da chegada do feijão-caupi remete à segunda metade do século XVI, pelos colonizadores portugueses, no estado da Bahia, a partir do qual o feijão-caupi foi disseminado por todo o país (FREIRE FILHO; RIBEIRO; ROCHA, 2011; PADULOSI; NG, 1997).

As maiores áreas produtoras estão na África, América do Sul e Ásia, mas com várias áreas menores na Europa, Estados Unidos e Oceania (QUIN, 1997). A espécie é cultivada em cerca de 14,5 milhões de hectares anualmente em todo o mundo, com produção estimada (em 2011) de 5,5 milhões de toneladas e rendimento médio de 450 kg ha⁻¹ (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2014). No entanto, há evidências de que os dados da FAO subestimam a área e a produção de feijão-caupi no mundo, pois importantes centros de produção como o Brasil e Índia não fornecem dados que separam a produção de feijão-caupi e do feijão comum (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2013; QUIN, 1997).

O baixo rendimento médio, no entanto, evidencia o nível de tecnologia usado para a produção de feijão-caupi, pois quando tomadas isoladamente, as estimativas de produção em países desenvolvidos revelam médias de 900 a 2.130 kg ha⁻¹, enquanto, em países subdesenvolvidos, a média não chega a 240 kg ha⁻¹ (FAO, 2014).

Essa variação, em perspectiva otimista, demonstra a adaptação do feijão-caupi a diversos sistemas de produção, climas e solos, tornando-o uma cultura mundial. De acordo com alguns autores, em função de sua origem tropical, diferentes genótipos de feijão-caupi desenvolveram resistência à seca, tolerância à acidez do solo, à toxidez de alumínio e manganês e ao baixo teor de nutrientes, favorecendo o seu cultivo em regiões onde outras culturas não resistiriam às condições ambientais (EDWARDS; KANG; DANSO, 1981; JEMO et al., 2007; NORRIS, 1967). Com isso, a cultura é capaz de manter algum crescimento ou pelo menos sobreviver nessas condições adversas. No entanto, a baixa produtividade mundial revela também a predominância do seu cultivo em ambientes marginais, com solos pobres e chuvas escassas, associado a sistemas com poucos recursos e tecnologias (EHLERS; HALL, 1997; QUIN, 1997).

Os maiores produtores mundiais de feijão-caupi são Nigéria, Níger, Brasil, Burkina Faso, Mianmar, Camarões e Mali (FAO, 2014). Estima-se que, só na África, mais de 194 milhões de pessoas têm o feijão-caupi como parte da sua dieta básica. No Brasil, são mais de 30 milhões de consumidores com um consumo *per capita* de mais de 20 kg/habitante (CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH - CGIAR, 2014; FREIRE FILHO; RIBEIRO; ROCHA, 2011).

Historicamente, a produção de feijão-caupi no Brasil concentra-se nas regiões Nordeste e Norte, mas recentemente a cultura vem se expandindo para outras regiões do país, principalmente para o Centro-Oeste, em razão de sua ampla adaptabilidade a diferentes condições ambientais, ao baixo custo de

produção, ao desenvolvimento de cultivares adaptadas a sistemas de produção mecanizados, alta qualidade de grãos, valor nutritivo e regularidade de oferta do produto, sobretudo pela incorporação do feijão-caupi aos arranjos produtivos de grãos no agronegócio brasileiro (FREIRE FILHO; RIBEIRO; ROCHA, 2011).

No Maranhão, o feijão-caupi representa toda a área plantada com feijão, sendo cultivado em todo o estado em diferentes sistemas de produção. O Maranhão é o quarto maior produtor de feijão-caupi do Nordeste, mas com baixos índices de produtividade, estimados em 461 kg ha⁻¹ (IBGE, 2013). É tradicional no sistema de agricultura familiar, porém nos últimos anos tem sido introduzido nos sistemas produtivos do cerrado maranhense, aonde a região sul vem se tornando uma das grandes produtoras de feijão-caupi (FREIRE FILHO; RIBEIRO; ROCHA, 2011).

O feijão-caupi constitui a base da alimentação do maranhense, contribuindo na segurança alimentar do estado e na geração de renda e emprego (INSTITUTO MARANHENSE DE ESTUDOS SOCIECONÔMICOS E CARTOGRÁFICOS - IMESC, 2011).

2.3 Importância da fixação biológica na cultura do feijão-caupi

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) em feijão-caupi é de grande importância, sobretudo por permitir um uso mais eficiente do nitrogênio, reduzir os custos de produção e minimizar os impactos ambientais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (N₂) têm acesso irrestrito a este recurso renovável e, através da FBN, garantem a disponibilidade de N aos ecossistemas terrestres, em especial aos sistemas agrícolas, que têm grandes limitações deste nutriente à produção vegetal (CLEVELAND et al., 1999; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; VITOUSEK et al., 2013).

Os diazotróficos absorvem o N_2 do ar e através de reação metabólica o converte em amônia (NH_3), mediada pela enzima nitrogenase. O mais importante processo de fixação biológica de nitrogênio ocorre na simbiose de rizóbio e leguminosa (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Numerosos estudos têm sido realizados em um esforço para aumentar a produção de feijão-caupi e entre as principais estratégias utilizadas está a simbiose com bactérias fixadoras de N_2 e o aumento de sua eficiência simbiótica (ADJEI-NSIAH et al., 2008; ALCANTARA et al., 2014; CHAGAS et al., 2010; FIGUEIREDO et al., 2007; FOUGERON; MILLER, 1981; GUALTER et al., 2011; LINARES et al., 2006; MARTINS et al., 2003; MUCHERU-MUNA et al., 2010; NAAB; CHIMPHANGO; DAKORA, 2009; RODRIGUES et al., 2013; RUFINI et al., 2014; SILVA et al., 2012; SINGH; RAO, 1997; SOARES et al., 2006, 2014; WALKER; MILLER, 1982; ZILLI et al., 2006).

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um processo que disponibiliza grande quantidade de nitrogênio para os agroecossistemas, principalmente através da associação das leguminosas e bactérias diazotróficas simbiotes, coletivamente denominadas rizóbios (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os benefícios da inoculação de leguminosas com bactérias eficientes em fixar N_2 são amplamente reconhecidos e fornecem uma fonte de nitrogênio sustentável em substituição aos fertilizantes inorgânicos. É uma prática já estabelecida e utilizada no Brasil, principalmente, na cultura da soja e que vem se fortalecendo na cultura do feijão-caupi (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

A cultura, além de ser rústica e promíscua, pois nodula com vários gêneros de rizóbio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), nodula de forma eficiente com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* notadamente com as estirpes INPA 3-11B, UFLA 3-84 e BR 3267. A quantidade de nitrogênio atmosférico fixada pode variar entre 9 e 240 kg ha⁻¹ano⁻¹ (DAKORA et al., 1987; TIMKO;

EHLERS; ROBERTS, 2007), suprimindo parcial ou totalmente as necessidades em nitrogênio do feijão-caupi.

Na busca de novos inoculantes eficientes na fixação de nitrogênio com leguminosas, estudos de laboratório e casa de vegetação devem ter continuidade em campo, uma vez que as estirpes selecionadas devem ser boas competidoras por sítios de infecção em campo e apresentar adaptação aos locais onde serão utilizadas, competindo com rizóbios nativos e sobrevivendo às condições edafoclimáticas locais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Vários são os resultados mostrando ganhos em produtividade de grãos que o caupi pode alcançar após inoculação das sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio (ALMEIDA et al., 2010; FERREIRA et al., 2013; GUALTER et al., 2011; LACERDA et al., 2004; MARTINS et al., 2003; RUFINI et al., 2014; SANTOS; AGUIAR; MOURA, 2011; SOARES et al., 2006; ZILLI et al., 2006). Lacerda et al. (2004), em ensaio conduzido no município de Perdões, MG, utilizando a cultivar de feijão-caupi BR 14 Mulato, verificaram rendimento de grãos de 1.341 e 1.413 kg ha⁻¹ para o tratamento inoculado com a cepa INPA 03-11B e testemunha com N mineral (70 kg ha⁻¹ de N fonte ureia), respectivamente. Soares et al. (2006) verificaram aumento no rendimento de grãos do feijão-caupi em Perdões, MG, inoculado com as cepas INPA 03-11B e UFLA 03-84, as quais proporcionaram produtividades de 949 e 957 kg ha⁻¹, respectivamente, superiores à da cepa de referência, BR 2001, com produtividade de 473 kg ha⁻¹. Segundo Sousa e Moreira (2011), a inoculação do feijão-caupi com INPA 03-11B possibilitou maior rendimento de grãos, em ensaio de campo, promovendo um incremento de mais de 35%, comparado à produtividade sem N-mineral e sem inoculante, apresentando-se como alternativa de baixo custo que pode beneficiar os agricultores do município de Confresa, MT, caso seja adotada.

2.4 Efeitos da acidez do solo na simbiose entre bactérias fixadoras de nitrogênio e feijão-caupi

Várias condições ambientais são fatores limitantes para a produção de leguminosas que formam simbiose mutualística com bactérias fixadoras de N₂. O estado fisiológico da planta hospedeira determina o processo de fixação biológica de N₂, portanto, se fatores limitantes como pH do solo, toxicidade de alumínio e manganês e deficiência de nutrientes podem impor limitações sobre o vigor da leguminosa hospedeira, então as bactérias fixadoras de N₂ não conseguirão manifestar sua eficiência (ZAHARAN, 1999).

O feijão-caupi tem sido cada vez mais introduzido nos grandes sistemas produtivos do cerrado maranhense e, como cultura tradicional no sistema produtivo da agricultura familiar, está presente em todo o território estadual. No entanto, entre os solos do Maranhão, predominam os de baixa fertilidade natural e elevada acidez, principalmente os do cerrado que possuem níveis elevados de alumínio e manganês (FREIRE FILHO; RIBEIRO; ROCHA, 2011; JACOMINE et al., 1986).

As principais limitações geradas pela acidez do solo ao desenvolvimento das plantas são o aumento da concentração e toxidez de H⁺, Al³⁺ e Mn²⁺, deficiência de Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺, precipitação e deficiência de P e Mo e inibição do crescimento da raiz (MARSCHNER, 1991). Entretanto, as plantas desenvolveram diversos mecanismos morfológicos e fisiológicos para adaptarem-se a essas condições, tornando os efeitos adversos dependentes da espécie e do genótipo da planta (BIAN et al., 2013; HORST, 1983, 1985, 1987; KOCHIAN; HOEKENGA; PIÑEROS, 2004; MARON et al., 2013; MARSCHNER, 1991). Além disso, esses mecanismos estão associados ao material de origem e às classes de solos, seus horizontes, estrutura, aeração e

pH, à concentração, ao tipo de íon de Al e às condições climáticas (MARSCHNER, 1991).

Para uma espécie vegetal ou até mesmo um determinado genótipo, a localização e a distribuição das raízes no perfil do solo podem ser fatores determinantes na tolerância ou sensibilidade à acidez e à toxicidade por H^+ e Al^{3+} . A camada superficial do solo, com maior teor de matéria orgânica, é mais concentrada em H^+ , expondo o sistema radicular a uma maior toxicidade, mas ao atingir o subsolo, pode ser afetado pela maior concentração de Al^{3+} . Mesmo em solos de acidez fraca, o cultivo contínuo gera acidez, reduzindo a absorção de P e elevando o nível de Mn, restringindo o crescimento vegetal (MARSCHNER, 1991).

Em função de sua origem tropical, diferentes genótipos de feijão-caupi condicionalmente foram forçados a adaptaram-se às condições adversas locais (EDWARDS; KANG; DANSO, 1981; JEMO et al., 2007; MARSCHNER, 1991; NORRIS, 1967; PADULOSI; NG, 1997). Alteração no pH da rizosfera, exsudação de ácidos orgânicos, produção intracelular de quelatos de alumínio e óxidos de manganês, efeito de diluição com maior produção de biomassa, capacidade interna de armazenamento nos tonoplastos, desenvolvimento de pêlos radiculares longos, enraizamento profundo, maior fosfatase na superfície radicular, associação das raízes com microrganismos do solo, todos são mecanismos descritos como importantes adaptações do feijão-caupi a solos ácidos (HORST, 1983, 1985, 1987; HORST; WAGNER; MARSCHNER, 1982; JEMO et al., 2007; MARSCHNER, 1991; QUIN, 1997). O feijão-caupi, assim como todos os vegetais, ainda é portador dos canais transportadores específicos de K^+ e das bombas extrusoras de prótons para o transporte de íons acoplados, que gera força motriz para absorção de cátions (MARSCHNER, 1991).

As associações simbióticas mutualísticas entre a planta e os microrganismos do solo integram o conjunto dos mecanismos estratégicos de

adaptação da planta a solos ácidos. A simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (N_2) é uma das associações mais difundida. A mais importante economicamente é a simbiose entre rizóbio e leguminosas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

No entanto, a simbiose com leguminosas evoluiu em condições substancialmente diferentes à medida que as leguminosas foram emigrando das regiões tropicais úmidas para regiões áridas e temperadas (BRÍGIDO; OLIVEIRA, 2013; HOWIESON; O'HARA; CARR, 2000; NORRIS, 1965, 1967). Com o controle genético sobre a simbiose, toda a evolução decorrida sobre a planta determinou uma seleção também sobre o microssimbionte (GRAHAM; VANCE, 2000, 2003; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; NORRIS, 1965, 1967). Assim, a tolerância ou a sensibilidade aos efeitos da acidez do solo depende da espécie e do genótipo da bactéria fixadora de nitrogênio (BRÍGIDO; OLIVEIRA, 2013; FERREIRA et al., 2012; NORRIS, 1967; SOARES et al., 2014).

Para Norris (1965, 1967), o tipo de crescimento (lento ou rápido) e a mudança do pH do meio (alcalinização ou acidificação), característicos de uma bactéria fixadora de N_2 , estão relacionados à adaptação da leguminosa hospedeira ao meio, pois no processo evolutivo da simbiose, dependendo do tipo de ambiente explorado pelo hospedeiro, a pressão de seleção sobre o microssimbionte era adicionada ou retirada. Dessa forma, o crescimento lento e a acidificação do meio por um organismo associado com leguminosas tropicais, como o feijão-caupi, representariam uma forma primitiva da leguminosa que persistiu inalterada no ambiente. Assim, se ocorresse a produção de ácido durante o crescimento da bactéria na rizosfera em solos ácidos, iria reagir desfavoravelmente contra a sua sobrevivência. Por outro lado, se a leguminosa hospedeira adaptou-se a solos de acidez fraca ou até mesmo alcalinos, de alta capacidade de troca de cátions, esta pressão de seleção iria ser removida,

favorecendo a produção de ácidos pela bactéria durante o seu metabolismo, porque este ácido seria disperso e neutralizado no ambiente rizosférico e no solo circundante. Segundo o autor, isso indica uma vantagem biológica à bactéria, pois na rizosfera há forte concorrência entre as diversas populações de microrganismos pelas fontes de carbono excretadas pela raiz. Dessa forma, a fermentação de carboidratos para a produção de ácidos, associada à velocidade de crescimento e ao tempo de geração rápido, pode indicar capacidade das bactérias fixadoras de N_2 de resistir a condições anaeróbias produzidas pela concorrência microbiológica intensa de oxigênio na rizosfera, convertendo um metabolismo aeróbio em anaeróbico, o que conferiria a essas bactérias produtoras de ácido uma poderosa vantagem competitiva.

Diante desse contexto, observa-se ampla gama de trabalhos que relatam a tolerância e a sensibilidade da simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com leguminosas à acidez, à toxicidade de alumínio e manganês e à baixa fertilidade do solo.

Norris e Jensen (1958) demonstraram que rizóbio de trevo e feijão-caupi não tinham nenhuma necessidade de cálcio para o seu crescimento. Gupta (1967) mostrou diferentes, mas significativas, respostas ao cálcio por estirpes de *Rhizobium* spp. de crescimento rápido.

Norris (1967) concluiu que a necessidade de cálcio pelo rizóbio de leguminosas tropicais (feijão-caupi) deve ser tão pequena que as impurezas no meio de crescimento são capazes de satisfazê-lo; no entanto, a bactéria é muito sensível ao magnésio, cuja necessidade é cerca de sete vezes maior do que seu requisito de cálcio. Lie (1969) demonstrou que o baixo pH da solução nutritiva inibiu a formação de nódulos na simbiose de rizóbio e plantas de ervilha.

Keyser (1973) encontrou variações de tolerância entre estirpes de rizóbio de feijão-caupi ao baixo pH, baixo teor de fósforo e cálcio e elevado teor de alumínio e manganês, sendo o alumínio o mais severo fator a limitar o

crescimento de rizóbio e o manganês o foi no crescimento do feijão-caupi. Keyser e Munss (1979) concluíram que a acidez do solo e a toxidez de alumínio são mais limitantes à simbiose de rizóbio e feijão-caupi do que a deficiência de cálcio. Os autores observaram que altas concentrações de Mn e baixas concentrações de Ca^{2+} não afetaram o crescimento de rizóbio, mas o Mn restringiu o crescimento do feijão-caupi. Os autores relataram que todas as estirpes tolerantes a Al^{3+} foram tolerantes às altas concentrações de Mn e às baixas concentrações de Ca^{2+} e que o cálcio tem um efeito protetor sobre a toxidez do alumínio, no entanto, sem significado biológico prático.

Manzi e Cartwright (1984) mostraram que a interação de pH (4 ou 6), alumínio (0 ou 16 ppm em pH 4) e fonte de N (simbiótica ou combinado) sobre o crescimento e estado nutricional de caupi (*Vigna unguiculata*) afetou significativamente o crescimento das plantas dependente da fixação simbiótica de N_2 , principalmente em pH 4 e 6 ppm de Al^{3+} , com redução do comprimento total e do peso fresco de raízes. Segundo os autores, o desenvolvimento simbiótico das plantas foi afetado pelo baixo pH, porém mais acentuadamente pelo alumínio. Para Caetano-Anollés, Lagares e Favelukes (1989), a alta concentração de H^+ e as baixas concentrações de Ca^{2+} deprimem a adsorção do rizóbio na superfície da raiz; já para Richardson et al. (1988), essas condições afetam a capacidade de exsudato de raiz para induzir a expressão de genes de nodulação.

Costa e Stamford (1991) concluíram que a atividade enzimática e a concentração do nitrogênio nas folhas de feijão-caupi, nas formas nítrica e amoniacal, não sofreram influência da calagem; no entanto, essa proporcionou maior absorção de nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio. Segundo Marschner (1991), a nodulação pode ser prejudicada diretamente pela acidificação do solo ou indiretamente pela alteração na morfologia da raiz. Lesueur et al. (1993) avaliando o papel da acidez e do alumínio na simbiose de Acácia com

Bradyrhizobium, encontraram quinze estirpes tolerantes a solos ácidos com capacidade de crescer melhor em um meio com pH 4,5 do que em meio a pH 6,8, com algumas estirpes tolerantes a concentrações de alumínio. Os autores concluíram que quantidades elevadas de alumínio no solo, em vez de acidez (pH 4,5), foram o principal fator de solo para a seleção de estirpes de *Bradyrhizobium* capazes de estabelecer uma população permanentemente alta em condições naturais. Taurian, Castro e Fabra (1998) observaram que o crescimento de *Bradyrhizobium* sp. inoculado em amendoim cresceu em pH 5,0 e sugerem que a tolerância se deve a modificações na membrana externa da célula.

Watkin et al. (2000) encontraram tolerância de seis estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* a solos ácidos com potencial para melhorar a produção de leguminosas em solos ácidos. Correa, Aranda e Barneix (2001) observaram que estirpes de *SinoRhizobium meliloti* mostraram uma resposta sensível ao pH, sendo inibido o seu crescimento em pH 4,0, enquanto estirpes de *MesoRhizobium loti* apresentaram um crescimento normal ao mesmo pH. Graham et al. (2003) relatam que os efeitos da concentração de H^+ reduz as populações de rizóbios no solo e pode levá-las até a morte, reduzindo a formação de nódulos. Os autores descrevem que a toxidez de manganês e alumínio também pode impactar o microssimbionte, mas com maiores efeitos sobre a leguminosa hospedeira. Barberi et al. (2004), avaliando a estirpe Br 29 de *Bradyrhizobium elkanii* em meios de cultura sob diferentes condições de pH, observaram que as curvas de crescimento obtidas variaram de acordo com o pH inicial e com a composição do meio de cultura e que o crescimento no menor pH (5,5) estava associado à maior produção de exopolissacarídeos. Moron et al. (2005) observaram que a acidez aumenta a produção de fatores Nod de *Rhizobium tropici* (CIAT 899) e relatam que 52 moléculas diferentes foram produzidas em pH ácido, 29 em pH neutro, e apenas 15 são comuns a bactérias

cultivadas em pH 7,0 ou 4,5. Os autores concluem que a estirpe adaptou-se com sucesso em solos ácidos e é um bom inoculante para o feijão sob estas condições. Martins et al. (2011) relataram sete rizóbios tolerantes à acidez do solo e eficientes na fixação de nitrogênio em plantas de cornichão em solos do Rio Grande do Sul. Ferreira et al. (2012), avaliando a eficiência simbiótica de estirpes *Rhizobium* de solos sob diferentes usos da terra na região amazônica, observaram que as estirpes produziam exopolissacarídeos em condições de pH menos favoráveis (pH 6,0 e 6,9) aos seus crescimentos e que esse mecanismo conferiu a elas maior tolerância ao alumínio. Soares et al. (2014) mostraram a tolerância “*in vitro*” de estirpes *Bradyrhizobium* e *Burkholderia* isoladas de áreas de mineração de bauxita à pH de 5,0 e a concentrações com até 2 $\text{cmol}_c \text{Al}^{+3} \text{dm}^{-3}$.

2.5 Seleção de novas estirpes de bactérias mais eficientes em fixar nitrogênio

Em geral, as populações nativas de rizóbios do solo são ineficientes em fixar nitrogênio o suficiente para garantir às plantas o seu suprimento adequado de nitrogênio, portanto, a aprovação e recomendação de estirpes eficientes para uso como inoculante microbiano de interesse agrícola dependem de um rigoroso programa de seleção que envolve diferentes fases que vão desde experimentos em condições controladas de laboratório até ensaios de campo em diferentes ambientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A busca por novos organismos eficientes, capazes de disponibilizar para as plantas os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento é um importante passo que antecede a sua introdução como inoculante para uma determinada cultura. Além de que, as novas estirpes podem ser aprovadas como provisórias ou definitivas, dependendo do impacto dos resultados dos testes (RUMJANEK

et al., 2007). Por isso é necessária a seleção de estirpes que combinem habilidades na fixação biológica de nitrogênio, adaptação a condições edáficas e climáticas e alta competição por sítios de infecção.

Entretanto, mesmo com o rigor das pesquisas, uma estirpe eficiente recomendada como inoculante pode ser substituída, com o passar do tempo, por outras comprovadamente mais eficientes, como o que ocorreu com a BR 2001 recomendada para feijão-caupi até 2004 e que foi substituída por três novas estirpes mais eficientes (RUMJANEK et al., 2007).

Segundo Moreira e Siqueira (2006), as características desejáveis em uma estirpe usada em inoculantes comerciais devem incluir: habilidade de formar nódulos e fixar N_2 na espécie-alvo, fixar nitrogênio em ampla faixa de genótipos de hospedeiros, crescer bem em meio artificial, no veículo do inoculante e no solo, apresentar estabilidade genética, baixa mortalidade na semente, compatibilidade com defensivos agrícolas, competitividade com estirpes nativas por sítios de infecção da raiz da planta hospedeira, colonização da rizosfera, habilidade de migrar de um sítio inicial de inoculação, fixar N_2 em diversos ambientes, tolerar estresses ambientais, persistir no solo e colonizar o solo na ausência do hospedeiro.

A seleção de novas estirpes na cultura do feijão-caupi vem cada vez mais ganhando importância, sobretudo com a grande expansão da área cultivada com a cultura no Brasil, pois a grande maioria dos inoculantes produzidos no país ainda é para a cultura da soja (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002, 2006).

Por esta razão, pesquisas estão sendo desenvolvidas com o objetivo de selecionar novas estirpes mais eficientes na cultura do feijão-caupi, visando aumento de produtividade, diminuição de custos de produção e maior preservação do ambiente (ALMEIDA et al., 2010; FERREIRA et al., 2013; GUALTER et al., 2011; LACERDA et al., 2004; MARTINS et al., 2003;

RUFINI et al., 2014; SANTOS; AGUIAR; MOURA, 2011; SOARES et al., 2006; ZILLI et al., 2006).

REFERÊNCIAS

- ADJEI-NSIAH, S. et al. Farmers' agronomic and social evaluation of productivity, yield and N₂-fixation in different cowpea varieties and their subsequent residual N effects on a succeeding maize crop. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 80, n. 3, p. 199-209, 2008.
- ALCANTARA, R. M. C. M. et al. Symbiotic efficiency in Parentes of Brazilian cultivars of the cowpea. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 1, p. 1-9, 2014.
- ALMEIDA, A. L. G. et al. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 3, p. 364-369, 2010.
- ALMEIDA, A. W. B. **Ideologia da decadência**: leitura antropológica a uma história da agricultura do Maranhão. Rio de Janeiro: Casa 8; Manaus: Fundação Universidade do Amazonas, 2008. v. 1, 205 p.
- BARBERI, A. et al. Growth of *Bradyrhizobium elkanii* Strain BR 29 in culture media with different pH values. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 397-405, mar./abr. 2004.
- BELANE, A. K.; DAKORA, F. D. Symbiotic N₂ fixation in 30 field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in the Upper West Region of Ghana measured using ¹⁵N natural abundance. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 46, n. 2, p. 191-198, Feb. 2010.
- BIAN, M. et al. Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 91-104, 2013.
- BRÍGIDO, C.; OLIVEIRA, S. Most acid-tolerant chickpea mesorhizobia show induction of major chaperone genes upon acid shock. **Microbial Ecology**, Ontario, v. 65, n. 1, p. 145-153, Jan. 2013.
- CAETANO-ANOLLIÉS, G.; LAGARES, A.; FAVELUKES, G. Adsorption of *Rhizobium meliloti* to alfalfa roots: dependence on divalent cations and pH. **Plant and Soil**, The Hague, v. 117, p. 67-74, 1989.

CARVALHO FILHO, R. Solos do Estado do Maranhão. In: SEMINÁRIO SOBRE ASPECTOS GEOAMBIENTAIS E SOCIOECONÔMICOS DO MARANHÃO, 1., 2011, São Luís. **Anais...** São Luís: SAGRIMA, 2011. 1 CD-ROM.

CHAGAS, A. F. et al. Agronomic efficiency of *RRhizobium* strains inoculated in cowpea in the Cerrado, Gurupi, TO. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

CLEVELAND, C. C. et al. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N_2) fixation in natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**, New York, v. 13, n. 2, p. 623-645, 1999.

CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH. **The CGIAR at 40 and beyond: impacts that matter for the poor and the planet**. Washington, 2014. Disponível em: <<http://www.cgiar.org>>. Acesso em: 31 jan. 2014.

CORREA, O. S.; ARANDA, A.; BARNEIX, A. J. Effects of pH on growth and nodulation of two forage legumes. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 24, n. 9, p. 1367-1375, 2001.

COSTA, J. P. V.; STAMFORD, N. P. Efeito de fontes, doses e granulometrias de calcários na fixação do N_2 e no estado nutricional de caupi. **Ciência Agrícola**, Maceió, v. 1, n. 1, p. 37-48, 1991.

DAKORA, F. D. et al. Assessment of N_2 fixation in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and their relative N contribution to a succeeding maize crop in Northern Ghana. **Mircen Journal**, Berlin, v. 3, p. 389-399, 1987.

EDWARDS, D. G.; KANG, B. T.; DANSO, K. S. Differential response of six cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cultivars to liming in an Ultisol. **Plant and Soil**, The Hague, v. 59, p. 61-73, 1981.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1/3, p. 187-204, July 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Produção, avanços e desafios para cultura do feijão-caupi no Brasil**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

FERREIRA, L. V. M. et al. Biological nitrogen fixation in production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, family farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 5, n. 4, p. 153-160, Mar. 2013.

FERREIRA, P. A. A. et al. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 1947-1959, 2012.

FIGUEIREDO, M. V. B. et al. Drought stress response on some key enzyme of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) nodule metabolism. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 187-193, Feb. 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Base de dados Faostat**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 30 jan. 2014.

FOUGERON, C.; MILLER, J. C. Intravarietal variability for biological nitrogen-fixation in cowpea (*Vigna, unguiculata* (L.) Walp). **Hortscience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 286-286, 1981.

FREIRE FILHO, F. R. et al. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2011. 84 p.

GRAHAM, P. H. Ecology of the root-nodule bacteria of legumes. In: DILWORTH, M. J. et al. (Org.). **Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses**. Virginia: Springer, 2008. p. 23-58.

GRAHAM, P. H. et al. Addressing edaphic constraints to bean production: the Bean/Cowpea CRSP project in perspective. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 82, n. 2/3, p. 179-192, 2003.

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 131, n. 3, p. 872-877, 2003.

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p. 93-106, Mar. 2000.

GUALTER, R. M. R. et al. Agronomic efficiency of rhizobia strains in cowpea cultivated in the Pre-Amazon region, in Maranhao state. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 303-308, mar. 2011.

GUPTA, K. G. Utilization of calcium and magnesium and production of acids by *Rhizobium spp.* from some cultivated legumes. **Folia Microbiologica**, Praha, v. 12, n. 5, p. 413-416, 1967.

HOLSCHER, D. Shifting cultivation in easter Amazonia: a case study on the water and nutriente balance. **Plant Research and Development**, Tubingen, v. 46, p. 68-87, 1997.

HORST, W. J. Aluminium tolerance and calcium efficiency of cowpea genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 10, p. 9-16, 1987.

HORST, W. J. Factors responsible for genotypic manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant and Soil**, The Hague, v. 72, p. 213-218, 1983.

HORST, W. J. Quick screening of cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes for aluminium tolerance in an aluminium-treated acid soil. **Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkund**, Berlin, v. 148, n. 3, p. 335-348, 1985.

HORST, W. J.; WAGNER, A.; MARSCHNER, H. Mucilage protects root meristems from aluminium injury. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Berlin, v. 105, p. 435-444, 1982.

HOWIESON, J. G.; O'HARA, G. W.; CARR, S. J. Changing roles for legumes in Mediterranean agriculture: developments from an Australian perspective. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p. 107-122, Mar. 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, 2013. 83 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Malha municipal do Estado do Maranhão**. Rio de Janeiro, 2002. 4 p.

INSTITUTO MARANHENSE DE ESTUDOS SOCIECONÔMICOS E CARTOGRÁFICOS. **Produto interno bruto dos municípios do Estado do Maranhão: período de 2005-2006**. São Luís, 2011. 101 p.

JACOMINE, P. K. T. et al. **Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do Estado do Maranhão**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SNLCS/SUDENE-DRN, 1986. 964 p. (Boletim de Pesquisa, 35. Série Recursos de Solos, 17).

- JEMO, M. et al. Aluminium resistance of cowpea as affected by phosphorus-deficiency stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 164, n. 4, p. 442-451, Apr. 2007.
- KEYSER, H. H. **Tolerances to soil acidity factors among rhizobia**. 1973. 113 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Soil Science) - University of California, Davis, 1973.
- KEYSER, H. H.; MUNSS, D. N. Effects of calcium, manganese, and aluminum on growth of rhizobia in acid media. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 43, n. 3, p. 500-503, 1979.
- KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils?: mechanisms of aluminium tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 459-493, 2004.
- LACERDA, A. M. et al. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.
- LESUEUR, D. et al. Selection of *Bradyrhizobium* strains and provenances of *Acacia-mangium* and *Faidherbia-albida* - relationship with their tolerance to acidity and aluminum. **Plant and Soil**, The Hague, v. 149, n. 2, p. 159-166, 1993.
- LIE, T. A. The effect of low pH on different phases of nodule formation in pea plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 31, n. 3, p. 391-406, 1969.
- LINARES, J. et al. Use of the cover crop weed index to evaluate weed suppression by cover crops in organic citrus orchards. **Hortscience**, Alexandria, v. 43, n. 1, p. 27-34, 2006.
- MANZI, J. M.; CARTWRIGHT, P. M. The effects of pH and aluminium toxicity on the growth and symbiotic development of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and Soil**, The Hague, v. 80, n. 3, p. 423-430, 1984.

MARANHÃO. Gerência de Estado de Planejamento e Desenvolvimento Econômico. Laboratório de Geoprocessamento. **Atlas do Maranhão**. 2. ed. São Luís, 2002. 44 p.

MARÉCHAL, R.; MASCHERPA, J. M.; STAINIER, F. Etude taxonomique d'un groupe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Wgna* (Papilionaceae) sur la base données morphologiques et polliniques, traitées pour l'analyse informatique. **Boissiera**, Geneve, v. 28, p. 1-273, 1978.

MARON, L. G. et al. Aluminum tolerance in maize is associated with higher MATE1 gene copy number. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 110, n. 13, p. 5241-5246, 2013.

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 134, n. 1, p. 1-20, July 1991.

MARTINS, A. F. et al. Genetic diversity, tolerance to acidity factors and symbiotic efficiency of rhizobia of birdsfoot trefoil in soils of Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, n. 6, p. 1855-1864, 2011.

MARTINS, L. M. V. et al. 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, n. 6, p. 333-339, 2003.

MESQUITA, B. A. **O desenvolvimento desigual da agricultura: a dinâmica do agronegócio e da agricultura familiar**. São Luís: EDUFMA, 2011. v. 1, 114 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MORON, B. et al. Low pH changes the profile of nodulation factors produced by *Rhizobium tropici* CIAT899. **Chemistry & Biology**, Cambridge, v. 12, n. 9, p. 1029-1040, 2005.

MOURA, E. G. de. Agroambientes de transição avaliados numa perspectiva da agricultura familiar. In: _____. **Agroambientes de transição entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil**. 2. ed. São Luís: UEMA, 2006. p. 15-52.

MUCHERU-MUNA, M. et al. A staggered maize-legume intercrop arrangement robustly increases crop yields and economic returns in the highlands of Central Kenya. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 15, n. 2, p. 132-139, 2010.

NAAB, J. B.; CHIMPHANGO, S. M. B.; DAKORA, F. D. N-2 fixation in cowpea plants grown in farmers' fields in the Upper West Region of Ghana, measured using N-15 natural abundance. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 48, n. 1/3, p. 37-46, 2009.

NG, N. Q. Cowpea *Vigna unguiculata* (Leguminosae-Papilionoideae). In: SMARTT, J.; SIMMONDS, N. W. (Ed.). **Evolution of crop plants**. 2nd ed. Harlow: Longman, 1995. p. 326-332.

NORRIS, D. O. Acid production by *Rhizobium* a unifying concept. **Plant and Soil**, The Hague, v. 2, p. 143-166, 1965.

NORRIS, D. O. The intelligent use of inoculants and lime pelleting for tropical legumes. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 1, p. 107-121, 1967.

NORRIS, J. R.; JENSEN, H. L. Calcium requirements of Azotobacter. **Archiv für Mikrobiologie**, Berlin, v. 31, p. 198-205, 1958.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin, taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SINGH, B. B. et al. (Ed.). **Advances in Cowpea research**. Ibadan: JIRCSEA; IITA, 1997. p. 9-15.

PHILLIPS, R. D. et al. Utilization of cowpeas for human food. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 82, n. 2/3, p. 193-213, May 2003.

QUIN, F. M. Introduction. In: SINGH, B. B. et al. (Ed.). **Advances in Cowpea research**. Ibadan: JIRCSEA; IITA, 1997. p. 9-15.

RÉFFEGA, A. **Conservação, uso sustentável do solo e agricultura tropical**. Bragança Paulista: Instituto Politécnico de Bragança, 1997. 45 p.

RICHARDSON, A. E. et al. Expression of nodulation genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* is affected by low pH and by Ca and Al ions. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 10, p. 2541-2548, 1988.

RODRIGUES, A. C. et al. Interrelationship of *Bradyrhizobium* sp. and plant growth-promoting bacteria in cowpea: survival and symbiotic performance. **Journal of Microbiology**, Seoul, v. 51, n. 1, p. 49-55, Feb. 2013.

RUFINI, M. et al. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 50, n. 1, p. 115-122, Jan. 2014.

RUMJANEK, N. G. et al. **Feijão-caupi tem uma nova estirpe de rizóbio, BR 3267, recomendada como inoculante**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2007. 16 p.

SANTOS, J. G. D.; AGUIAR, A. C. F.; MOURA, E. G. Soil management and efficiency of rhizobia strains of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in the tropics. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Santiago de Chile, v. 71, n. 4, p. 594-600, Oct./Dec. 2011.

SILVA, E. B. et al. Agronomic efficiency of a new rhizobial inoculant formulation for use in cowpea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 138-141, 2012.

SINGH, R. K.; RAO, P. J. M. Biological significance of nickel on the nitrogen fixing ability of cowpea *Bradyrhizobium*. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 20, n. 10, p. 1449-1455, 1997.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, MG: I., caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 795-802, set./out. 2006.

SOARES, B. L. et al. Cowpea sybiotic efficiency, pH and aluminium tolerance in nitrogen-fixing bacteria. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, n. 3, p. 171-180, maio/jun. 2014.

SOUSA, P. M.; MOREIRA, F. M. S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. **Revista em Extensão**, Uberlândia, v. 10, n. 2, p. 37-54, jul./dez. 2011.

SREERAMA, Y. N.; SASHIKALA, V. B.; PRATAPE, V. M. Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. **Food Chemistry**, Kannondai, v. 133, n. 1, p. 156-162, July 2012.

TAURIAN, T.; CASTRO, S.; FABRA, A. Physiological response of two peanut rhizobia strains to acid pH. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 24, n. 3, p. 327-336, 1998.

TIMKO, M. P.; EHLERS, J. D.; ROBERTS, P. A. Cowpea. **Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants**, Berlin, v. 3, n. 1, p. 49-67, 2007.

VERDCOURT, B. Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the flora of tropical East Africa. **Kew Bulletin**, London, v. 24, p. 507-569, 1970.

VITOUSEK, P. M. et al. Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. **Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences**, London, v. 368, n. 1621, p. 1-10, July 2013.

WALKER, D. W.; MILLER, J. C. The relationship between leaf water potential and biological nitrogen-fixation in drought resistant and susceptible genotypes of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Hortscience**, Alexandria, v. 17, n. 3, p. 503-503, 1982.

WATKIN, E. L. J. et al. Identification of tolerance to soil acidity in inoculant strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 32, n. 10, p. 1393-1403, Feb. 2000.

XU, P. et al. Development and polymorphism of *Vigna unguiculata* spp. *Unguiculata* microsatellite markers used for phylogenetic analysis in asparagus bean (*Vigna unguiculata* spp. *Sesquipedialis* (L.) Verdec.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, n. 4, p. 675-684, 2010.

ZAHARAN, H. H. *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Victoria, v. 63, n. 4, p. 968-989, 1999.

ZILLI, J. E. et al. Symbiotic efficiency of cowpea *Bradyrhizobium* strains in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 811-818, maio 2006.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 Simbiose eficiente de rizóbio com feijão-caupi como alternativa forrageira no Sul do Maranhão

Thiago Palhares Farias ¹

Fátima Maria Souza Moreira ¹

Bruno Lima Soares ²

Ana Regia Alves Araújo ³

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003).

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Ciência do Solo, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil. E-mail: thiagopalhares@ifma.edu.br, trochmann@gmail.com, fmoreira@dcs.ufla.br.

² Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura, Caixa Postal 3737, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil. E-mail: brunolsoares@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de três novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em feijão-caupi cv. BRS Guariba frente às estirpes aprovadas pelo MAPA para uso alternativo como forrageira no sul do Maranhão. Foram conduzidos dois experimentos de campo, em Balsas e São Raimundo das Mangabeiras, em delineamento em blocos casualizados com 4 repetições e 7 tratamentos: 3 novas estirpes eficientes em caupi (UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164), 2 estirpes já aprovadas como inoculantes pelo MAPA (UFLA 3-84 e INPA 3-11B) e 2 controles sem inoculação, com e sem N mineral. A eficiência simbiótica das estirpes foi determinada pelo número e massa seca de nódulos, produção de matéria seca da parte aérea, eficiência relativa, teor e acúmulo de N na parte aérea e o teor e acúmulo de proteína bruta. As estirpes UFLA 03-154 e UFLA 3-164 destacaram-se na eficiência simbiótica de N₂ em Balsas e a UFLA 3-153 e UFLA 3-164 em São Raimundo das Mangabeiras. As estirpes influenciaram na produção de massa seca da parte aérea, no acúmulo de nitrogênio e no teor de proteína bruta no feijão-caupi. As três estirpes avaliadas foram significativamente mais eficientes que as estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B e podem ser recomendadas para inoculação do feijão-caupi nas condições edafoclimáticas do Maranhão.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium* sp. Suplemento forrageiro. Teor de proteína bruta.

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi constitui importante fonte de proteínas na alimentação humana e animal (FREIRE FILHO et al., 2011; PHILLIPS et al., 2003). O grão apresenta níveis destacados de proteína (20 a 35%), fibras (insolúvel 16,6% e solúvel 2,7%), cinzas (2,6%), lipídios (2,2%), energia bruta ($3.234 \text{ kcal g}^{-1}$) e carboidratos (51,4%), dependendo do gênero, espécie e variedade botânica, o que favorece a obtenção de rações de forma racional e econômica (BELANE; DAKORA, 2010; BRESSANI, 1993; RIVAS-VEGA et al., 2006).

Esta cultura forma simbiose mutualística com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (N_2) e tem capacidade de obtenção de até $201 \text{ kg de N ha}^{-1}$ (DAKORA et al., 1987; TIMKO et al., 2007).

O feijão-caupi é uma cultura tradicional no Norte e Nordeste do Brasil e, nos últimos anos, tem sido introduzido nas grandes fronteiras agrícolas do cerrado brasileiro. A região sul do Maranhão já é um dos grandes celeiros produtores de feijão-caupi, sendo este cultivado como safrinha, substituindo o milho em função do baixo custo de produção e da tolerância ao estresse hídrico (FREIRE FILHO et al., 2011).

O sul do Maranhão é a maior região produtora de grãos do estado e vem utilizando esta potencialidade para diversificar a produção agrícola com a integração lavoura/pecuária. A produção de bovinos para corte vem ocorrendo com o consórcio de milho e *Brachiaria ruzisensis*, com engorda de bois na entressafra das lavouras (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2013).

Na diversificação da produção agrícola, o feijão-caupi pode ser aproveitado para outros usos, além da produção de grãos para alimentação humana. O resíduo da parte aérea da planta pode suprir os requisitos de manutenção de energia para bovinos e contribuir para o potencial produtivo do cerrado maranhense, integrando o sistema de lavoura e pecuária, com baixo custo de produção. O feijão-caupi é uma cultura importante na África subsaariana e muito utilizada como forrageira (EHLERS; HALL, 1997; MORTIMORE et al., 1997; STALKER, 1997), e o uso de seus resíduos como suplemento na produção animal tem sido descrito por diversos autores (ANELE et al., 2010; SAVADOGO et al., 2000; SINGH et al., 2003; THOMAS; SUMBERG, 1995). O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência simbiótica de estirpes já aprovadas como inoculante e as novas estirpes de bactérias fixadoras de N_2 em feijão-caupi, visando à utilização da cultura como suplementação forrageira para bovinos de corte no sul do Maranhão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos no cerrado da região sul do Maranhão, na Fazenda Cajueiro (7° 13'S, 45° 59' W, a 342 m de altitude), em Balsas e no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Campus São Raimundo das Mangabeiras (7° 02'S e 45° 30'W, a 258 m de altitude), entre janeiro e março de 2013. Segundo a classificação de Thornthwaite (MARANHÃO, 2002), o clima da região é o sub-úmido seco (C1SA'a'), com temperatura média de 27 °C, umidade relativa do ar média de 75% e precipitação total anual de 1.200 mm. A precipitação média observada na estação meteorológica de Balsas, do Inmet, no período de realização dos experimentos foi de 180 mm. Os atributos químicos dos solos das áreas experimentais, na camada 0 a 20 cm são apresentados na Tabela 1. O solo da Fazenda Cajueiro em Balsas foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico, cultivado com soja, feijão-caupi, milho e arroz em sistema de plantio direto. O cultivo de soja e feijão-caupi inclui a prática da inoculação e reinoculação anual com as estirpes SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*) e SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*). Em São Raimundo das Mangabeiras, o solo é um Latossolo Amarelo Distrófico típico, com o cultivo anual de milho e só recentemente vem sendo trabalhado sob o aspecto da correção da acidez e da melhoria da fertilidade, com aplicação de fertilizantes químicos. Não há histórico de inoculação com rizóbio.

Tabela 1 - Atributos químicos do Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de Balsas e Latossolo Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de São Raimundo das Mangabeiras - MA

pH	K	P	P-Rem	Ca	Mg	H+Al	Al	S	MO
	mg/dm ³	mg/L	mg/L	mg/dm ³	mg/dm ³	cmol/dm ³	cmol/dm ³	mg/dm ³	DAE/kg
<i>Balsas</i>									
5,7	64,00	41,66	31,11	2,70	0,60	4,52	0,20	7,03	3,28
<i>São Raimundo das Mangabeiras</i>									
5,8	38,00	2,30	42,85	0,80	0,50	2,90	0,30	2,97	1,87

pH em água, KCl e CaCl₂ – Relação 1:2,5

Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L

P-rem: Fósforo Remanescente

S – Extrator – Fosfato monocálcio em ácido acético

P – K – Extrator Mehlich 1

H + Al – Extrator: SMP

Mat. Org. (MO) – Oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N

O delineamento experimental foi blocos casualizados com 4 repetições e 7 tratamentos (5 inoculantes + 2 controles sem inoculação; com 80 kg ha⁻¹ N-ureia (C/N) e sem N-mineral (S/N). Foram avaliadas três novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio, previamente selecionadas em experimentos em condições axênicas e vasos com solo (SOARES et al., 2014). As estirpes avaliadas foram UFLA 03-153, UFLA 03-154 e UFLA 03-164, isoladas de áreas de mineração de bauxita localizadas na serra de Poços de Caldas, Minas Gerais e classificadas como *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia fungorum* e *B. elkanni*, respectivamente (MOTTA, 2002; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013; SOARES et al., 2014). Além dessas, foram testadas duas estirpes já aprovadas como inoculantes para caupi, UFLA 03-84 (*Bradyrhizobium* sp.) e INPA 03-11B (*B. elkanni*). Para o tratamento das sementes, foram utilizados inoculantes turfosos na dose de 250 g/10 kg de sementes. O inoculante constituiu-se de cultura de estirpe na fase log, em meio 79 e

turfa na proporção 7:4 (m/v). As parcelas foram constituídas de 6 fileiras de 6 m de comprimento, semeadas com feijão-caupi cv. BRS Guariba. Em Balsas, o espaçamento utilizado foi de 0,45 m entre linhas e com 10 plantas por metro linear e em São Raimundo das Mangabeiras, 0,7 m entre linhas e com 8 plantas por metro linear. A diferença entre os espaçamentos foi em função do equipamento disponível em Balsas para o preparo da área que já era regulado para os espaçamentos utilizados pelo produtor.

Antes do plantio, os solos foram amostrados para a determinação da densidade das populações nativas de rizóbios (número mais provável/g solo- UFC) em experimento realizado em casa de vegetação, utilizando-se garrafas de vidro do tipo “big neck” com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), nas quais se cultivou o feijão-caupi cv. BRS Guariba como planta isca durante 25 dias, inoculado com 6 diluições de solo (10^{-1} a 10^{-6}). Em Balsas, não houve a necessidade de correção do solo e adubação e em São Raimundo das Mangabeiras aplicou-se 90 e 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e K₂O, respectivamente (ALVAREZ et al., 1999).

No pleno florescimento aos 35 dias após a emergência (DAE), foram coletadas dez plantas da terceira e quarta linhas de cada parcela. As variáveis avaliadas foram: número (NN) e massa seca de nódulos (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (Efr), teor (TNPA) e acúmulo de N na parte aérea (ANPA), teor (PB) e acúmulo de proteína bruta (APB).

A massa seca da parte aérea e a massa seca de nódulos foram determinadas após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até peso constante. O teor de N na parte aérea foi determinado pelo

método de micro Kjeldahl. O acúmulo de N e o teor e acúmulo de proteína bruta na parte aérea foram calculados a partir do teor de N da parte aérea. O primeiro foi calculado multiplicando-se o teor de nitrogênio pela massa seca da parte aérea, o segundo, multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25 e o terceiro, multiplicando-se o acúmulo de nitrogênio por hectare pelo fator 6,25. A eficiência relativa foi calculada pela divisão da massa de matéria seca da parte aérea do tratamento inoculado pela massa de matéria seca da parte aérea do tratamento com 80 kg ha⁻¹ de N, multiplicada por 100.

Os dados foram submetidos à análise de variância com o teste F, a 5% de probabilidade. Quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, também a 5% de probabilidade, utilizando-se o Sisvar, versão 4.0 (FERREIRA, 2011). Os dados de número e massa seca de nódulos foram transformados para $(X+0,5)^{0,5}$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em Balsas, o número e a massa seca de nódulos dos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-154 e UFLA 3-164 foram superiores ($p < 0,05$) aos das estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B. O tratamento sem inoculação e sem N mineral apresentou número de nódulos semelhante ao da INPA 3-11B e foi superior à UFLA 3-84 e à UFLA 3-153. Quanto à massa seca de nódulos, não houve diferença ($p < 0,05$) entre esses tratamentos (Tabela 2). A nodulação no tratamento sem inoculação e sem N mineral evidencia a expressiva presença de populações nativas e introduzidas pela inoculação anual da soja, estimadas em 680 unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC).

Tabela 2 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (kg ha⁻¹), proteína bruta (PB) (%) e acúmulo de proteína bruta (APB) (kg ha⁻¹), cultivar BRS Guariba dos experimentos conduzidos em Balsas e São Raimundo das Mangabeiras - MA⁽¹⁾

Tratamento	NN	MSN	MSPA	Efr	TNPA	ANPA	PB	APB
	Unid.	mg planta ⁻¹	kg ha ⁻¹	%	%	kg ha ⁻¹	%	Kg ha ⁻¹
<i>Balsas</i>								
Test. S/N	42,09 b	197,41 b	1178,04 c	70,32 c	3,24 a	37,98 b	20,25 a	238,75 b
UFLA 3-153	22,47 c	119,62 b	1060,32 c	63,56 d	3,14 a	33,23 b	19,61 a	207,69 b
UFLA 3-154	77,20 a	292,31 a	1457,28 b	87,30 b	3,12 a	45,43 a	19,52 a	286,14 a
UFLA 3-164	65,41 a	280,58 a	1467,88 b	87,75 b	3,30 a	48,33 a	20,65 a	307,03 a
UFLA 3-84	30,86 c	146,95 b	1069,60 c	64,08 d	3,25 a	34,76 b	20,34 a	218,20 b
INPA 3-11B	40,60 b	201,54 b	1233,24 c	73,63 c	3,21 a	39,39 b	20,06 a	248,23 b
Test. C/N	2,49 d	7,90 c	1669,88 a	100,00 a	3,16 a	52,73 a	19,77 a	335,04 a
CV (%)	8,55	5,87	8,35	1,85	11,44	4,37	4,44	18,58
<i>São Raimundo das Mangabeiras</i>								
Test. S/N	38,25 a	198,03 a	780,92 b	52,14 c	3,97 b	30,15 c	24,81 b	188,40 b
UFLA 3-153	42,75 a	235,37 a	1221,64 a	85,80 a	4,86 a	59,23 b	30,35 a	370,17 a
UFLA 3-154	25,00 b	122,44 b	926,96 b	65,72 b	4,35 b	40,38 c	27,18 b	252,35 b
UFLA 3-164	40,75 a	225,00 a	1248,80 a	88,33 a	4,79 a	59,96 b	29,96 a	374,75 a
UFLA 3-84	22,75 b	109,20 b	922,32 b	64,96 b	3,96 b	36,71 c	24,85 b	229,41 b
INPA 3-11B	17,50 b	90,04 b	696,52 b	50,09 c	4,52 a	31,38 c	28,27 a	196,12 b
Test. C/N	4,50 c	13,09 c	1414,08 a	100,00 a	5,11 a	72,37 a	31,95 a	452,34 a
CV (%)	21,55	28,42	8,35	4,31	5,01	14,52	2,26	14,52

(1) Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo, segundo o teste de Scott-Knott a 5%.

Os resultados de número e massa seca de nódulos dos tratamentos com UFLA 3-164 e UFLA 3-154 corroboram os resultados encontrados por Soares et al. (2014), que avaliaram a eficiência simbiótica das mesmas estirpes em feijão-caupi em condições axênicas e em vasos com solo. Outros autores também encontraram resultados semelhantes em experimentos de campo (COSTA et al., 2011; FERREIRA et al., 2013). Oliveira-Longatti et al. (2013) que mostraram a resistência das estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 a onze antibióticos *in vitro* e, baseado em

Danso e Owiredu (1988), isto pode explicar a boa adaptação da UFLA 3-164 .

A disponibilidade de matéria orgânica (Tabela 1) e a utilização de defensivos agrícolas nas culturas anteriores instaladas na área, aliados ao excesso de água (180 mm) durante a condução do experimento em Balsas podem ter influenciado, reduzindo o número e a massa seca de nódulos das estirpes aprovadas pelo MAPA, UFLA 3-84 e INPA 3-11B, uma vez que a eficiência das duas estirpes já havia sido comprovada em feijão-caupi (COSTA et al., 2011; FERREIRA et al., 2009; GUALTER et al., 2011; RUFINI et al., 2014; SOARES et al., 2006, 2014).

As estirpes UFLA 3-154 e UFLA 3-164 apresentaram valores de massa seca da parte aérea e eficiência relativa superiores ($p < 0,05$) às demais estirpes avaliadas, incluindo a UFLA 3-84 e a INPA 3-11B. O tratamento sem inoculação e com 80 kg ha^{-1} de N mineral apresentou a maior produção de massa seca da parte aérea, mas a eficiência relativa das estirpes UFLA 3-154 e UFLA 3-164 ultrapassou 87% (Tabela 2).

A simbiose eficiente das estirpes UFLA 3-154 e UFLA 3-164 em feijão-caupi é relevante para o uso forrageiro do feijão-caupi no município de Balsas, uma vez que a produção de biomassa superou os 1.450 kg ha^{-1} (Tabela 2). Estes resultados corroboram os observados por Soares et al. (2014) em vasos com solo e Ferreira et al. (2013) em experimentos de campo.

Para o teor de nitrogênio na parte aérea não houve diferença entre os tratamentos, com resultados similares aos encontrados por Costa et al. (2011). Os teores de nitrogênio estão dentro dos valores indicados por Atkins et al. (1980) e Herridge e Pate (1977) e são superiores aos

encontrados por Anele et al. (2011). O acúmulo de N na parte aérea dos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-154 e UFLA 3-164 não diferiu ($p < 0,05$) do tratamento com 80 kg ha^{-1} de N (Tabela 2). A estirpe UFLA 3-164 acumulou 48 kg ha^{-1} de N em 1.468 kg ha^{-1} de massa seca e a UFLA 3-154 acumulou 45 kg ha^{-1} de N 1.457 kg ha^{-1} de massa seca, contra 53 kg ha^{-1} de N acumulado em 1.670 kg ha^{-1} pelo tratamento com N mineral, ratificando suas eficiências no experimento realizado em Balsas (Tabela 2). Resultados próximos a esses foram encontrados por Costa et al. (2011) e Ferreira et al. (2013) no Piauí.

Observa-se nos resultados do acúmulo (kg ha^{-1}) de N na parte aérea que a fonte de nitrogênio de cada tratamento influenciou nos resultados, que apresentaram uma variação de 33 a 53 kg ha^{-1} , com os tratamentos N mineral, UFLA 3-164 e UFLA 3-154 acumulando os maiores valores, enquanto o tratamento inoculado com a estirpe UFLA 3-153 acumulou o menor valor (Tabela 2).

Não houve diferença ($p < 0,05$) quanto ao teor de proteína bruta entre os tratamentos em Balsas (Tabela 2). Como essa variável é função dos teores de N nas plantas e estes não diferiram entre os tratamentos, os resultados podem estar relacionados às características genéticas da cultivar BRS Guariba, assim como à fertilidade do solo (Tabela 1). Os teores de proteína bruta dos sete tratamentos estão próximos aos encontrados por Kochhar, Walker e Pike (1988) estudando o efeito de variedade de feijão-caupi no teor de proteínas.

A similaridade estatística ($p < 0,05$) das variáveis teor de nitrogênio e teor de proteína bruta na parte aérea revela a influência de outros fatores, além dos efeitos dos tratamentos, sobre esses indicadores, no

entanto, os contrastes proporcionados pelos tratamentos revelam também a precisão do experimento (baixos coeficientes de variação – Tabela 2) que conseguiu detectar diferenças em pequenas variações. Neste contexto, destaca-se a estirpe INPA 3-11B que, na maioria das variáveis, apresentou menor média, no entanto, sua eficiência foi de 74%, e contribuiu para uma produção de 1.233 kg ha⁻¹ de massa seca da parte aérea, com o acúmulo de 248,23 kg ha⁻¹ de proteína bruta, resultado que só foi superado pelo tratamento sem inoculação e com 80 kg ha⁻¹ de N mineral, seguido das estirpes UFLA 3-164 e UFLA 3-154 (Tabela 2).

Em São Raimundo das Mangabeiras, a UFLA 3-164 manteve a capacidade de nodular o feijão-caupi observada também em Balsas (Tabela 2), confirmando a sua habilidade de adaptação a diferentes solos. Entretanto, apresentou número e massa seca de nódulos semelhantes ($p < 0,05$) ao controle sem inoculação e sem N mineral e ao tratamento inoculado com a estirpe UFLA 3-153 (Tabela 2). Esses dois últimos resultados divergem dos encontrados em Balsas, principalmente os relacionados à UFLA 3-153, que no primeiro experimento apresentou a menor média de número e massa seca de nódulos, comprovando a influência do ambiente edáfico sobre a fixação biológica de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A semelhança dos resultados de número e massa seca de nódulos descrita acima comprova a capacidade da população nativa, estimada em 200 UFC g⁻¹ de solo, em estabelecer simbiose com o feijão-caupi, leguminosa considerada promíscua (GUIMARÃES et al., 2012; JARAMILLO et al., 2013; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; NORRIS, 1967). O controle sem inoculação e com 80 kg ha⁻¹ de N mineral apresentou o menor valor de número e massa seca de

nódulos, no entanto, quando comparados aos resultados de Balsas, esse tratamento obteve maior valor para as duas variáveis, o que pode estar relacionado à influência dos diferentes sistemas de manejo sobre o solo, pois no sistema de plantio direto a palhada protege o solo contra o impacto da chuva, minimizando o efeito de lixiviação do adubo nitrogenado, o que não acontece no sistema convencional, o que pode ter ocasionado uma diluição da ureia pelo excesso de chuva (média de 180 mm na região durante o experimento), diminuindo o seu efeito inibidor sobre a simbiose.

Os maiores valores de número e massa seca de nódulos das estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 apresentaram uma relação com as maiores produções de massa seca da parte aérea entre os tratamentos inoculados, não diferindo ($p < 0,05$) do controle sem inoculação e com N mineral. Essa relação foi confirmada pela eficiência das estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164, que foi semelhante ao controle nitrogenado (Tabela 2). O mesmo não foi observado para o controle sem inoculação e sem N mineral, que apresentou um dos menores valores de produção de massa seca da parte aérea e eficiência relativa. Outros autores relataram boa nodulação de população nativa de rizóbio em feijão-caupi em experimentos de campo, mas com baixa eficiência (LACERDA et al., 2004; SOARES et al., 2006).

O teor de nitrogênio na parte aérea dos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 não diferiu ($p < 0,05$) do tratamento sem inoculação e com N mineral (Tabela 2). O mesmo ocorreu com o tratamento inoculado com a INPA 3-11B, no entanto, as estirpes em fase de teste (UFLA 3-153 e UFLA 3-164) apresentaram eficiência de

fixação de N_2 superior às estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B. Ferreira et al. (2013), trabalhando com as estirpes em fase de teste (UFLA 3-154 e UFLA 3-164) e duas aprovadas como inoculantes (UFLA 3-84 e INPA 3-11B inoculadas na cultivar de feijão-caupi BR 17 Gurguéia, em experimento de campo no Piauí), encontraram maior eficiência relativa para a estirpe INPA 3-11B, apesar de não diferir das demais no acúmulo de N na parte aérea. A eficiência simbiótica das estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 corrobora com os estudos de Soares et al. (2014).

O teor de nitrogênio na parte aérea dos tratamentos em São Raimundo das Mangabeiras foi superior aos encontrados em Balsas e os observados por outros autores (ANELE et al., 2011; ATKINS et al., 1980; HERRIDGE; PATE, 1977). No primeiro experimento, não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos, apesar do menor espaçamento (0,45 m), que pode ter sido compensado pela maior oferta de nutrientes (Tabela 1), enquanto que o maior espaçamento (0,70 m) e, conseqüentemente, menor competição por água e nutrientes entre as plantas no segundo local possa ter sido prejudicado pela acidez do solo, condicionando as plantas a um maior acúmulo e mais dependentes de cada fonte de nitrogênio.

Quando o acúmulo de nitrogênio na parte aérea em São Raimundo das Mangabeiras é analisado, observa-se que houve grande influência das fontes de nitrogênio. Os tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-164 e UFLA 3-153 foram superiores aos demais tratamentos inoculados ($p < 0,05$) ficando abaixo somente do tratamento com 80 kg ha^{-1} de N mineral (Tabela 2).

O teor de proteína bruta no feijão-caupi foi semelhante entre os tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-153, UFLA 3-164 e INPA 3-11B, que apresentaram semelhança no teor de nitrogênio na parte aérea e também não diferiu do tratamento nitrogenado (Tabela 2). Mas, em função da maior produção de massa seca da parte aérea dos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-164 e UFLA 3-153, essas duas estirpes foram as que mais contribuíram para o acúmulo de proteína bruta por hectare, não diferindo do tratamento sem inoculação e com 80 kg ha⁻¹ e N mineral.

Com acúmulos de 375 e 370 kg ha⁻¹ de proteína bruta nos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-164 e UFLA 3-153, respectivamente, os resultados validam o potencial forrageiro da parte aérea do feijão-caupi inoculado com rizóbios eficientes para a produção de suplementação alimentar para ruminantes em São Raimundo das Mangabeiras.

4 CONCLUSÕES

A inoculação do feijão-caupi com a estirpe UFLA 3-154 pode ser recomendada para sistema de cultivo intensivo com alta densidade de plantio em solo sob plantio direto com boa fertilidade e sistema produtivo tecnificado com uso de defensivos agrícolas.

A estirpe UFLA 3-153 pode ser recomendada para sistema de cultivo com maiores espaçamentos e menor fertilidade do solo.

A estirpe UFLA 3-164 é adaptada aos dois sistemas de produção e sendo muito eficiente em fixar N_2 nas condições edafoclimáticas do sul do Maranhão.

As estirpes UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164 avaliadas foram significativamente mais eficientes em fixar nitrogênio que as estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B no Sul do Maranhão.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), à Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao CNPq e à CAPES pelo auxílio financeiro concedido para a realização do trabalho e pelas bolsas de pesquisa concedidas aos estudantes e pesquisador.

**Efficient rhizobium symbiosis with caupi-bean as alternative forage
in Southern Maranhão, Brazil**

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the symbiotic efficiency of three new nodule nitrogen fixing bacteria strains in caupi-bean cv. BRS Guariba in contrast to the strains approved by MAPA for alternative use as forage in southern Maranhão, Brazil. Two field experiments were conducted in ferries and São Raimundo das Mangabeiras, in a randomized blocks design, with 4 replicates and 7 treatments: 3 new efficient caupi strains (UFLA 3-153, UFLA 3-154 and UFLA 3-164), 2 strains approved as inoculants by MAPA (UFLA 2-84 and INPA 3-11B) and 2 controls without inoculation, with and without mineral N. The symbiotic efficiency of the strains was determined by the number and dry mass of nodules, production of shoot dry mass, relative efficiency, content and accumulation of N in the shoot and content and accumulation of crude protein. Strains UFLA 03-154 and UFLA 3-164 were highlighted in the symbiotic efficiency of N₂ in ferries and UFLA 3-153 and UFLA 3-164 in São Raimundo das Mangabeiras. The strains influenced shoot dry mass production, nitrogen accumulation and crude protein content in the caupi-bean. The three evaluated strains were significantly more efficient than the strains approved as inoculants UFLA 3-84 and INPA 3-11B and may be recommended for the inoculation of the caupi-bean in the soil and climate conditions of Maranhão.

Keywords: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium* sp. Forrage supplement. Crude protein content.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, V. H. et al. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A. et al. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 359.

ANELE, U. Y. et al. Chemical characterization, in vitro dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulm varieties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 163, n. 2/4, p. 161-169, 2011.

ANELE, U. Y. et al. Effects of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulms as a feed supplement on voluntary intake, utilization and blood profile of West African dwarf sheep fed a basal diet of Pennisetum purpureum in the dry season. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 159, n. 1/2, p. 10-17, July 2010.

ATKINS, C. A. et al. Economy of carbon and nitrogen in nodulated and non-nodulated (NO₃-grown) cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 66, p. 978-983, 1980.

BELANE, A. K.; DAKORA, F. D. Symbiotic N₂ fixation in 30 field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in the Upper West Region of Ghana measured using ¹⁵N natural abundance. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 46, v. 2, p. 191-198, 2010.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 9, n. 2, p. 237-297, 1993.

COSTA, E. M. et al. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp por cepas de rizóbio no Pólo de produção Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 1-7, jan./mar. 2011.

DANSO, S. K. A.; OWIREDU, J. D. Competitiveness of introduced and indigenous cowpea *Bradyrhizobium* strains for nodule formation on cowpeas [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] in three soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 20, n. 3, p. 305-310, 1988.

DAKORA, F. D. et al. Assessment of N₂ fixation in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and their relative N contribution to a succeeding maize crop in Northern Ghana. **MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 3, n. 4, p. 389-399, 1987.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1/3, p. 187-204, July 1997.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FERREIRA, L. V. M. et al. Biological nitrogen fixation in production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, family farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 5, n. 4, p. 153-160, Mar. 2013.

FERREIRA, P. A. A. et al. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2210-2212, out. 2009.

FREIRE FILHO, F. R. et al. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2011. 84 p.

GUALTER, R. M. R. et al. Agronomic efficiency of rhizobia strains in cowpea cultivated in the Pre-Amazon region, in Maranhao state. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 303-308, mar. 2011.

GUIMARÃES, A. A. et al. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the Western Amazon by using cowpea as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, July 2012.

HERRIDGE, D. F.; PATE, J. S. Utilization of net photosynthate for nitrogen fixation and protein production in an annual legume. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 60, n. 5, p. 759-764, 1977.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Sacramento: California Agricultural Experimental Station, 1950. 39 p. (Circular, 347).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, 2013. 83 p.

JARAMILLO, P. M. D. et al. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, n. 6, p. 397-404, nov./dez. 2013.

KOCHHAR, N.; WALKER, A. N.; PIKE, D. J. Effect of variety on protein content, amino acid composition and trypsin inhibitor activity of cowpeas. **Food Chemistry**, London, v. 29, n. 1, p. 65-78, 1988.

LACERDA, A. M. et al. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

MARANHÃO. Gerência de Estado de Planejamento e Desenvolvimento Econômico. Laboratório de Geoprocessamento. **Atlas do Maranhão**. 2. ed. São Luís, 2002. 44 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MORTIMORE, M. J. et al. Cowpea in traditional cropping systems. In: SINGH, B. B. et al. (Ed.). **Advances in cowpea research**. Ibadan: IITA, 1997. p. 99-113.

MOTTA, J. S. **Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de áreas de mineração de bauxita reabilitadas**. 2002. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

NORRIS, D. O. The intelligent use of inoculants and lime pelleting for tropical legumes. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 1, p. 107-121, 1967.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. et al. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 1239-1250, Nov. 2013.

PHILLIPS, R. D. et al. Utilization of cowpeas for human food. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 82, n. 2/3, p. 193-213, May 2003.

RIVAS-VEGA, M. E. et al. Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Food Chemistry**, London, v. 97, n. 1, p. 41-49, July 2006.

RUFINI, M. et al. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 50, n. 1, p. 115-122, Jan. 2014.

SAVADOGO, M. et al. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundnut (*Arachys hypogea* L.) haulms as supplements to sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) stover: intake, digestibility and optimum feeding levels. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 87, n. 1/2, p. 57-69, 2000.

SINGH, B. B. et al. Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 84, n. 1/2, p. 169-177, Nov. 2003.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, MG: I., caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 795-802, 2006.

SOARES, B. L. et al. Cowpea sybiotic efficiency, pH and aluminium tolerance in nitrogen-fixing bacteria. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 71, n. 3, p. 171-180, maio/jun. 2014.

STALKER, H. T. Peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1/3, p. 205-217, July 1997.

THOMAS, D.; SUMBERG, J. E. A review of the evaluation and use of tropical forage legumes in sub-Saharan Africa. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 151-163, July 1995.

TIMKO, M. P. et al. Cowpea. In: KOLE, C. (Ed.). **Genome mapping and molecular breeding in plants: pulses, sugar and tuber crops**. Pennsylvania: Springer, 2007. p. 49-67.

ARTIGO 2 Inoculação com rizóbio e calagem aumentam a produtividade de feijão-caupi em áreas do Maranhão

Thiago Palhares Farias ³

André Trochmann ¹

Bruno Lima Soares ⁴

Fatima Maria Souza Moreira ¹

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003)

.

³ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Ciência do Solo, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil. E-mail: thiagopalhares@ifma.edu.br, trochmann@gmail.com, fmoreira@dcs.ufla.br.

⁴ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura, Caixa Postal 3737, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil. E-mail: brunolsoares@gmail.com

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência agrônômica de estirpes aprovadas como inoculantes para o feijão-caupi, assim como de três novas estirpes em fase de seleção e a influência da calagem na simbiose e produtividade da cultura em diversas áreas do estado do Maranhão. Foram conduzidos dois experimentos em campo nos municípios de Dom Pedro e São Luís, utilizando-se o feijão-caupi cv. BRS Guariba. No primeiro, o delineamento foi em blocos casualizados com 4 repetições e 7 tratamentos. No segundo, o delineamento foi um fatorial 7 x 2, sendo a calagem o segundo fator. A eficiência agrônômica das estirpes foi determinada pela massa seca de nódulos, massa seca de parte aérea, teor e acúmulo de N na parte aérea, número de vagens/planta, número de grãos/vagem, rendimento de grãos e teor e acúmulo de N no grão. As estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 destacaram-se na eficiência agrônômica em Dom Pedro e a UFLA 3-153 em São Luís. As estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 são mais eficientes que as estirpes aprovadas como inoculantes, UFLA 3-84 e INPA 3-11B, e são recomendadas para inoculação do feijão-caupi no Maranhão. As estirpes e a cultivar BRS Guariba apresentam tolerância à acidez do solo, no entanto, o feijão-caupi responde em produtividade à melhoria da fertilidade do solo proporcionada pela calagem.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium*. Tolerância à acidez. Eficiência. Sistema produtivo.

1 INTRODUÇÃO

A expansão da produção brasileira de feijão-caupi tem consolidado a importância da cultura no cenário nacional. O feijão-caupi, além de cultura tradicional do Norte e Nordeste, vem sendo integrado no estratégico arranjo produtivo de grãos, ao lado da soja, milho e arroz no Cerrado brasileiro (FREIRE FILHO et al., 2011).

Esta cultura forma simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, o que permite à planta suprir suas necessidades nutricionais de nitrogênio, possibilitando baixos custos de produção e aumento de produtividade. Entretanto, a eficiência da simbiose, além de fatores genéticos, depende do ambiente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

No Brasil, predominam solos altamente intemperizados que apresentam sérias restrições químicas à produção agrícola (LOPES; COX, 1977). A acidez é um fator limitante, que pode restringir a produtividade das leguminosas, bem como a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (BAMBARA; NDAKIDEMI, 2010; GRAHAM, 1992; KEYSER; MUNNS, 1979; KOPITTKE et al., 2011). As principais limitações geradas às plantas são o aumento da concentração e toxidez de H^+ , Al^{3+} e Mn^{2+} , deficiência de Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ , adsorção e deficiência de P e Mo e inibição do crescimento radicular (MARSCHNER, 1991). O pH afeta a sobrevivência das bactérias fixadoras de nitrogênio e o alumínio provoca redução significativa da densidade populacional delas no solo (CORREA; RIVAS; BARNEIX, 1999; KEYSER; MUNNS, 1979; LIMA et al., 2009).

Muitas plantas desenvolveram mecanismos morfofisiológicos de adaptação às adversidades do ambiente, tornando os efeitos dependentes de cada espécie e até de genótipos (BIAN et al., 2013; HORST; WAGNER; MARSCHNER, 1983; KOCHIAN; HOEKENGA; PIÑEROS, 2004; MARON et al., 2013). De acordo com alguns autores, em função de sua origem tropical, diferentes genótipos de feijão-caupi desenvolveram tolerância à acidez do solo (EDWARDS; KANG; DANSO, 1981; JEMO et al., 2007; NORRIS, 1967). Como a FBN evoluiu nas mesmas condições, diferentes espécies e estirpes de bactérias fixadoras de N_2 também se adaptaram às mesmas adversidades (FERREIRA et al., 2012; NORRIS, 1967; SOARES et al., 2014).

No entanto, em função do nível de tolerância, leguminosas e bactérias fixadoras de N_2 apresentam respostas variadas à acidez (ZAHARAN, 1999). Assim, se fatores limitantes como pH do solo, toxicidade de alumínio e manganês e deficiência de nutrientes restringem o desenvolvimento dos simbiontes, os diazotróficos não conseguirão manifestar eficiência na fixação de N_2 . Portanto, as restrições químicas do solo ligadas à acidez necessitam ser corrigidas, sendo a técnica da calagem muito empregada, pois atua diretamente nos atributos químicos ligados à acidez, melhorando a fertilidade do solo.

Entretanto, é fundamental que a recomendação de calagem na produção de feijão-caupi inoculado com bactérias fixadoras de N_2 esteja baseada nas variações de respostas dos simbiontes, já que a magnitude de respostas definirá a quantidade de corretivo a ser aplicado ao solo e sua viabilidade econômica.

A seleção de novas estirpes de bactérias mais eficientes em fixar nitrogênio em feijão-caupi constitui importante programa de aprimoramento de técnicas mais eficazes na adubação nitrogenada e nutrição da cultura. A eficiência é um dos critérios para recomendar uma nova estirpe de rizóbio e o processo de seleção de novas estirpes deve ser rigoroso para diferenciar a eficiência de fixação de N_2 entre as estirpes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O feijão-caupi é cultivado em todo o estado do Maranhão, em diferentes sistemas de produção. O estado é o quarto maior produtor de feijão-caupi do Nordeste, mas com baixos índices de produtividade, estimada em 461 kg ha^{-1} (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2013). É tradicional no sistema de agricultura familiar, porém, nos últimos anos, tem sido introduzido nos sistemas produtivos do Cerrado maranhense, no qual a Região Sul vem se destacando como uma das grandes produtoras de dessa cultura.

Apesar da importância da cultura, no Maranhão são poucos os trabalhos com seleção de novas estirpes de rizóbios eficientes em fixar nitrogênio em simbiose com o feijão-caupi, sendo essa prática pouco difundida no estado, principalmente no sistema de agricultura familiar. Porém, mesmo os grandes produtores que adotam a inoculação na produção de feijão-caupi, na maioria das vezes, utilizam estirpes aprovadas para a cultura da soja. Estudos sobre a influência da calagem na simbiose e na produtividade do feijão-caupi não foram relatados no Maranhão. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência agrônômica de estirpes já aprovadas como inoculantes para a cultura do feijão-caupi, assim como três novas estirpes em fase de seleção

e a influência da calagem na simbiose e produtividade do feijão-caupi em áreas do Maranhão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos de campo, um na Região Centro maranhense, no município de Dom Pedro, em uma área de agricultura familiar pertencente a Francisco das Chagas A. Farias (5° 05'S, 44° 21' W, a 171 m de altitude) e outro na Região Norte, no município de São Luís, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Campus São Luís – Maracanã (2° 36'S e 44° 16'W, a 41 m de altitude) entre junho e setembro de 2013. Segundo a classificação de Thornthwaite (MARANHÃO, 2002), o clima da primeira região é o sub-úmido (C₂W₂A'a') e, o da segunda, é o úmido (B₁WA'a'). Em Dom Pedro, a temperatura média é de 28 °C, umidade relativa do ar média de 70% e precipitação total anual de 1.500 mm. A precipitação média observada na estação meteorológica de Barra do Corda, do Inmet, no período de realização dos experimentos foi de 89 mm. Em São Luís, a temperatura média é de 26 °C, umidade relativa do ar média de 80% e precipitação total anual de 2.200 mm. A precipitação média observada na estação meteorológica de São Luís, do Inmet, no período de realização dos experimentos foi de 125 mm.

Os atributos químicos dos solos das áreas experimentais, na camada de 0 a 20 cm de profundidade são apresentados nas Tabelas 1 e 2. Em Dom Pedro, o solo foi classificado como Podzólico Vermelho-Amarelo Distrófico típico (atual Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico), apesar do valor V% = 70%, o que pode ser devido ao levantamento em escala maior (JACOMINE et al., 1986), tendo sido cultivado anteriormente com *Brachiaria brizantha* e hortaliças. Em São

Luís, o solo foi classificado como Latossolo Amarelo Distrófico típico cultivado anualmente com milho, feijão-caupi ou mandioca. Não há histórico de inoculação de rizóbio em ambos os solos.

Tabela 1 - Atributos químicos da camada de 0 a 20 cm do Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de Dom Pedro - MA

Amostra	pH _(água)	K	P	P-Rem	Ca	Mg	SB	t	T	V	MO
		mg/dm ³	mg/dm ³	mg/L	-----cmol _c /dm ³ -----					%	DAE/kg
Dom Pedro (0-20 cm)	6,2 (AF)	288,00 (MB)	3,84 (MBa)	38,28	2,60(B)	1,30(B)	4,64(B)	4,64(B)	6,72(M)	69,02(B)	3,84(M)
		Na	Al	H+Al	m	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
		mg/dm ³	-----cmol _c /dm ³ ----	%	-----mg/dm ³ -----						
		-	0,00 (MBa)	2,08(B)	0,00 (MBa)	4,05(MB)	182,92(MB)	116,40 (MB)	0,89(M)	0,35 (MBa)	4,38 (MBa)

Tabela 2 - Atributos químicos da camada de 0 a 20 cm do Latossolo Amarelo Distrófico típico da área experimental do município de São Luís - MA

Amostra	pH	K	P	P- Rem	Ca	Mg	SB	t	T	V	MO
		mg/dm ₃	mg/dm ³	mg/L	-----cmol _c /dm ³ -----					%	DAE/kg
São Luís (0-20 cm)	5,2(A M)	22,00(Ba)	24,62(B)	38,28	0,50(B a)	0,20(Ba)	0,76(Ba)	1,36(B a)	4,38(M)	17,27(MBa)	1,99(Ba)
		Na	Al	H+Al	m	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
		mg/dm ₃	-----cmol _c /dm ³ - -----		%	-----mg/dm ³ -----					
		-	0,60(M)	3,62(M)	44,12(M)	1,04(M)	212,56(MB)	1,60(M Ba)	0,24(M Ba)	0,26(B)	3,32(M Ba)

Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L

S – Extrator – Fosfato monocálcio em ácido acético

P – Na – K – Fe – Zn – Mn – Cu – Extrator Mehlich 1

H + Al – Extrator: SMP

Mat. Org. (MO) – Oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N + H₂SO₄ 10N

B – Extrator água quente

Interpretação de acordo com Alvarez (1999):

AF = acidez fraca

AM = acidez média

MB = muito bom

B = bo

M = médio

Ba = baixo

MBa = muito baixo

Em Dom Pedro foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições e 7 tratamentos (5 inoculantes e 2 controles sem inoculação, com 80 kg ha⁻¹ N-ureia e sem N-mineral). Em São Luís, o delineamento foi blocos casualizados com quatro repetições e esquema fatorial 7 x 2 (5 inoculantes + 2 controles sem inoculação, com 80 kg ha⁻¹ N-ureia e sem N-mineral) e dois níveis de calagem (com e sem). Foram utilizados inoculantes turfosos na dose de 250 g/10 kg de sementes. O inoculante constituiu-se de cultura de estirpe na fase log em meio 79 e turfa na proporção 7:10 (m/v). Foram avaliadas três novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio, previamente selecionadas em experimentos em condições axênicas e vasos com solo (SOARES et al., 2014). As estirpes avaliadas foram a UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164, isoladas de áreas de mineração de bauxita localizadas na serra de Poços de Caldas, Minas Gerais e classificadas como *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia fungorum* e *B. elkanni*, respectivamente (MOTTA, 2002; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013; SOARES et al., 2014). Além dessas, foram testadas duas estirpes já aprovadas como inoculantes para caupi, UFLA 3-84 (*Bradyrhizobium* sp.) e INPA 3-11B (*B. elkanni*). No experimento realizado em São Luís, também foi testada a influência da calagem tanto na eficiência simbiótica das estirpes testadas, como na produtividade do feijão-caupi.

As parcelas foram constituídas de 6 fileiras de 4 m de comprimento, semeadas com feijão-caupi cv. BRS Guariba. O espaçamento utilizado foi de 0,5 m entre linhas, com 8 plantas por metro.

Antes da semeadura os solos foram amostrados para determinação da densidade das populações nativas de rizóbios (número mais provável/g

solo - UFC) em experimento realizado em casa de vegetação, utilizando-se garrafas de vidro do tipo “big neck” com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), nas quais se cultivou o feijão-caupi cv. BRS Guariba como planta isca durante 25 dias após inoculação com 6 diluições de solo (10^{-1} a 10^{-6}).

Em Dom Pedro, não houve necessidade de correção da acidez do solo. Na adubação de plantio, aplicou-se 90 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato triplo (45% de P_2O_5). O potássio não foi aplicado, pois a análise do solo revelou altos teores (Tabela 1). Em São Luís, aplicou-se $2,53 \text{ t ha}^{-1}$ de calcário dolomítico, 40 kg ha^{-1} de P_2O_5 fonte superfosfato triplo (45% de P_2O_5) e 40 kg ha^{-1} de K_2O fonte cloreto de potássio (60% de K_2O) (ALVAREZ, 1999). A necessidade de calagem para a neutralização da acidez do solo foi determinada utilizando-se o método de elevação da saturação por bases para 70% da CTC.

Aos 35 dias após emergência (DAE) em pleno florescimento, foram coletadas dez plantas da terceira e quarta linhas de cada parcela. As variáveis avaliadas foram: número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea, eficiência relativa, teor e acúmulo de N na parte aérea. Aos 75 DAE, em plena maturação, foram coletadas todas as plantas da quarta e quinta linhas de cada parcela. As variáveis avaliadas foram: número de vagens por planta, número de grãos por vagem, peso de cem grãos, rendimento de grãos, teor e acúmulo de nitrogênio no grão.

A massa seca da parte aérea e a massa seca de nódulos foram determinadas após secagem em estufa de circulação forçada de ar a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ até peso constante. O teor de N foi determinado pelo método de micro Kjeldahl. O acúmulo de N foi calculado a partir do teor de N da parte

aérea e do grão. O primeiro foi calculado multiplicando-se o teor de nitrogênio pela massa seca da parte aérea, o segundo, multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo rendimento de grãos com umidade corrigida para 13%. A eficiência relativa foi calculada pela divisão da massa de matéria seca da parte aérea dos tratamentos inoculados pela massa de matéria seca da parte aérea do tratamento com 80 kg ha^{-1} de N, multiplicada por 100.

Os dados foram submetidos à análise de variância com o teste F a 5% de probabilidade. Quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, também a 5% de probabilidade, utilizando-se o Sisvar, versão 4.0 (FERREIRA, 2011). Os dados de número e massa seca de nódulos foram transformados para $(X+0,5)^{0,5}$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Área experimental de Dom Pedro

Na Tabela 3, encontram-se os valores médios das variáveis analisadas na fase de florescimento (35 DAE) e, na Tabela 4, os das variáveis analisadas na fase de maturação (75 DAE) do experimento realizado em Dom Pedro. Para todas as variáveis houve efeito significativo dos tratamentos e o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) revelou eficiência agrônômica das estirpes UFLA 3-164 e UFLA 3-153.

Tabela 3 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de Dom Pedro – MA⁽¹⁾

Tratamento	NN Unid.	MSN mg planta ⁻¹	MSPA g planta ⁻¹	Efr %	TNPA %	ANPA mg planta ⁻¹
UFLA 3-153	24,50 a	137,45 a	4,40 b	53,02 b	4,18 b	184,91 b
UFLA 3-154	30,50 a	158,30 a	5,75 b	68,93 b	3,96 c	232,48 b
UFLA 3-164	38,50 a	185,84 a	8,55 a	104,01 a	4,37 b	375,38 a
UFLA 3-84	28,75 a	160,42 a	6,75 b	80,87 b	4,07 c	274,56 b
INPA 3-11B	18,25 b	97,85 b	6,05 b	74,40 b	3,85 c	232,98 b
SN	34,25 a	110,95 b	4,90 b	60,40 b	4,26 b	209,28 b
CN	8,00 c	13,57 c	8,28 a	100,00 a	5,47 a	454,47 a
CV (%)	23,27	24,78	23,40	23,57	4,34	22,31

(1) Na coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula e na linha, pela mesma letra maiúscula, pertencem ao mesmo grupo, segundo o teste de Scott-Knott a 5%.

Tabela 4 - Valores médios do número de vagens por planta (NVP) (Unidade), número de grãos por vagem (NGV) (Unidade), peso de cem (100) sementes (p.100sem.) (g), rendimento de grãos (RG) (kg ha⁻¹), teor de nitrogênio no grão (TNG %), acúmulo de nitrogênio no grão (ANG) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de Dom Pedro – MA⁽¹⁾

Tratamento	NVP Unid.	NGV Unid.	p.100sem. G	RG kg ha ⁻¹	TNG %	ANG mg planta ⁻¹
UFLA 3-153	4,09 b	8,91 a	21,38 b	1.245,07 b	4,22 b	328,44 b
UFLA 3-154	3,43 c	8,80 a	20,90 b	1.021,54 c	4,04 b	259,21 c
UFLA 3-164	3,93 b	9,07 a	21,28 b	1.227,92 b	4,27 b	328,81 b
UFLA 3-84	3,35 c	6,92 b	21,66 b	796,56 c	4,57 a	226,61 c
INPA 3-11B	3,04 c	9,39 a	21,11 b	959,85 c	4,54 a	270,83 c
Test. S/N	2,93 c	9,57 a	21,74 b	959,76 c	4,35 b	259,81 c
Test. C/N	4,83 a	8,95 a	23,22 a	1.621,38 a	4,87 a	497,13 a
CV (%)	12,46	9,93	4,38	15,82	2,40	16,75

(1) Na coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula e na linha, pela mesma letra maiúscula, pertencem ao mesmo grupo, segundo o teste de Scott-Knott a 5%.

De acordo com os resultados da primeira avaliação (35 DAE), não houve diferenças ($p < 0,05$) entre o número de nódulos do tratamento inoculado com a estirpe UFLA 3-164 e do controle sem inoculação e sem N mineral (Tabela 3). A nodulação do controle sem nitrogênio mostrou a capacidade nodulífera das populações nativas de rizóbio, estimadas em 140 UFC g^{-1} de solo, adaptadas às condições edafoclimáticas locais.

A variável massa seca de nódulos não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos inoculados com as três novas estirpes (UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164) nem com a estirpe aprovada como inoculante UFLA 3-84 (Tabela 3). Estudos realizados por Soares et al. (2014), em vasos com solo em Minas Gerais, e por Costa et al. (2011) e Ferreira et al. (2013) em experimentos de campo no Piauí, apresentaram resultados semelhantes. Pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), os tratamentos sem inoculação e sem N mineral e com a INPA 3-11B (outra estirpe aprovada como inoculante) apresentaram valores de massa seca de nódulos intermediários (Tabela 3).

O número e massa seca de nódulos usualmente são utilizados como indicadores da eficiência da FBN. No entanto, há divergência quanto ao primeiro (FERREIRA; CASTRO, 1995; MILLER; SCHWARTING; SPRINGER, 1986), mas para o segundo, Dobereiner (1966) mostrou que há correlação entre a quantidade total de nitrogênio acumulado pela planta e a massa seca de nódulos, indicando que esse parâmetro é um bom indicador da eficiência da FBN. Isso pode ser confirmado com o resultado do número de nódulos do controle sem inoculação e sem nitrogênio, pois a alta nodulação não resultou em maior produção de massa seca e acúmulo de N na parte aérea (Tabela 3).

A maior produção de massa seca da parte aérea foi observada no tratamento inoculado com a UFLA 3-164, que não diferiu ($p < 0,05$) em relação ao tratamento com 80 kg ha^{-1} de N mineral. Os demais tratamentos apresentaram valores de massa seca da parte aérea intermediários, não diferindo entre si (Tabela 3).

A variável eficiência relativa não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos inoculados com a UFLA 3-164 e o controle nitrogenado (Tabela 3). De acordo com Miller, Schwarting e Springer (1986) e Moreira e Siqueira (2006), a FBN depende da interação entre rizóbio, leguminosa hospedeira e ambiente, adicionado ao efeito da variação genética entre os simbiontes, portanto, a ineficiência de estirpes recomendadas pode acontecer, dependendo do ambiente, o que pode explicar a baixa eficiência das estirpes UFLA 3-84 e INPA 3-11B que não diferiram ($p < 0,05$) do tratamento sem inoculação e sem N mineral.

Quanto ao teor de nitrogênio na massa seca da parte aérea, a fonte de nitrogênio mineral (80 kg ha^{-1}) influenciou no maior teor de nitrogênio entre os tratamentos (Tabela 3). Não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos inoculados com a UFLA 3-164, UFLA 3-153 e o controle sem nitrogênio. O tratamento com a UFLA 3-154 apresentou N na massa seca da parte aérea semelhante aos inoculados com a UFLA 3-84 e a INPA 3-11B, agrupando-se como os tratamentos com menor média dessa variável (Tabela 3). Teores de nitrogênio na parte aérea acima de 3% são considerados adequados para o feijão-caupi (ANELE et al., 2011; ATKINS et al., 1980; COSTA et al., 2011; HERRIDGE; PATE, 1977). O efeito de diluição pode ser a causa dos menores teores de N na massa seca da parte aérea dos tratamentos inoculados com as estirpes aprovadas

como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B, pois as variáveis massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e eficiência relativa desses tratamentos apresentaram altos valores de média, principalmente para a UFLA 3-84 que não diferiu da UFLA 3-164 e do controle sem inoculação e com N mineral quanto à eficiência relativa (Tabela 3).

Para o nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea, o tratamento com a UFLA 3-164 não diferiu do tratamento sem inoculação e com N mineral (Tabela 3). Soares et al. (2014) em experimentos de vaso com solo em Minas Gerais e Ferreira et al. (2013) em experimento de campo no Piauí confirmam esses resultados.

Na segunda avaliação (75 DAE), foi verificado efeito significativo dos tratamentos em relação às variáveis analisadas na fase de maturação (Tabela 4). Com relação ao número de vagens por planta, o tratamento que melhor se destacou foi o controle sem inoculação e com 80 kg ha⁻¹ de N mineral, seguido pelos tratamentos com a UFLA 3-153 e UFLA 3-164. Não houve diferença pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), para a variável número de grãos por vagem, com exceção do tratamento inoculado com a estirpe UFLA 3-84. O genótipo da cultivar BRS Guariba pode estar relacionado à semelhança do número de grãos por vagem. A fertilidade do solo (Tabela 1) pode também ter contribuído para isso. O maior peso de cem grãos foi observado para o controle nitrogenado (Tabela 4). Os demais tratamentos não diferiram entre si. Na comparação geral para as três variáveis descritas acima, a UFLA 3-84 foi que apresentou os menores valores.

Os maiores rendimentos de grãos entre os tratamentos inoculados foram observados para a UFLA 3-153 e UFLA 3-164 que não diferiram

entre si (Tabela 4). A fonte de nitrogênio mineral (80 kg ha^{-1}) foi quem influenciou o maior rendimento de grãos dentre todos os tratamentos. A maior produção de grãos influenciada pela adubação nitrogenada e respostas de produtividade de feijão-caupi inoculado com rizóbio também foram relatadas por Santos, Aguiar e Moura (2011) estudando os efeitos de manejos do solo na eficiência de estirpes de rizóbio inoculados em feijão-caupi no Maranhão que encontram rendimentos de aproximadamente 1.700 kg ha^{-1} . Gualter et al. (2011), trabalhando com eficiência de estirpes de rizóbio em feijão-caupi no Maranhão, relataram produtividade máxima de 893 kg ha^{-1} em área de agricultura familiar. Os mesmos autores observaram uma produtividade máxima de 679 kg ha^{-1} para o tratamento inoculado com a estirpe aprovada como inoculante INPA 3-11B, que foi bem abaixo do observado pelo mesmo tratamento em Dom Pedro (Tabela 4).

Para teor de nitrogênio no grão (Tabela 4) ocorreu a formação de três grupos com diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos. O primeiro grupo que apresentou a melhor avaliação foi composto do tratamento sem inoculação e com N mineral. O segundo grupo em que os tratamentos apresentaram valores de teor de nitrogênio no grão intermediários foi composto pelas estirpes ULFA 3-84 e INPA 3-11B. O último grupo foi composto pelos tratamentos inoculados com as estirpes em fase de seleção (UFLA 3-164, UFLA 3-153 e UFLA 3-154) e o controle sem inoculação nem N mineral (Tabela 4). O maior acúmulo de nitrogênio no grão foi observado para o tratamento sem inoculação e com 80 kg ha^{-1} de N mineral, seguido dos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 3-

164 e UFLA 3-153. As duas estirpes demonstraram boa eficiência na FBN no município de Dom Pedro.

3.2 Área experimental de São Luís

Na Tabela 5, encontram-se os valores médios das variáveis analisadas na fase de florescimento (35 DAE) e na Tabela 6, os das variáveis analisadas na fase de maturação (75 DAE) do experimento realizado em São Luís. Houve efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem sobre a variável teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA) analisada no florescimento e nas variáveis número de grãos por vagem (NGV), peso de sem sementes (p.100 sem.), rendimento de grãos (RG) e teor e acúmulo de nitrogênio no grão (TNG e ANG) analisadas na fase de maturação. A fonte de nitrogênio foi significativa para todas as variáveis analisadas e o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) revelou a eficiência agrônômica da estirpe UFLA 3-153 quando comparada às demais estirpes nas variáveis número de grãos por vagem (NGV), rendimento de grãos (RG), teor e acúmulo de nitrogênio no grão (TNG e ANG), principalmente, quando sem efeito da calagem.

Tabela 5 - Valores médios do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN) (mg planta⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSPA) (g planta⁻¹), eficiência relativa (Efr %), teor de nitrogênio da parte aérea (TNPA %), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (ANPA) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de São Luís – MA⁽¹⁾

Tratamento	NN Unid.	MSN mg planta ⁻¹	MSPA g planta ⁻¹	Efr %	TNPA %	ANPA mg planta ⁻¹
UFLA 3-153	23,38 a	165,32 a	4,75 b	63,08 b	4,25 b	201,19 b
UFLA 3-154	28,25 a	206,03 a	4,83 b	61,54 b	4,41 b	213,70 b
UFLA 3-164	22,50 a	177,57 a	5,00 b	64,50 b	4,22 b	213,73 b
UFLA 3-84	22,50 a	164,24 a	4,83 b	61,05 b	4,25 b	205,84 b
INPA 3-11B	27,25 a	174,18 a	5,50 b	69,01 b	3,97 b	219,37 b
SN	24,88 a	149,84 a	4,15 b	52,03 b	3,88 b	160,71 b
CN	7,25 b	33,77 b	8,03 a	100,00 a	4,80 a	386,27 a
Calagem						
Sem	21,32 a	151,37 a	5,07 a	66,75 a	4,16 b	214,57 a
Com	23,25 a	154,61 a	5,52 a	67,60 a	4,35 a	242,80 a
CV (%)	23,25	16,34	22,52	24,13	8,24	25,95

(1) Na coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula e na linha, pela mesma letra maiúscula, pertencem ao mesmo grupo, segundo o teste de Scott-Knott a 5%.

Tabela 6 - Valores médios do número de vagens por planta (NVP) (Unidade), número de grãos por vagem (NGV) (Unidade), peso de cem (100) sementes (p.100sem.) (g), rendimento de grãos (RG) (kg ha⁻¹), teor de nitrogênio no grão (TNG %), acúmulo de nitrogênio no grão (ANG) (mg planta⁻¹), cultivar BRS Guariba do município de São Luís – MA⁽¹⁾

Tratamento	NVP Unid.	NGV Unid.	p.100 sem g	RG kg ha ⁻¹	TNG %	ANG mg planta ⁻¹	
						CC	SC
UFLA 3-153	3,64 b	9,34 a	21,35 b	1.1153,41 b	4,62 a	367,41 bA	300,91 aB
UFLA 3-154	3,56 b	8,28 b	20,92 b	978,27 c	4,22 b	276,88 cA	240,15 bA
UFLA 3-164	3,38 b	8,61 b	21,00 b	970,20 c	4,07 c	274,11 cA	220,28 bA
UFLA 3-84	3,68 b	7,64 b	20,83 b	923,04 c	3,94 c	234,55 cA	217,28 bA
INPA 3-11B	3,14 b	9,59 a	20,66 b	980,36 c	4,27 b	274,94 cA	248,18 bA
SN	3,59 b	8,04 b	21,12 b	982,84 c	4,14 b	298,35 cA	210,86 bB
CN	4,79 a	8,00 b	23,26 a	1.430,08 a	4,78 a	504,38 aA	354,90 aB
Calagem							
Sem	3,59 a	8,15 b	20,90 b	959,31 b	4,23 b		
Com	3,78 a	8,85 a	21,72 a	1.160,18 a	4,35 a		
CV (%)	13,01	11,73	4,03	12,67	2,20	14,06	

(1) Na coluna, médias seguidas pela mesma letra minúscula e na linha, pela mesma letra maiúscula, pertencem ao mesmo grupo, segundo o teste de Scott-Knott a 5%.

A acidez média do solo, o elevado nível de saturação por Al^{3+} e a deficiência de Ca^{2+} e Mg^{2+} (Tabela 2) não foram limitantes para a nodulação das estirpes avaliadas (Tabela 5). De acordo com Correa e Barneix (1997), a acidez induz o rizóbio a diminuir o seu crescimento como mecanismo de resposta adaptativa ao meio. Porém, se as concentrações de H^+ e Al^{3+} forem elevadas pode provocar redução significativa da densidade populacional e da sobrevivência de rizóbio no solo (EDWARDS; KANG; DANSO, 1981; KEYSER; MUNNS, 1979). Analisando-se o número e a produção de massa seca de nódulos, observou-se que não houve efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem sobre os tratamentos (Tabela 5), logo se pode inferir que as estirpes avaliadas, assim como a população nativa de rizóbio, são tolerantes ao pH e ao alumínio do solo. Esses resultados corroboram os de Soares et al. (2014) que também mostraram a tolerância *in vitro* das estirpes UFLA 3-153, UFLA 3-154, UFLA 3-164, UFLA 3-84 e INPA 3-11B a pH 5,0 e ao alumínio.

O desenvolvimento de mecanismos de adaptação às condições adversas do solo em estirpes de crescimento lento tem sido relatado por vários autores (BORDELEAU; PRÉVOST, 1994; CORREA; BARNEIX, 1997; FERREIRA et al., 2012; GRAHAM; DRAEGER; FERREY, 1994; HORST, 1985, 1987; KEYSER; MUNNS, 1979; LIMA et al., 2009; NORRIS, 1967). Dentre esses mecanismos, a alcalinização, desenvolvida para reversão da acidez, foi descrita para todas as estirpes, com exceção da INPA 3-11B, avaliadas em São Luís, caracterizadas pelo hábito de crescimento lento (6 - 10 dias) (MOTTA, 2002; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013; SOARES et al., 2014). Foi verificado que a acidez do solo, a

concentração de alumínio e a deficiência de nutrientes não reduziram a nodulação conforme relatos de outros autores para estirpes de crescimento rápido (BROCKWELL; PILK; HOLLIDAY, 1991; GRAHAM et al., 1982; IBEKWE et al., 1997; ZAHRAN, 1999).

Entre as fontes de nitrogênio, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) relativas ao número e à massa seca de nódulos entre os tratamentos inoculados, com exceção da testemunha nitrogenada que apresentou os menores valores (Tabela 5), portanto, foi o único fator de fertilidade do solo que influenciou negativamente na simbiose confirmando os dados de Moreira e Siqueira (2006).

O número e massa seca de nódulos foram consideravelmente altos, estando próximos aos observados por outros autores em experimentos de campo no Maranhão (GUALTER et al., 2011; SANTOS; AGUIAR; MOURA, 2011).

Na avaliação da massa seca da parte aérea e eficiência relativa, observou-se que não houve efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem sobre os tratamentos.

A maior produção de massa seca da parte aérea foi observada no tratamento sem inoculação e com 80 kg ha^{-1} N mineral (Tabela 5). Os demais tratamentos apresentaram valores de massa seca da parte aérea intermediários não diferindo entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A variável eficiência relativa não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos inoculados e o controle sem inoculação e sem N mineral (Tabela 5). Essa semelhança comprova a capacidade da população nativa em estabelecer simbiose eficiente com feijão-caupi, leguminosa considerada promíscua (GUIMARÃES et al., 2012;

JARAMILLO et al., 2013; NORRIS, 1967). Resultados semelhantes foram obtidos por Rufini et al. (2014) trabalhando com eficiência simbiótica de rizóbio inoculado em feijão-caupi em um Latossolo Vermelho eutrófico em Minas Gerais.

A calagem influenciou significativamente ($p < 0,05$) o teor de nitrogênio da parte aérea que apresentou maiores teores nos tratamentos com calagem. Constatou-se a formação de dois grupos e o controle nitrogenado (80 kg ha^{-1}) foi o que mais se destacou entre os tratamentos. O segundo grupo foi formado pelos tratamentos inoculados com as estirpes avaliadas e o controle sem inoculação e sem nitrogênio mineral que não diferiram ($p < 0,05$) entre si (Tabela 5). Embora significativo, não houve grandes variações no teor de N na parte aérea entre os tratamentos inoculados (Tabela 5). O efeito de diluição pode ser a causa do baixo teor de N na massa seca da parte aérea do tratamento inoculado com a estirpe INPA 3-11B, já que as variáveis massa seca de nódulos e massa seca da parte aérea desse tratamento apresentaram altos valores de média (Tabela 5). No entanto, todos os tratamentos tiveram teor de N satisfatório, ou seja, maiores que 3%.

Os teores de nitrogênio na parte aérea, relativamente altos comparados a outros autores (ANELE et al., 2010, 2011; COSTA et al., 2011; EDWARDS; KANG; DANSO, 1981), indicam que não houve uma limitação de N para o crescimento vegetal (Tabela 5).

O acúmulo de nitrogênio na parte aérea não indicou efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem (Tabela 5). Assim como observado para o teor de nitrogênio na parte aérea, o tratamento com nitrogênio obteve o maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea, seguido pelos

demais tratamentos (Tabela 5). A semelhança entre os resultados do acúmulo de nitrogênio na parte aérea entre o controle sem inoculação e sem nitrogênio e os demais tratamentos inoculados pode ser explicado pela melhoria do ambiente do solo devido ao efeito da calagem que pode ter favorecido a atividade de bactérias nativas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; NOVAIS et al., 2007).

A cultivar BRS Guariba mostrou-se tolerante à acidez, pois o pH de 5,2 e baixa fertilidade natural do solo não limitaram a nodulação e, durante a condução do experimento, não foi observada visualmente a inibição no crescimento de raiz nem sintomas de deficiência, principalmente nitrogênio, confirmando a adaptação de cultivares de feijão-caupi à acidez e à baixa fertilidade do solo observada por outros autores (EDWARDS; KANG; DANSO, 1981; HORST, 1985, 1987; HORST; WAGNER; MARSCHNER, 1983; JEMO et al., 2007).

Na segunda avaliação (75 DAE), com exceção do número de vagens por planta, foi verificado efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem em todas as variáveis analisadas na fase de maturação (Tabela 6). Isso mostra que apesar de tolerante, a cultivar BRS Guariba responde ao aumento da disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente com ganhos de produtividade. Observou-se também, efeito significativo ($p < 0,05$) dos tratamentos em relação a todas as variáveis analisadas nesta fase.

Com relação ao número de vagens por planta, o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) mostrou que o tratamento com 80 kg ha^{-1} de N mineral apresentou o maior número de vagens por planta (Tabela 6). Os tratamentos inoculados não diferiram do controle sem N mineral. O maior

acúmulo de N na parte aérea do tratamento controle sem N mineral influenciado pela calagem (Tabela 5) pode ter garantido a esse tratamento a produção de vagens semelhante aos tratamentos inoculados que apresentaram pequenas variações entre si (Tabela 6).

Para a variável número de grãos por vagem, observou-se que a calagem influenciou significativamente ($p < 0,05$) todos os tratamentos, com média geral superior aos mesmos tratamentos sem calagem. Como não houve efeito significativo da interação calagem e inoculantes, infere-se que o feijão-caupi cv. BRS Guariba se beneficia do aumento da mineralização da matéria orgânica, do aumento da disponibilidade de Ca^{2+} , Mg^{2+} , P, Mo, dentre outras melhorias do solo proporcionadas pela calagem.

Quanto ao efeito das fontes de nitrogênio, foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, com destaque para as estirpes UFLA 3-153 e INPA 3-11B, aprovadas como inoculantes, que apresentaram o maior número de grãos por vagem. O efeito de diluição pode explicar esse resultado, já que a grande produção de massa seca da parte aérea do tratamento (Tabela 5) pode ter diluído o teor de nitrogênio nos tecidos da planta, mas como o N é um nutriente muito móvel no floema, na fase de enchimento de grãos que é muito exigente nesse nutriente, o feijão-caupi pode ter redistribuído o nitrogênio para os drenos que estavam sendo formados. Os demais tratamentos inoculados não diferiram dos controles com e sem N mineral (80 kg ha^{-1}).

A calagem também influenciou significativamente ($p < 0,05$) o peso de grãos (Tabela 6). Com relação ao efeito das fontes de nitrogênio,

observou-se que o tratamento sem inoculação e com 80 kg ha^{-1} apresentou o maior peso de sementes, seguido dos demais tratamentos (Tabela 6).

O rendimento de grãos variou significativamente tanto entre as fontes de nitrogênio como pela aplicação da calagem (Tabela 6). O efeito significativo ($p < 0,05$) da calagem ratifica a resposta da cultivar BRS Guariba na melhoria da fertilidade do solo. Os tratamentos com calagem apresentaram rendimento de grãos superior aos mesmos tratamentos sem calagem (Tabela 6). Este mesmo efeito foi observado, como visto, para o número de grãos por vagem, uma das variáveis que influenciaram no rendimento de grãos. Alguns autores não encontraram efeito de calagem na fixação de N_2 e na produção de feijão-caupi (COSTA; STAMFORD, 1991), no entanto Cravo, Smyth e Brasil (2012) e Melo, Cardoso e Ribeiro (1992) obtiveram respostas significativas da calagem na produtividade de feijão-caupi.

Na influência das doses de nitrogênio, observou-se que o tratamento sem inoculação com a 80 kg ha^{-1} de nitrogênio mineral influenciou na maior produtividade do feijão-caupi (Tabela 6). A UFLA 3-153 superou as estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B e obteve o maior rendimento de grãos entre os tratamentos inoculados. O controle sem inoculação e sem N mineral apresentou rendimentos de grãos semelhantes aos demais tratamentos inoculados, confirmando a resposta do feijão-caupi à aplicação de calcário (Tabela 6). Outros autores observaram rendimentos de grãos semelhantes entre o controle sem N mineral e as estirpes UFLA 3-84 e INPA 3-11B, com valores próximos aos obtidos em São Luís (RUFINI et al., 2014). A menor média de produtividade observada foi no tratamento inoculado

com a estirpe UFLA 3-84, no entanto a produtividade foi, assim como em Dom Pedro, de quase duas vezes mais a média de produtividade do Maranhão (462 kg ha^{-1}), o que se deve à adubação fosfatada.

O teor e o acúmulo de nitrogênio no grão também indicaram a influência significativa da calagem, com médias superiores nos tratamentos com esse manejo. O acúmulo de nitrogênio no grão mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) da interação entre calagem e inoculantes, observada nos tratamentos sem inoculação com e sem nitrogênio mineral (Tabela 6). Isso mostra que o feijão-caupi responde à melhoria de fertilidade do solo propiciado pela calagem, mas não as estirpes avaliadas, confirmando suas tolerâncias à acidez do solo.

Com relação ao efeito das fontes de nitrogênio, observou-se efeito significativo entre os tratamentos (Tabela 6). O teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) revelou que para o teor de nitrogênio na parte aérea, o tratamento sem inoculação e com 80 kg ha^{-1} de N mineral não diferiu do inoculado com a UFLA 3-153. O mesmo resultado foi observado para o acúmulo de N na parte aérea sem calagem (Tabela 6). Resultados semelhantes foram observados por outros autores que não encontraram diferença do teor de N nos grãos em relação aos tratamentos inoculados com as estirpes ULFA 3-84 e INPA 3-11B (SOARES et al., 2006). O tratamento sem inoculação e sem N mineral apresentou teor de nitrogênio no grão superior ao inoculado com a estirpe UFLA 3-84 (Tabela 6). O controle sem N mineral não diferiu das estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B. Outros autores observaram resultados semelhantes (RUFINI et al., 2014).

4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Ressalta-se que a produtividade obtida nestes experimentos (Dom Pedro: 797 a 1.621 kg ha⁻¹; São Luís: 995 a 1.657 kg ha⁻¹ com calagem e 814 a 1.203 kg ha⁻¹ sem calagem) foram bem superiores à média do estado (461 kg ha⁻¹), isso se deve não só ao incremento devido à inoculação com as estirpes, mas também à adubação fosfatada, suprimindo a principal limitação dos solos tropicais, principalmente em Dom Pedro. Embora a produtividade com a adubação nitrogenada tenha sido superior à inoculação, as vantagens econômicas e ecológicas da segunda compensam o seu uso (SOUSA; MOREIRA, 2011).

5 CONCLUSÕES

É recomendada a inoculação do feijão-caupi com as estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 para o sistema de agricultura familiar e para o sistema de cultivo intensivo no estado do Maranhão.

As estirpes UFLA 3-153 e UFLA 3-164 são mais eficientes em fixar nitrogênio atmosférico que as estirpes aprovadas como inoculantes UFLA 3-84 e INPA 3-11B, garantindo aumento de produtividade no Maranhão.

O feijão-caupi responde em produtividade à melhoria da fertilidade do solo proporcionada pela calagem e, portanto, é recomendado o uso dessa prática na produção do feijão-caupi nos municípios de Dom Pedro e São Luís - MA.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), à Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao CNPq e à CAPES pelo auxílio financeiro concedido para a realização do trabalho e pelas bolsas de pesquisa cedidas aos estudantes e pesquisador.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the agronomic efficiency of strains approved as inoculants for caupi-bean, as well as three new strains in selection phase and the influence of liming over symbiosis and culture productivity in areas in the state of Maranhão, Brazil. Two field experiments were conducted in the municipalities of Dom Pedro and São Luís, using the caupi-bean cv. BRS Guariba. In the first, the design was in randomized blocks with 4 replicates and 7 treatments. In the second, the design was a 7 x 2 factorial scheme, with liming as the second factor. The agronomic efficiency of the strains was determined by the dry mass of nodules, shoot dry mass, content and accumulation of N in the shoot, number of pods/plant, number of grains/pod, grain yield and content and accumulation of N in the grain. Strains UFLA 3-153 and UFLA 3-164 are highlighted in the agronomic efficiency in Dom Pedro and UFLA 3-153 in São Luís. Strains UFLA 3-153 and UFLA 3-164 are more efficient than the strains approved as inoculant, UFLA 3-84 and INPA 3-11B, and are recommended for inoculation of the caupi-bean in Maranhão. The strains and BRS Guariba cultivar presented tolerance to soil acidity, however, the caupi-bean responds in productivity to the improvement in soil fertility provided by the liming.

Keywords: *Vigna unguiculata*. *Bradyrhizobium*. Tolerance to acidity. Efficiency. Productive system.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, V. H. et al. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A. et al. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 359.

ANELE, U. Y. et al. Chemical characterization, in vitro dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulm varieties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 163, n. 2/4, p. 161-169, 2011.

ANELE, U. Y. et al. Effects of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulms as a feed supplement on voluntary intake, utilization and blood profile of West African dwarf sheep fed a basal diet of Pennisetum purpureum in the dry season. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 159, n. 1/2, p. 10-17, July 2010.

ATKINS, C. A. et al. Economy of carbon and nitrogen in nodulated and non-nodulated (NO₃-grown) cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 66, p. 978-983, 1980.

BAMBARA, S.; NDAKIDEMI, P. A. The potential roles of lime and molybdenum on the growth, nitrogen fixation and assimilation of metabolites in nodulated legume: A special reference to *Phaseolus vulgaris* L. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 17, p. 2482-2489, 2010.

BIAN, M. et al. Molecular approaches unravel the mechanism of acid soil tolerance in plants. **The Crop Journal**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 91-104, 2013.

BORDELEAU, L. M.; PRÉVOST, D. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. **Plant and Soil**, The Hague, v. 161, n. 1, p. 115-125, Apr. 1994.

BROCKWELL, J.; PILK, A.; HOLLIDAY, R. A. Soil pH is a major determinant of the numbers of occurring *Rhizobium meliloti* in non-cultivated soils in central New South Wales. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 31, n. 2, p. 211-219, 1991.

CORREA, O. S.; BARNEIX, A. J. Cellular mechanisms of pH tolerance in *Rhizobium loti*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 153-157, 1997.

CORREA, O. S.; RIVAS, E. A.; BARNEIX, A. J. Cellular envelopes and tolerance to acid pH in *Rhizobium loti*. **Current Microbiology**, New York, v. 38, n. 6, p. 329-334, 1999.

COSTA, E. M. et al. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp por cepas de rizóbio no Pólo de produção Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 1-7, jan./mar. 2011.

COSTA, J. P. V.; STAMFORD, N. P. Efeito de fontes, doses, e granulometrias de calcários na fixação do N₂ e no estado nutricional de caupi. **Ciência Agrícola**, Maceió, v. 1, n. 1, p. 37-48, 1991.

CRAVO, M. S.; SMYTH, T. J.; BRASIL, E. C. Calagem em latossolos amarelo distrófico da Amazônia e sua influência em atributos químicos do solo e na produtividade de culturas anuais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 895-907, maio/jun. 2012.

DOBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, London, v. 210, p. 850-852, 1966.

EDWARDS, D. G.; KANG, B. T.; DANSO, K. S. Differential response of six cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cultivars to liming in an Ultisol. **Plant and Soil**, The Hague, v. 59, p. 61-73, 1981.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FERREIRA, E. M.; CASTRO, I. V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 27, n. 9, p. 1177-1183, Sept. 1995.

FERREIRA, L. V. M. et al. Biological nitrogen fixation in production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, family farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 5, n. 4, p. 153-160, Mar. 2013.

FERREIRA, P. A. A. et al. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 1947-1959, 2012.

FREIRE FILHO, F. R. et al. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 2011. 84 p.

GRAHAM, P. H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, p. 475-484, 1992.

GRAHAM, P. H. et al. Variation in acid soil tolerance among strains of *Rhizobium phaseoli*. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 5, p. 121-128, 1982.

GRAHAM, P. H.; DRAEGER, K. J.; FERREY, M. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 40, p. 198-210, Jan. 1994.

GUALTER, R. M. R. et al. Agronomic efficiency of rhizobia strains in cowpea cultivated in the Pre-Amazon region, in Maranhao state. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 303-308, mar. 2011.

GUIMARÃES, A. A. et al. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the Western Amazon by using cowpea as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, July 2012.

HERRIDGE, D. F.; PATE, J. S. Utilization of net photosynthate for nitrogen fixation and protein production in an annual legume. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 60, n. 5, p. 759-764, 1977.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. Sacramento: California Agricultural Experimental Station, 1950. 39 p. (Circular, 347).

HORST, W. J. Aluminium tolerance and calcium efficiency of cowpea genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 10, n. 9/16, p. 1121-1129, 1987.

HORST, W. J. Quick screening of cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes for aluminium tolerance in an aluminium-treated acid soil. **Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkund**, Berlin, v. 148, p. 335-348, 1985.

HORST, W. J.; WAGNER, A.; MARSCHNER, H. Effect of aluminium on root growth, cell-division rate and mineral element contents in roots of *Vigna unguiculata* genotypes. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Berlin, v. 109, n. 2, p. 95-103, 1983.

IBEKWE, A. M. et al. Enumeration and N₂ fixation potential of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolli* grown in soil with varying pH values and heavy metal concentrations. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 61, n. 2/3, p. 103-111, Feb. 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.
Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, 2013.
83 p.

JACOMINE, P. K. T. et al. **Levantamento exploratório-reconhecimento de solos do Estado do Maranhão**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SNLCS/SUDENE-DRN, 1986. 964 p. (Boletim de Pesquisa, 35. Série Recursos de Solos, 17).

JARAMILLO, P. M. D. et al. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, n. 6, p. 397-404, nov./dez. 2013.

JEMO, M. et al. Aluminium resistance of cowpea as affected by phosphorus-deficiency stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 164, n. 4, p. 442-451, 2007.

KEYSER, H. H.; MUNNS, D. N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum, and phosphate. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 43, n. 3, p. 519-523, 1979.

KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils?: mechanisms of aluminium tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 459-493, 2004.

KOPITTKE, P. M. et al. Calculated activity of Mn^{2+} at the outer surface of the root cell plasma membrane governs Mn nutrition of cowpea seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 11, p. 3993-4001, 2011.

LIMA, A. S. et al. Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Region as indicated by nodulation of siratro (*Macroptilium atropurpureum*). **Plant and Soil**, The Hague, v. 320, n. 1/2, p. 127-145, 2009.

LOPES, A. S.; COX, F. R. A survey of the fertility status of surface soils under "Cerrado" vegetation in Brazil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 41, n. 4, p. 742-747, 1977.

MARANHÃO. Gerência de Estado de Planejamento e Desenvolvimento Econômico. Laboratório de Geoprocessamento. **Atlas do Maranhão**. 2. ed. São Luís, 2002. 44 p.

MARON, L. G. et al. Aluminum tolerance in maize is associated with higher MATE1 gene copy number. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 110, n. 13, p. 5241-5246, 2013.

MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 134, n. 1, p. 1-20, July 1991.

MELO, F. de B.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q. Influência da calagem e da adubação fosfatada na produção de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUARIA DO PIAUI, 7., 1992, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 1997. p. 144-149.

MILLER, L. J.; SCHWARTING, R.; SPRINGER, T. A. Regulated expression of the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoprotein family during leukocyte differentiation. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 137, n. 9, p. 2891-2900, 1986.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOTTA, J. S. **Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de áreas de mineração de bauxita reabilitadas**. 2002. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

NORRIS, D. O. The intelligent use of inoculants and lime pelleting for tropical legumes. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 1, p. 107-121, 1967.

NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017 p.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. et al. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 1239-1250, Nov. 2013.

RUFINI, M. et al. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 50, n. 1, p. 115-122, Jan. 2014.

SANTOS, J. G. D.; AGUIAR, A. C. F.; MOURA, E. G. Soil management and efficiency of rhizobia strains of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in the tropics. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Santiago de Chile, v. 71, n. 4, p. 594-600, Oct./Dec. 2011.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões, MG: I., caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 795-802, set./out. 2006.

SOARES, B. L. et al. Cowpea sybiotic efficiency, pH and aluminium tolerance in nitrogen-fixing bacteria. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 71, n. 3, p. 171-180, maio/jun. 2014.

SOUSA, P. M.; MOREIRA, F. M. S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. **Revista em Extensão**, Uberlândia, v. 10, n. 2, p. 37-54, jul./dez. 2011.

ZAHRAN, H. H. *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Victoria, v. 63, n. 4, p. 968-989, Dec. 1999.