



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II – AREIA-PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

JOÃO PEDRO FIGUEIRÊDO DOS SANTOS GONÇALVES

**SELEÇÃO DE RIZÓBIOS PARA FEIJÃO-CAUPI RESISTENTES À SALINIDADE
DO SOLO ORIUNDOS DO BREJO PARAIBANO**

**AREIA
2020**

JOÃO PEDRO FIGUEIRÊDO DOS SANTOS GONÇALVES

**SELEÇÃO DE RIZÓBIOS PARA FEIJÃO-CAUPI RESISTENTES À SALINIDADE
DO SOLO ORIUNDOS DO BREJO PARAIBANO**

Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do
Centro de Ciências Agrárias, da Universidade
Federal da Paraíba, em cumprimento às
exigências para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador(a): Dra. Adriana Ferreira Martins.

**AREIA
2020**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G635s Gonçalves, João Pedro Figueirêdo dos Santos.

Seleção de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade do solo oriundos do brejo paraibano / João Pedro Figueirêdo dos Santos Gonçalves. - Areia, 2020.

43 f. : il.

Orientação: Adriana Ferreira Martins.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Brejo da Paraíba. 2. FBN. 3. Feijão-caupi. 4. Rizóbios nativos. 5. Salinidade. I. Martins, Adriana Ferreira. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

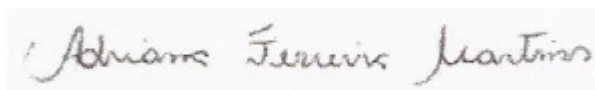
JOÃO PEDRO FIGUEIRÊDO DOS SANTOS GONÇALVES

SELEÇÃO DE RIZÓBIOS PARA FEIJÃO-CAUPI RESISTENTES À SALINIDADE DO
SOLO ORIUNDOS DO BREJO PARAIBANO

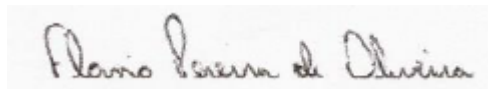
Trabalho de graduação apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do
Centro de Ciências Agrárias, da Universidade
Federal da Paraíba, em cumprimento às
exigências para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em: 20/04/2020.

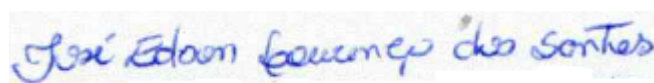
BANCA EXAMINADORA



Dra. Adriana Ferreira Martins (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Dr. Flavio Pereira de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Eng. Agr. José Edson Lourenço dos Santos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus avós, **(João José e Maria de Fátima)** e
minha mãe, **(Maria Verônica)** pelo amor, confiança e
apoio incondicional, dedico esta vitória.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, pela oportunidade da vida e por sempre confiar em mim nesta trajetória.

Aos meus avós, João José e Maria de Fátima pelo papel de pais em minha vida, sempre dando amor, carinho, apoio e educação no qual serei eternamente grato.

A minha mãe, Maria Verônica, por todo amor e carinho, e por todo esforço para realização deste sonho.

A Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências Agrárias pelo suporte ao longo da graduação.

A minha orientadora professora Adriana Ferreira Martins, pela confiança, paciência, compreensão e por ter me dado todo suporte necessário para meu crescimento pessoal e profissional.

A minha namorada Byanca, na qual foi minha companheira nessa jornada acadêmica e que sempre me apoiou.

As amizades que formei em minha vida acadêmica, no qual tive momentos eternos e descontraídos, Iêgo Borges, Juscelino Teixeira, Nabor Galvão, Pedro Luan, Igor Oliveira, Alison José, Matheus Sirino e Audo Neto e a Leandro Fernandes pelos momentos de parceria durante o curso.

Aos professores em que foram de fundamental importância para a realização deste trabalho, Flavio Pereira, Raphael Beirigo, Roseilton Fernandes e Bruno de Oliveira.

Ao colega Jardel Souza pela paciência e ensinamentos na Iniciação Científica, e a Júlia Eudócia pela ajuda neste trabalho.

“Tudo parece impossível, até que seja feito.”

Nelson Mandela

RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma das principais fontes de alimentação e renda para os agricultores familiares do semiárido nordestino. Contudo, a sua produtividade é relativamente baixa, devido o feijão ser cultivado em sistemas convencionais com baixo emprego tecnológico. A utilização de inoculantes pode reduzir esse impacto, elevando os ganhos de produtividade. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar isolados de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade do solo oriundos do brejo Paraibano. O ensaio foi conduzido na Unidade de Pesquisa em Microbiológica do Solo, pertencente ao Departamento de Solos e Engenharia Rural, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba e localizada no município de Areia-PB. Os isolados de rizóbios para feijão-caupi é pertencente à coleção do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 10 tratamentos e 5 repetições: T₁- UPMS/UFPB VU05; T₂-UPMS/UFPB VU01; T₃- UPMS/UFPB VU12;T₄- UPMS/UFPB VU14;T₅- Nitrogênio; T₆- UPMS/UFPB VU04; T₇- UPMS/UFPBVU08; T₈- Recomendada (03-84-6/2010); ; T₉- UPMS/UFPB VU31; T₁₀- Testemunha (solo autoclavado). As sementes foram desinfetadas, inoculadas e semeadas em substrato a base de solo peneirado e autoclavado em garrafas pet com capacidade de 0,5 dm⁻³, com uma unidade experimental correspondente a duas plantas por vaso. 35 dias após a emergência das plantas foram avaliadas seguintes variáveis: altura de planta, número de folhas, tamanho de folhas, peso de matéria verde e seca, número de nódulos, peso verde e seco de nódulos, acúmulo de nitrogênio na parte aérea, índice de fixação relativa e crescimento em meio salino com KCl e NaCl As médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott (p<0,01). Conclui-se que a inoculação com diferentes estirpes de rizóbios nativos não exerceu efeito significativo para as variáveis acúmulo de nitrogênio na parte aérea, altura de planta, peso de massa verde, peso de massa seca, número de folhas e tamanho de folhas. A inoculação com estirpes nativas foi significativa para o número de nódulos, peso de nódulos verdes, peso de nódulos secos e índice de eficiência relativa de fixação de nitrogênio. As estirpes UPMS/UFPB VU08, UPMS/UFPB VU12 e UPMS/UFPB VU31, apresentaram maior resistência as concentrações de KCl e NaCl.

Palavras-Chave: Brejo da Paraíba. FBN. Feijão-caupi. Rizóbios nativos. Salinidade.

ABSTRACT

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) is one of the main sources of food and income for family farmers in the northeastern semiarid. However, its productivity is relatively low, since beans are grown in conventional systems with low technological use. The use of inoculants can reduce this impact, increasing productivity gains. Therefore, the objective of this work was to evaluate rhizobia isolates for cowpea resistant to soil salinity from the Brejo Paraibano. The test was conducted at the Soil Microbiological Research Unit, belonging to the Department of Soils and Rural Engineering, of the Agricultural Sciences Center, of the Federal University of Paraíba and located in the municipality of Areia-PB. The rhizobia isolates for cowpea are part of the collection of the Center of Agricultural Sciences of the Federal University of Paraíba. The experimental design was completely randomized (DIC), with 10 treatments and 5 repetitions: T1- UPMS/UFPB VU05; T2-UPMS/UFPB VU01; T3- UPMS/UFPB VU12; T4- UPMS/UFPB VU14; T5- Nitrogen; T6- UPMS/UFPB VU04; T7- UPMS/UFPB VU08; T8- Recommended (03-84-6/2010); ; T9- UPMS/UFPB VU31; T10- Witness (autoclaved soil). The seeds were disinfected, inoculated and sown on a substrate based on sieved soil and autoclaved in PET bottles with a capacity of 0.5 dm⁻³, with an experimental unit corresponding to two plants per pot. 35 days after plant emergence, the following variables were evaluated: plant height, number of leaves, leaf size, weight of green and dry matter, number of nodules, green and dry weight of nodules, nitrogen accumulation in the aerial part, relative fixation index and growth in saline with KCl and NaCl. The averages were compared using the Scott Knott test ($p < 0.01$). It was concluded that inoculation with different strains of native rhizobia did not have a significant effect on the variables nitrogen accumulation in the aerial part, plant height, green mass weight, dry mass weight, number of leaves and leaf size. The inoculation with native strains was significant for the number of nodules, weight of green nodules, weight of dry nodules and relative efficiency index of nitrogen fixation. The UPMS/UFPB strains VU08, VU12 and VU31 showed higher resistance to KCl and NaCl concentrations in culture medium.

Keywords: Brejo da Paraíba. FBN. Cowpea. Native rhizobia. Salinity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Colônias bacterianas inoculadas em placa com líquido de levedura-manitol	20
Figura 2 -	Culturas inoculadas em frascos contendo as concentrações de NaCl 0,1; 4;8;12;16 e 20 gL ⁻¹ -----	22
Figura 3 -	Acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea de feijão caupi em função da inoculação com estirpes de <i>Rhizóbium</i> e adubação nitrogenada -----	28
Figura 4 -	Índice de eficiência relativa de fixação de nitrogênio (N) dos isolados -----	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização de química e fertilidade do solo utilizado nos experimentos, Areia - PB -----	19
Tabela 2 -	Identificação dos rizóbios utilizados no experimento, Areia-PB -----	20
Tabela 3 -	Condutividade elétrica em diferentes concentrações de NaCl no meio líquido de levedura-manitol-----	21
Tabela 4 -	Condutividade elétrica em diferentes concentrações de KCl líquido de levedura-manitol-----	21
Tabela 5 -	Crescimento de rizóbios de <i>Vigna unguiculata</i> L., Walp sob meio líquido levedura-manitol com diferentes concentrações de KCl aos 7 dias-----	25
Tabela 6 -	Crescimento de rizóbios de <i>Vigna unguiculata</i> L. Walp, sob meio líquido levedura-manitol com diferentes concentrações de NaCl aos 7 dias -----	26
Tabela 7 -	Altura de planta (AP), peso de matéria verde e seca (PMV e PMS), número de folhas (NF) e tamanho de folhas (TF) em feijão-caupi sob inoculação-----	31
Tabela 8 -	Número de nódulos (NNOD), peso de nódulos verdes (PNV) e secos (PNS) de feijão-caupi inoculado com diferentes estipes de <i>Rhizobium</i> -----	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Altura de planta
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
IFR	Índice de fixação relativa de nitrogênio
KCl	Cloreto de potássio
NaCl	Cloreto de sódio
NF	Número de folhas
NNOD	Número de nódulos
PMS	Peso da Massa seca
PMV	Peso da massa verde
PNV	Peso de nódulos verdes
PNS	Peso de nódulos secos
TF	Tamanho de folha
UFC	Unidade formadora de colônias
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	A cultura do feijão-caupi -----	13
2.2	Salinidade do solo e sua relação com o desenvolvimento das culturas -----	14
2.3	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)-----	16
2.4	OBJETIVOS -----	17
2.4.1	<i>Geral -----</i>	<i>17</i>
	<i>Específicos -----</i>	<i>17</i>
3.	MATERIAL E MÉTODOS -----	19
3.1	Caracterização da área experimental -----	19
3.2	Autenticação e certificação da coleção de culturas -----	19
3.3	Avaliação dos isolados de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade	20
3.4	Avaliação da eficiência dos isolados na fixação simbiótica de nitrogênio em solo salino -----	23
3.5	Análise estatística -----	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	25
5	CONCLUSÕES -----	35
	REFERÊNCIAS -----	36

1 INTRODUÇÃO

Bactérias conhecidas como rizóbios associam-se simbioticamente com leguminosas em um processo denominado Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) tendo enorme potencial em reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados (RIBEIRO et al., 2012). Os rizóbios têm um grande valor agrícola devido, principalmente, à necessidade na redução do uso de fertilizantes nitrogenados e desempenham um papel importante na melhoria da fertilidade do solo em sistemas agrícolas. Estas bactérias são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico em estruturas específicas localizadas na raiz conhecidas como nódulos.

A inoculação de leguminosas com estirpes eficientes de rizóbio apresenta benefícios econômicos e ecológicos significativos. O interesse no uso de rizóbios como biofertilizantes promoveu diversos estudos sobre a sua diversidade e a descrição de um grande número de espécies (OGUTCU et al., 2009; ELBOUTAHIRI et al., 2010; CORNEA et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012). Dentre as leguminosas que se beneficiam do processo está o feijão-caupi, que apresenta a capacidade de se associar com diversas estirpes de rizóbio de gêneros como *Azorhizobium*, *Paraburkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, dentre outros, o que fornece à planta hospedeira a totalidade do N demandado para o seu desenvolvimento, por meio do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os fatores que influenciam em pesquisas relacionadas ao feijão-caupi são a temperatura, salinidade, umidade, pH do solo, resistência a substâncias tóxicas, entre outros, influenciam a eficiência da simbiose (RUMJANEK et al., 2005) talvez a torne menos interessante. Além dos fatores supracitados, pode ocorrer de rizóbios nativos que são ineficientes na fixação biológica de nitrogênio, podem competir com os rizóbios que são eficientes pelos sítios de infecção na planta hospedeira, deixando o rizóbio eficiente sem formar nódulo, deste modo este é mais um fator que é limitante para o estabelecimento da simbiose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2005).

Segundo L'Taief et al. (2012) o estresse salino afeta diretamente a simbiose dos rizóbios. A seleção de estirpes de rizóbio adaptáveis ao estresse de salinidade e temperatura elevada da região semiárida amplia as chances de sucesso para a introdução e estabelecimento da bactéria na associação com o feijão-caupi, aumentando a produtividade de grãos. (Nóbrega et al., 2004). Para que o processo de fixação biológica de nitrogênio seja eficiente faz-se necessário que sejam selecionadas estirpes nativas adaptadas às condições edafoclimáticas. Esta seleção é feita com o objetivo de se obter um inoculante competitivo capaz de se

estabelecer mais rapidamente no solo e tolerar melhor estresses ambientais como temperatura, salinidade e acidez (SILVA et al., 2002).

Apesar da grande importância socioeconômica e potencial estratégico, principalmente para as regiões Norte e Nordeste, onde constitui um dos mais importantes componentes na dieta alimentar (FREIRE FILHO et al., 2005) as pesquisas com inoculação para o feijão-caupi para o estado da Paraíba são escassas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO FEIJÃO CAUPI

O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) é uma planta dicotiledônea, da ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae (EMBRAPA, 2019). Possui inúmeros grupos em função da diversidade genética apresentada pela família, contudo no Brasil os mais cultivados são o Unguiculata para a produção de grão seco e feijão-verde e, o sesquipedales, mas comumente chamado de feijão-de-metro, para a produção de vagem (EMBRAPA 2011). É uma das culturas mais importantes para as regiões Norte e Nordeste do Brasil, por desempenhar importância fundamental no contexto socioeconômico das famílias de baixa renda, além de ser um alimento com alto valor nutritivo e apresentar um conteúdo considerável de proteína de 60-70% (SOUZA et al., 2005; AZEVEDO et al., 2011).

Dados apontam que 95,3% da produção mundial do feijão caupi encontra-se no continente africano e os países que se destacam na produção mundial da leguminosa são a Nigéria com 2,1 milhões de toneladas, o Níger com 1,6 milhões, Burkina-Faso com 571 mil, Tanzânia com 191 mil e Mianmar, com 115 mil toneladas (FAO, 2015). No Brasil dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) apontaram que na safra 2017/2018 foram cultivados 1.516 mil com uma produtividade de 521 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019). Os estados que se destacam na produção nacional do feijão em ordem decrescente são: MT, CE, PI, PE, MA, PA, BA, PR e RN, produzindo 482,665 toneladas, com uma produtividade estimada em 401 kg ha⁻¹ (EMBRAPA, 2015). No estado da Paraíba, a produção de feijão total para a safra 2018/2019 foi da ordem de 56,5 mil toneladas, e desse total a produção correspondente ao feijão-caupi (todas as safras) foi de 39,7 mil toneladas, ficando atrás dos estados produtores CE e BA (CONAB, 2018).

O feijão vigna (caupi) apresenta alta capacidade de sobrevivência a condições climáticas adversas, tolerando solos de diferentes texturas, ácidos e com baixa fertilidade (CAVALCENTE; PINHEIRO, 1999). Contudo, recomenda-se que as plantas de caupi sejam cultivados em solos com faixa de pH > 5,5 em função da disponibilidade de nutrientes no solo. A adubação deve ser realizada conforme a demanda nutricional da planta, resultado da análise de solo e as normas técnicas do manual de recomendação de adubação para a região (CAVALCENTE; PINHEIRO, 1999).

Os autores ainda salientam que a adubação nitrogenada para o feijão caupi não é recomendada, pois além de elevar os custos de produção, ensaios técnicos têm demonstrado que a cultura não apresenta um rendimento muito expressivo quando se utiliza da adubação química em detrimento de outras formas de fertilização do solo. Geralmente o elemento exportado em maior quantidade pela cultura é o potássio K (OLIVEIRA et al., 2009). A faixa de temperatura adequada para o bom desenvolvimento da cultura varia de 18 a 34°C e a demanda de água durante o ciclo de produção fica entre 250 e 400 mm (PEREIRA et al., 2017).

Quanto ao manejo, as principais pragas que atacam a leguminosa são a paquinha (*Neocurtilla hexadactyla*), vaquinha, lagartas desfolhadoras, pulgões, mosca-branca, a vaquiha e a traça dos grãos (SILVA et al., 2005), cada uma atacando a planta em uma determinada fase do desenvolvimento fenológico, além de atacar os grãos no armazenamento. Em relação as doenças, as de maior ocorrência na cultura do feijão são o oídio, nematoses, cercospora, podridão das vagens, ferrugem, mosaico e murcas bacterianas (FREIRE FILHO et al., 2005).

2.2 SALINIDADE DO SOLO E SUA RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO DAS CULTURAS

A salinidade é uma das principais causas de degradação do solo no Brasil e no mundo e ela pode ser oriunda de causa natural ou antrópica. Dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), estimam que existem atualmente 760.000 km² de terra em todo o mundo com problemas de salinidade ocasionada pela ação antrópica. Salinidade essa que pode reduzir o rendimento das culturas ou eliminar completamente a produção dos vegetais (FAO, 2015). No Brasil a área com problemas de salinidade é de aproximadamente 9 milhões de hectares (CARNEIRO et al., 2002).

É um processo típico de regiões áridas e semiáridas, geralmente resultantes da associação da formação geológica predominante na paisagem, má distribuição de chuvas, drenagem deficiente e exploração agrícola inadequada (PEDROTTI et al., 2015). No Brasil, as regiões onde predominam os solos salinos ou sódicos são o Rio Grande do Sul, Pantanal mato-grossense, e região semiárida do Nordeste (RIBEIRO et al., 2003). O sódio e o cloro são os elementos mais prejudiciais às plantas quando se fala de solos salinizados, pois a presença desses elementos em solução, ocasiona dentre outras coisas, redução no crescimento dos vegetais, em função da redução da capacidade das plantas em absorver, transportar e utilizar alguns dos nutrientes essenciais (CRUZ et al., 2006).

Apesar da salinidade ocasionar modificações morfológicas, estruturais e metabólicas nas plantas, o nível dessa mudança vai depender das espécies que se está cultivando e da tolerância que as mesmas vão apresentar a salinidade (FREITAS et al., 2006). Os autores anteriormente citados, avaliando o efeito da salinidade na germinação e desenvolvimento de meloeiro, verificaram que a salinidade crescente no substrato ocasionou modificações no desenvolvimento das plantas, reduziu a percentagem de germinação, o comprimento das raízes e altura das plantas, levado a morte das mesmas antes dos 21 dias após a semeadura.

O processo de redução de desenvolvimento dos vegetais pela salinidade do solo se dá através da redução da assimilação líquida de carbono, durante as fases de floração e frutificação, associada aos efeitos osmóticos e ao acúmulo de íons potencialmente tóxicos como sódio (Na^+) e cloro (Cl^-) nos tecidos foliares (ASSIS JÚNIOR et al., 2007). Contudo, avaliando o efeito da salinidade sobre a produtividade do feijão-de-corda e o acúmulo de sais no solo em função do processo de lixiviação e irrigação, Assis Júnior et al. (2007) observaram que a salinidade do solo reduziu o crescimento vegetativo e a produtividade do feijão de corda, porém não influenciou nos aspectos qualitativos dos frutos e sementes, provocando ligeiro incremento no índice de colheita.

Esse fato evidência a importância de escolher a cultivar adequada e avaliar qual fase do desenvolvimento a planta está mais suscetível aos efeitos deletérios ocasionados pela salinidade do solo, a fim de que se busquem alternativas para minimizar os danos na colheita. Segundo Zanandrea et al. (2006) os mecanismos de tolerância a salinidade ainda não estão bem elucidados, pelo fato deste fenômeno ser extremamente complexo, ocasionando o fechamento de estômatos, inibição da taxa de fixação de carbono e déficit hídrico com desequilíbrio nutricional.

Outro fato importante está relacionado ao efeito negativo da salinidade sobre a nodulação de raízes das leguminosas, pois, a salinidade do solo, por ser um fator abiótico que

pode prejudicar a simbiose, diminuindo a nodulação e o crescimento das plantas (MEDEIROS et al., 2008). Por ser sensível ao estresse ambiental, particularmente à salinidade do solo, a presença de sais inibe os passos iniciais da infecção bacteriana no sistema radicular, comprometendo a fixação biológica do nitrogênio (FBN) (BOUHMOUCH et al., 2005). Para Cordovilla et al. (1999) o efeito da salinidade sobre a nodulação de bactérias sobre as raízes das leguminosas vai variar por espécie, sendo algumas mais tolerantes que as outras. Medeiros et al. (2008) observaram que a nodulação do feijão-caupi, pelo *Bradyrhizobium* sp., foi reduzida em concentrações salinas superiores a 2 dS m^{-1} , enfatizando a sensibilidade dessa espécie ao incremento de sais solúveis no solo, seja via fertilização ou mesmo pela irrigação inadequada sobre o solo.

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é um processo natural, que ocorre da associação entre as raízes dos vegetais e as bactérias diazotróficas presentes no solo, tendo o nitrogênio (N), como o seu produto principal e é um dos elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais (EMBRAPA, 2020). É um processo eficiente e pode representar contribuições consideráveis na viabilidade econômica e sustentabilidade dos sistemas de produção (BODDEY et al., 1997; PERIN et al., 2004), pois reduz os custos de produção em função da redução de gastos com a adubação com fertilizantes nitrogenados.

Dentre as espécies vegetais, as que se destacam por apresentar simbiose com as bactérias fixadoras de Nitrogênio são as leguminosas, resultando no aporte de quantidades expressivas do N_2 no sistema solo-planta (PERIN et al., 2003). Estima-se que o processo biológico contribua com cerca de 65% de todas as entradas de N, sendo o maior provedor desse nutriente para a manutenção de vida na Terra (HUNGRIA et al., 2007). Ainda nesse contexto, os autores salientam que quase 50% de toda a entrada de nitrogênio na Terra são atribuídos à fixação biológica do N_2 .

A maior contribuição do processo de fixação biológica de nitrogênio ocorre pela associação simbiótica de plantas da família das leguminosas com bactérias dos gêneros *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, que são na maioria das vezes caracterizados apenas como *Rizhobium*, dentre outros (HUNGRIA et al., 2007). Vários trabalhos tem demonstrado a eficiência da inoculação de sementes de feijão-

caupi com estirpes de *Rhizobium*, no aumento de produtividade, a exemplo os trabalhos de Martins et al. (2003) e Lacerda et al. (2004).

Para Melo e Zilli (2009), a inoculação de estirpes bacterianas eficientes é capaz de substituir a adubação nitrogenada em até 80 kg ha⁻¹, na forma de uréia, e aumentar o rendimento de grãos de feijão-caupi em mais de 30%. Embora a cultura apresente ampla capacidade na fixação biológica de nitrogênio (FBN), nem sempre são observadas respostas positivas do uso dos inoculantes comerciais em campo, em razão do feijão-caupi ser cultivado, na maioria das vezes, em condições de subsistência, com baixo aporte tecnológico e apresentar baixa especificidade na nodulação (ZILLI et al., 2008), ou seja, além das bactérias presentes no inoculante, o feijão também faz simbiose com as bactérias nativas, que estão presentes no solo.

Essa baixa especificidade da cultura em relação aos microssimbiontes mostra-se limitante à exploração tecnológica da fixação biológica de nitrogênio, uma vez que as bactérias ondulantes estabelecidas no solo, além de ser competitivas e estarem em número elevado, apresentam eficiência variável na fixação do nitrogênio (THIES et al., 1991; HARA; OLIVEIRA, 2007; MELO; ZILLI, 2009).

Por isso da necessidade de realizar pesquisas que selecionem as estirpes de *Rhizobium* mais eficientes, para cada domínio climático e diferentes regiões do país. Contudo, os estudos sobre a comunidade de bactérias nitrificantes para a cultura do feijão-caupi na zona úmida do bioma Caatinga são escassos (SOUZA; MARTINS, 2019), evidenciando assim, a importância da realização de estudos que caracterizem as bactérias de forma a contribuir com o desenvolvimento agrícola da região.

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Geral

Avaliar isolados de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade do solo oriundos do brejo Paraibano

2.4.2. Específicos

Autenticar e certificar a coleção de culturas da Unidade de Pesquisa Microbiológica do Solo (UPMS), da Universidade Federal da Paraíba- Centro de Ciências Agrárias que contém isolados de rizóbios nativos para plantas de (*Vigna unguiculata*) – feijão-caupi.

Avaliar os isolados de rizóbios para feijão-caupi pertencentes à coleção que sejam resistentes à alta salinidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização experimental

O presente trabalho foi conduzido na Unidade de Pesquisa em Microbiológica do Solo – anexa ao Laboratório de Física do Solo, pertencente ao Departamento de Solos e Engenharia Rural, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba e localizada no município de Areia (PB).

O município está situado na parte oriental mais elevada do maciço da Borborema, com cotas superiores a 600 m em relação ao nível do mar e, o tipo climático que predomina no município, de acordo com a classificação Koppeng, é “As” - quente e úmido, com precipitação média variando entre 600 e 1600 mm anuais (SILVA et al., 2006).

A análise de química e fertilidade do solo utilizado no experimento encontra-se apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização de química e fertilidade do solo utilizado no experimento para seleção de rizóbios resistentes a salinidade do solo. Areia, PB.

pH	CE _{es}	P	K ⁺	Na ⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	M.O.
H ₂ O (1:2,5)	dS/m	- mg dm ⁻³ -	-----			cmol _c dm ⁻³	-----				g kg ⁻¹
6,1	2,71	2,32	61,96	1,34	2,54	0,0	1,52	1,36	3,27	5,82	9,52

CE= Condutividade elétrica, SB= Soma de bases, CTC= Capacidade de troca catiônica, M.O.= Matéria orgânica do solo.

3.2 Autenticação e certificação da coleção de culturas

Através da coleção de culturas obtidas por Souza e Martins (2019), foram-se analisadas as possíveis contaminações no presente material e nas que foram constatadas realizaram-se as recuperações para posterior utilização nos testes de resistência a salinidade. Para procedência da recuperação do material, foram coletadas as colônias bacterianas e inoculadas em nova placa (Figura 1) com meio ágar levedura-manitol com vermelho congo (LMV) (Vincent, 1970), até a obtenção de sua purificação, através da técnica do esgotamento.



Figura 1 - Colônias bacterianas inoculadas em placa com levedura-manitol com vermelho congo.

3.3 Avaliação dos isolados de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade

Foram avaliadas sete estirpes obtidas por Sousa e Martins (2019), no qual foram testados em seus estudos para eficiência na fixação de nitrogênio, pertencentes à UPMS/UFPB/CCA. Como padrão utilizou-se a estirpe recomendada UFLA 03-84-6/2010 aprovada pelo MAPA como inoculante para caupi, cedida pela Prof^a Fátima Maria de Souza Moreira, do Laboratório de Microbiologia do Solo, do Departamento de Ciência do Solo, da Universidade Federal de Lavras (MG) (Tabela 2).

Tabela 2 - Identificação dos rizóbios utilizados no experimento, Areia-PB.

ID – UFPB	ID – LABORATÓRIO	Localidade
Recomendada*	03-84-6/2010	Lavras - MG
UPMS/UFPB Vu 01	DML/MAPB 1004A	Areia - PB
UPMS/UFPB vu 04	DML/MAPB 005B	Areia - PB
UPMS/UFPB vu 05	DML/MAPB 005A	Areia - PB
UPMS/UFPB vu 08	DML/MAPB 1001A	Areia - PB
UPMS/UFPB vu 12	SN R1003 B	Areia- PB
UPMS/UFPB vu 14	SNR1002 A	Areia- PB
UPMS/UFPB vu 31	INOC R2 006 A	Paraná**

Nota: ID = Identificação;UPMS = Unidade de Pesquisa em Microbiológica do Solo;UFPB = Universidade Federal da Paraíba; Vu = *Vigna unguiculata* L., Walp. * Estirpe aprovada pelo MAPA como inoculante para caupi UFLA 3-84 (SEMIA 6461), cedida pela Profª Fátima Maria de Souza Moreira, do Laboratório de Microbiologia do Solo, do Departamento de Ciência do Solo, da Universidade Federal de Lavras (MG). ** Localidade do inoculante. DML/MAPB = Distrito de Mata Limpa, Areia- Paraíba.

O ensaio de resistência à salinidade foi realizado adicionando diferentes concentrações de NaCl por litro do meio líquido levedura-manitol - LM (FREITAS et al., 2007) e ajustando o pH para as faixas de 6,8 e 8,0. Como a salinidade do solo é comumente expressa como condutividade elétrica ou pressão osmótica equivalente na solução de saturação do solo (CARDOSO, 1992), foi determinado também a condutividade elétrica (CE) em dS m^{-1} de cada concentração de KCl em meio LM líquido (Tabela 3). Para o ensaio a resistência à salinidade com NaCl utilizou-se a mesma metodologia, expressando também a condutividade elétrica do meio (Tabela 4).

Tabela 3 - Concentrações de NaCl e condutividade elétrica no meio líquido de levedura-manitol.

Concentração NaCl (g L^{-1})	Condutividade Elétrica (dS m^{-1})
0,1	1,26
4,0	4,41
8,0	0,13
12,0	11,24
16,0	14,05
20,0	16,84

Tabela 4 - Concentrações de KCl e condutividade elétrica no meio líquido de levedura-manitol

Concentração KCL (g L^{-1})	Condutividade elétrica (dSm^{-1})
0	0,58
4	2,41
8	6,17
12	9,42
16	12,16
20	13,65

Preparou-se o inóculo com culturas crescidas em meio líquido de levedura-manitol, agitando-se de forma manual em torno de 30 minutos ao longo do dia, durante sete dias para crescimento das culturas. Logo após, padronizou-se o inóculo em 10^4 células viáveis por mL de meio e as culturas foram inoculadas em recipientes esterelizados em autoclave, com meio líquido de levedura-manitol com as diferentes concentrações de NaCl (Figura 2) e incubadas em agitação manual, pelo período de sete dias. Para o meio com KCl foi utilizado metodologia semelhante.

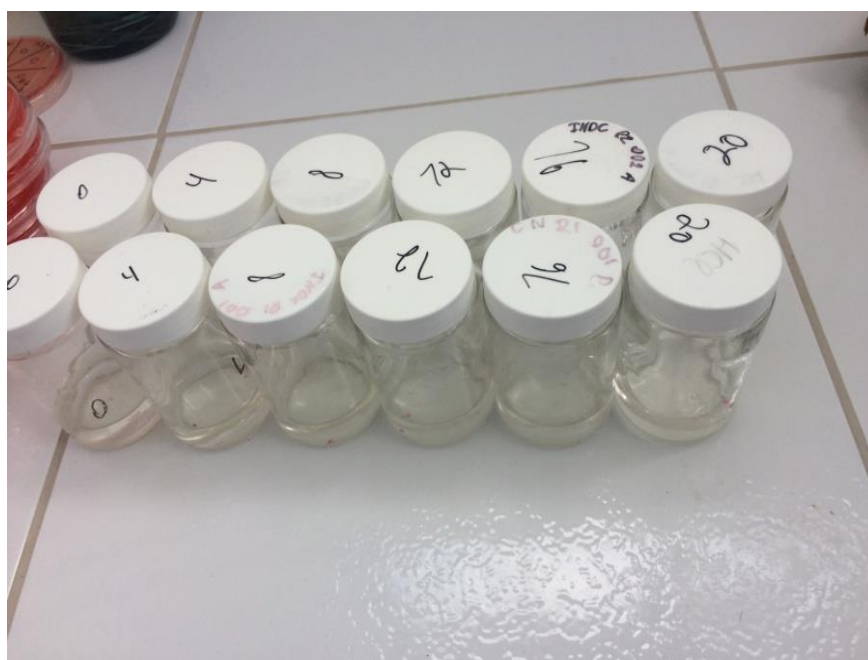


Figura 2 - Culturas inoculadas em recipientes contendo as concentrações de NaCl 0,1; 4;8;12;16 e 20 gL^{-1} .

Completando-se os sete dias prosseguiu-se com o método de gotas (HOBEN; SOMASEGARAN, 1982) para determinação do número de células viáveis. Após 24 horas de incubados, realizou-se a contagem das colônias formadas, sendo realizadas até o sétimo dia. Realizaram-se duas repetições por tratamento e considerados como resistentes os rizóbios que apresentaram número de células viáveis mil vezes maior do que o inóculo (MARTINS et al., 2010).

3.4 Avaliação da eficiência dos isolados na fixação simbiótica de nitrogênio em solo salino

Para o teste com solo salino, obteve-se um solo caracterizado como sálico oriundo de Chã da Pia, distrito do município de Areia-PB, com histórico de uso agrícola, com culturas como feijão e milho. Realizou-se a caracterização de química e fertilidade do solo (Tabela1) e logo após o mesmo foi submetido à esterilização via calor úmido (autoclave) em torno de 120°C por uma hora, repetidas por 8 vezes. A autoclavagem consiste no tratamento térmico úmido que tem como função fornecer altas temperaturas superiores a 100 °C, ou de forma inversa, controlando a temperatura, favorecer pressões superiores à atmosférica; o seu poder de penetração é muito grande e faz com que o microorganismo sofra coagulação das proteínas levando-o à morte (ZAUZA et al., 2007).

As sementes de feijão-caupi foram esterilizadas com auxílio de água destilada autoclavada e hipoclorito de sódio, posteriormente foram submetidas à pré-germinação em papel filtro, mantendo sempre a umidade com água destilada autoclavada e durante o período de 48 horas. O experimento foi realizado com a utilização de recipientes descartáveis de 500 mL contendo o solo salino. Os recipientes foram esterilizados e em cada semente duas sementes previamente desinfestadas e pré-germinadas. Após 48 horas foram inoculadas com os tratamentos contendo as estirpes avaliadas quanto à resistência à alta salinidade. Além dos tratamentos inoculados, também foi conduzido um tratamento utilizando a estirpe aprovada pelo MAPA como inoculante para caupi UFLA 3-84 (SEMIA 6461).

Utilizou-se um tratamento sem inoculação, mas contendo adubação nitrogenada a base de Ureia, sendo utilizado uma solução de 0,200g/L de água destilada autoclavada e outro tratamento testemunha sem o uso de inoculação e adubação nitrogenada. O experimento foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições, com duração de 35 dias. Os recipientes foram regularmente irrigados com água destilada autoclavada.

Aos 35 dias após a implantação do experimento as plantas foram coletadas para determinar: a produção de matéria seca da parte aérea (PMSA), acúmulo de nitrogênio da parte aérea (NPA), número de nódulos (NNo), massa dos nódulos secos (MNos) e determinado o índice de eficiência de fixação de nitrogênio relativa dos isolados (EFNR). A parte aérea foi separada do sistema radicular, acondicionada em sacos de papel e submetida à secagem em estufa a 65°C, durante três dias. Uma vez seca, a parte aérea foi pesada, em seguida moída para a determinação química do acúmulo de nitrogênio no tecido,

segundo a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). Os nódulos foram destacados das raízes, contados e colocados em estufa a 65°C, durante três dias, para secagem. Foram avaliados o número e a massa seca de nódulos.

O índice de eficiência relativa de fixação de Nitrogênio relativa (EFR) dos isolados foi calculado através da equação, descrita abaixo, conforme proposto por Brockwell et al. (1966).

$$\text{EFR (\%)} = [(\text{Ntotal tratamento} - \text{Ntotal T-N}) / (\text{Ntotal T+N} - (\text{Ntotal T-N}))] * 100 \quad (1)$$

Onde: EFR é a massa dos respectivos tratamentos; Ntotal tratamento = nitrogênio total da planta do tratamento inoculado; Ntotal T-N = nitrogênio total do controle não inoculado e sem nitrogênio; Ntotal T+N = nitrogênio total do controle não inoculado e que recebeu suplementação nitrogenada

$$\% \text{ N} = \text{Ml. Ham} - \text{mL H}^+\text{Br} / \text{g solo} * 10.000 * 700 \quad (2).$$

Onde: mL H⁺Am = Valor titulado da amostra; mL H⁺Br = Valor titulado da amostra em Branco; g Solo = massa do material.

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Scott Knott (p<0,01) utilizando o *software* SISVAR R (FERREIRA, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos isolados de rizóbios para feijão-caupi resistentes à salinidade

Na Tabela 5, encontram-se apresentados os valores médios para o crescimento de rizóbios de *Vigna unguiculata* L, por meio de levedura-manitol com diferentes concentrações de cloreto de Potássio (KCl) aos sete dias. Os isolados de UPMS/UFPB VU08 apresentaram igual número de unidades formadoras de colônias (UFC), que o tratamento recomendado, com um valor médio na ordem de $1,8 \cdot 10^8$. Contudo, em ambos os casos se observou que a UFC foi diminuindo com o aumento da concentração de KCl. Na concentração de 20 g L^{-1} KCl o UPMS/UFPB VU31 apresentou uma $\text{UFC} = 2,1 \cdot 10^7$, superior aos demais tratamentos avaliados.

Esse comportamento demonstra que o UPMS/UFPB VU31 é o isolado mais resistente e pode se mostrar tolerante aos níveis de salinidade encontrados em alguns solos da zona semiárida, e que sua eficiência não seria reduzida quanto a fixação biológica de nitrogênio nessa concentração. Como os microrganismos sobrevivem sob bioturbância, talvez sob as condições de solo com teores consideráveis de KCl existem bactérias que apresentam níveis de resistência superior aos verificados pelo presente estudo. Nesse caso mais testes devem ser realizados, inclusive com a seleção de novas espécies de bactéria resistentes as concentrações elevadas de KCl em solução.

Tabela 5 – Crescimento de estirpes de *Vigna unguiculata* L., Walp sob meio líquido levedura-manitol com diferentes concentrações de KCl aos 7 dias.

Rizóbios	Concentrações de KCl (g L^{-1})					
	0,1	4	8	12	16	20
Estirpes	----- UFC mL^{-1} -----					
Recomendada	$9,3 \cdot 10^8$	$1,8 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$
Isolados						
UPMS/UFPBVU01	$9,3 \cdot 10^8$	$6,0 \cdot 10^8$	$1,1 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^6$	$6,3 \cdot 10^6$	$7,8 \cdot 10^5$
UPMS/UFPBVU 04	$1,4 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^4$
UPMS/UFPBVU 05	$8,5 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$
UPMS/UFPBVU 08	$1,6 \cdot 10^{11}$	$2,0 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^8$	$2,4 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^7$
UPMS/UFPBVU 12	$1,1 \cdot 10^{10}$	$1,1 \cdot 10^{10}$	$1,4 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^6$

UPMS/UFPBVU 14	$1,7.10^8$	$1,4.10^7$	$1,1.10^7$	$2,0.10^6$	$1,3.10^6$	$1,4.10^5$
UPMS/UFPBVU 31	$1,8.10^{10}$	$9,75.10^7$	$1,6.10^7$	$1,8.10^7$	$1,35.10^7$	$2,1.10^7$

Legenda: NaCl = Cloreto de Sódio; gL⁻¹ = gramas por litro; UFC = Unidades formadoras de colônias; mL = mililitros; SEMIA = Sessão de Microbiologia Agrícola (Coleção Brasileira Oficial de Rizóbios); UPMS= Unidade de Pesquisa Microbiológica do Solo; UFPB = Universidade Federal da Paraíba; Vu = *Vigna unguiculata* L., Walp; * Estirpe aprovada pelo MAPA como inoculante para caupi UFLA 3-84 (SEMIA 6461), cedida pela Prof^a Fátima Maria de Souza Moreira, do Departamento de Ciência do Solo, Laboratório de Microbiologia do Solo – Campus da UFLA; ** Inoculante comercial cedido pela Empresa Total Biotecnologia, Paraná, Brasil.

Entre as estirpes utilizadas no teste de resistência a salinidade, o UPMS/UFPB VU31 apresentou UFC na ordem de 10^7 entre as concentrações de 4 a 20 g L⁻¹ de KCl, os demais apresentaram certo nível de sensibilidade com taxas de crescimento variando de 10^4 a 10^6 . No meio de cultura contendo NaCl, o comportamento foi um pouco diferente ao verificado no meio de cultura contendo KCl.

Na Tabela 6, verifica-se que o tratamento UPMS/UFPB VU04 apresentou uma UFC na ordem de $8,30 \cdot 10^4$ na concentração de 20 g L^{-1} de NaCl, um pouco superior a taxa de crescimento verificada no meio com KCl, uma média de $1,6 \cdot 10^4$, contudo abaixo da faixa considerada adequada que é de 10^7 . Nesse caso os isolados do UPMS/UFPB VU04 mostraram-se pouco resistentes as concentrações de sódio em meio de solução. A UPMS/UFPB VU05 (Tabela 6), apresentou UFC de $1,5 \cdot 10^4$ na solução contendo 20 g L^{-1} de KCl e UFC de $9,0 \cdot 10^5$ na concentração de 20 g L^{-1} de NaCl. Esse resultado demonstra o baixo potencial de crescimento das células desses isolado em concentrações crescentes de sódio e cloro em solução e em meio de cultura.

Na condição de semiárido, onde a taxa de evapotranspiração do solo é elevada e as concentrações de sais tendem a crescer e acumular em superfície, as estirpes avaliadas apresentariam baixo potencial de crescimento na presença de NaCl, já que na concentração mais elevada 20 g L⁻¹ de NaCl, as células ficaram abaixo de 10⁷.

Tabela 6 – Crescimento de estirpes de *Vigna unguiculata* L. Walp, sob meio líquido levedura-manitol com diferentes concentrações de NaCl aos 7 dias.

Rizóbios	Concentrações de NaCl (g L⁻¹)					
	0,1	4	8	12	16	20
Estirpes	----- UFC mL ⁻¹ -----					
Recomendada	9,3.10 ⁸	1,9.10 ⁷	5,5.10 ⁶	1,4.10 ⁶	5,3.10 ⁶	1,4.10 ⁵
Isolados						

UPMS/UFPBVU 01	1,7.10 ⁸	1,15.10 ⁶	2,0.10 ⁶	1,3.10 ⁶	1,3.10 ⁶	1,4.10 ⁵
UPMS/UFPBVU 04	1,2.10 ⁸	7,8.10 ⁶	1,2.10 ⁶	8,3.10 ⁵	1,1.10 ⁵	8,3.10 ⁴
UPMS/UFPBVU 05	1,4.10 ⁹	1,2.10 ⁶	2,0.10 ⁶	1,3.10 ⁶	7,8.10 ⁵	9,0.10 ⁵
UPMS/UFPBVU 08	1,5.10 ¹¹	2,1.10 ⁹	1,2.10 ⁷	1,2.10 ⁷	1,9.10 ⁶	1,3.10 ⁶
UPMS/UFPBVU 12	6,8.10 ¹⁰	1,3.10 ¹⁰	1,3.10 ⁷	1,2.10 ⁷	1,2.10 ⁷	1,2.10 ⁶
UPMS/UFPBVU 14	1,0.10 ⁹	6,0.10 ⁸	1,0.10 ⁸	1,5.10 ⁶	8,0.10 ⁵	7,8.10 ⁵
UPMS/UFPBVU 31	1,9.10 ¹⁰	1,5.10 ¹⁰	1,5.10 ⁷	1,8.10 ⁷	1.10 ⁷	2,1.10 ⁶

Legenda: NaCl = Cloreto de Sódio; gL⁻¹ = gramas por litro; UFC = Unidades formadoras de colônias; mL = mililitros; SEMIA = Sessão de Microbiologia Agrícola (Coleção Brasileira Oficial de Rizóbios); UPMS= Unidade de Pesquisa Microbiológica do Solo; UFPB = Universidade Federal da Paraíba; Vu = *Vigna unguiculata* L., Walp; * Estirpe aprovada pelo MAPA como inoculante para caupi UFLA 3-84 (SEMIA 6461), cedida pela Profª Fátima Maria de Souza Moreira, do Departamento de Ciência do Solo, Laboratório de Microbiologia do Solo – Campus da UFLA; ** Inoculante comercial cedido pela Empresa Total Biotecnologia, Paraná, Brasil.

Apesar de ter variado entre 10⁴ e 10⁵, verifica-se que o número de células resistentes ao aumento substancial da concentração de NaCl em solução (meio de crescimento) foi menor que as células no meio de cultura contendo KCl na ordem de 20 g L⁻¹. Resultados semelhantes foram verificados por Martins et al. (2010) em trabalho com avaliação da resistência à salinidade de rizóbios nodulados de *Lotus* spp. Os autores verificaram que o crescimento das UFC é linearmente reduzido e mais pronunciado em meio de cultura contendo NaCl em relação ao meio de cultura com KCl. Silva et al. (2014) avaliando a diversidade de rizóbios da unidade de conservação Parque Nacional de Ubajara no estado do Ceará, concluíram que a partir de 1 g de NaCl L⁻¹ houve redução no crescimento de 27,58% das estirpes, com 10 g ocorreu a inibição do crescimento de 24% e 50 g foi capaz de inibir o crescimento de mais de 90% das estirpes.

Além das concentrações de sais em solução, outros fatores podem afetar o crescimento das colônias de bactérias em meio de cultura, como o pH. Miguel e Moreira (2001) avaliando a influência do pH no meio de cultivo e da turfa no comportamento de *Bradyrhizobium*, observaram que a maioria das estirpes utilizadas apresentaram melhor comportamento e taxa de crescimento no pH 6,0.

4.2 Avaliação da eficiência dos isolados na fixação simbiótica de nitrogênio em solo salino

Verifica-se na Figura 3, que houve variação estatística significativa pelo teste de Scott Knott (p<0,05) para a variável acúmulo de nitrogênio na parte aérea (NPA). O tratamento

com aplicação de N diferiu dos demais tratamentos avaliados com um acúmulo de 31,94 g kg⁻¹. Esse fato pode estar relacionado a forma que o nitrogênio foi oferecido as plantas, já que o elemento presente nos fertilizantes está em uma forma prontamente disponível para as plantas, acumulando-se com maior facilidade no tecido do vegetal.

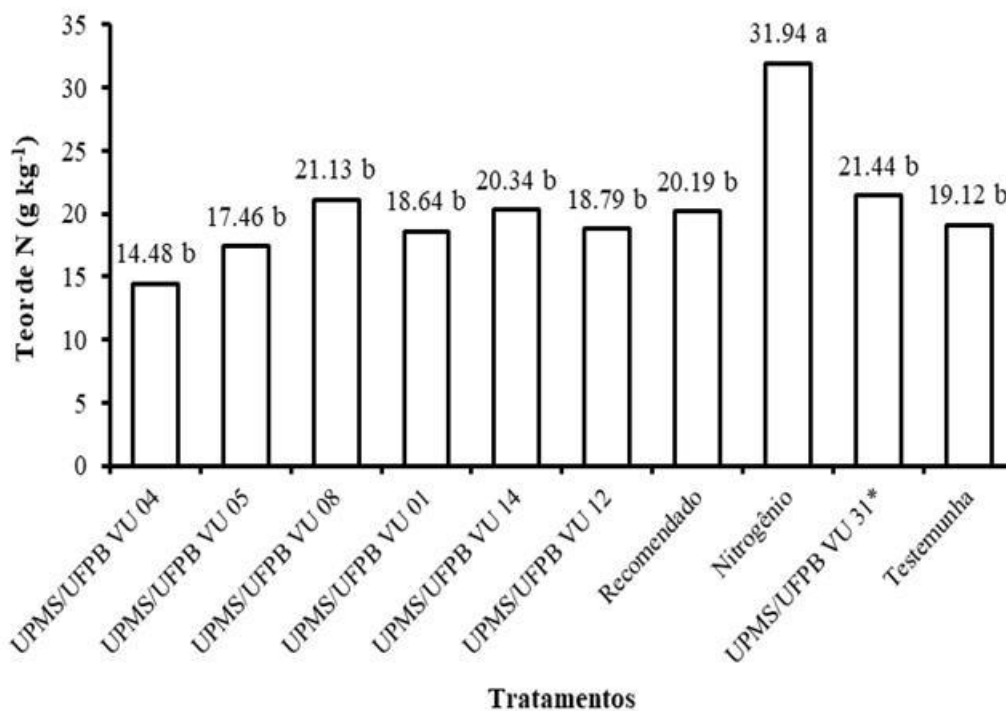


Figura 3 - Acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea de feijão-caupi sob diferentes tratamentos.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott, ($p < 0,01$). *Inoculante R2006A.

Os demais tratamentos avaliados foram estatisticamente iguais, comparando-se ao tratamento testemunha, sem uso dos isolados ou N. Esse resultado foi diferente do verificado por Brito et al. (2009) avaliando a marcha de absorção de N do solo pelo feijoeiro caupi e o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L). Eles observaram que a maior concentração de N presente nas plantas foi proveniente dos tratamentos com inoculação (fixação simbiótica), seguida do solo e fertilização em ordem decrescente. Zilli et al. (2011) verificaram que o acúmulo de N-total (mg planta⁻¹) no tratamento com N, não diferiu dos tratamentos com os inoculantes BR 3262; BR 3267; SEMIA 587 e BR 29, contudo foram superiores ao tratamento testemunha (solo) e as estirpes (CPAC 15 e CPAC 7). Para eles o excesso de N reduz o número de nódulos nas raízes das plantas e consequentemente a sua massa.

Como as plantas avaliadas pelo presente trabalho foram coletadas 35 dias após a semeadura, esse intervalo de tempo pode ter exercido influência sobre o teor de N absorvido e acumulado pelas plantas, já que Brito et al. (2019), salientam que a maior concentração de N na parte aérea do feijoeiro acontece de 58 a 68 dias após a semeadura. O nitrogênio é o elemento mais extraído pelo feijoeiro e o seu uso tem influência positiva e significativa na produtividade (TAGLIAFERRE et al., 2013). Além disso, Silva et al. (2012) salientam que a taxa de nodulação e a eficiência na absorção e acúmulo de N pelas plantas inoculadas vai depender do número de células de estirpe presentes no inoculante e da condição do substrato ao qual a semente está sendo semeada, se nele for aplicada alguma dose de fertilizante nitrogenado. Silva et al. (2012) também verificaram que o feijão BRS pujante foi beneficiado com a FBN quando o inoculante aplicado tinha na ordem de $6,65 \times 10^7$ células.

Tsai et al. (1993) salienta que a aplicação de uma dose baixa de N no solo ou substrato é essencial para estimular a nodulação das raízes das plantas sem alterar a fixação simbiótica do elemento. O N fixado inicialmente pelas plantas é drenado preferencialmente para o desenvolvimento dos nódulos e maior comprometimento proporcional das reservas de nitrogênio da semente para a formação das primeiras folhas (ATKINS et al., 1999). Pode-se atribuir que o N proveniente do fertilizante estava em uma forma prontamente disponível, esse fato reduziu o gasto do elemento pelas plantas no estágio inicial de desenvolvimento, assim, acumulando em uma proporção maior que o N proveniente da fixação simbiótica com o uso de inoculantes.

4.3 Avaliação da eficiência dos isolados na fixação simbiótica de nitrogênio em solo salino

Na Figura 4, estão apresentados os valores médios para o índice de eficiência relativa de fixação de nitrogênio pelas estirpes, verificando-se diferença significativa entre alguns tratamentos avaliados ($p < 0,01$).

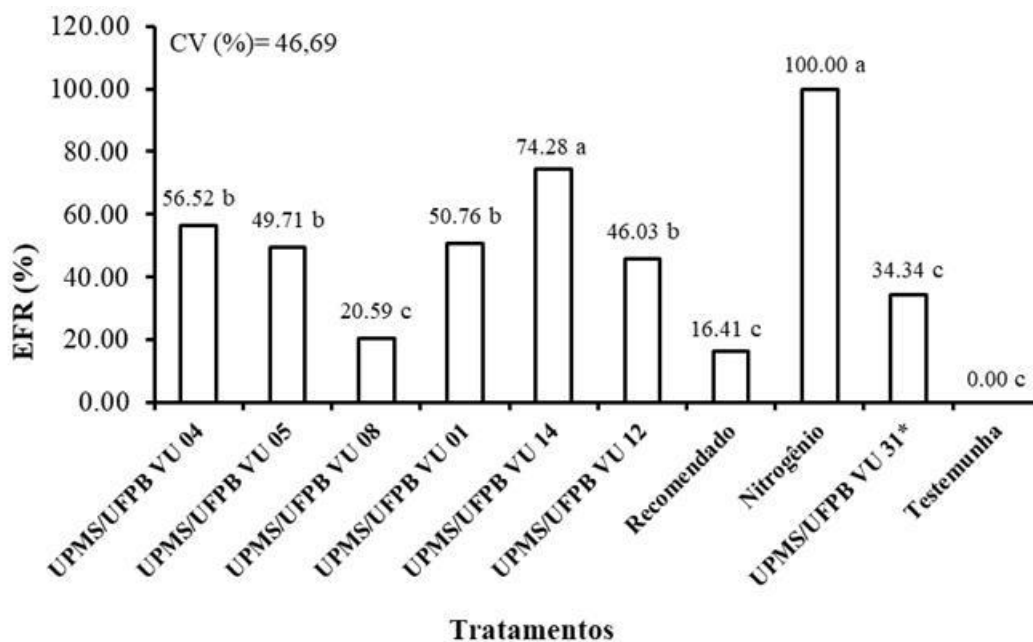


Figura 4 – Índice de eficiência relativa de fixação de nitrogênio (N) dos isolados.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott, ($p < 0,01$).

*Inoculante R2006A.

Verifica-se que no tratamento com aplicação de nitrogênio, o índice de fixação relativa foi similar ao UPMS/UFPB VU14, enquanto o tratamento testemunha não apresentou uma EFR. Nesse caso, pode-se afirmar que o isolado UPMS/UFPB VU14, é tão eficiente quanto o fertilizante nitrogenado para ser aproveitado metabolicamente pelas plantas. Os demais tratamentos foram estatisticamente iguais, com valores EFR abaixo de 57,0%. Contudo, a eficiência da nodulação sobre algumas características do vegetal e sobre a eficiência do N, vai depender de um conjunto de fatores, com destaque para as interações sinérgicas ou antagônicas entre os vegetais e os rizóbios parentais e não só apenas da estirpe que se está utilizando (CARVALHO et al., 2005),

Observa-se nesse ensaio que a estirpe recomendada para o feijão-caupi apresentou uma EFR de 16,41%, muito abaixo da EFR verificada pelo uso das estirpes nativas (Figura 4). Chagas Júnior et al. (2010) avaliando a eficiência agrônômica de estirpes de rizóbios inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, observaram que a EFR foi estatisticamente igual entre o tratamento com N e os com inoculante. Esse fato demonstra que a utilização de inoculantes mostra-se benéfica para as plantas, por favorecer maior fixação do N e maior biodisponibilidade para o desenvolvimento de processos metabólicos. Nesse caso, estudos devem ser realizados a fim de avaliar não só a EFR, mas os caracteres morfológicos e de produtividade de outras cultivares de feijão-caupi inoculado tanto com estirpes nativas,

quanto com as comerciais, de forma a verificar qual se adequa melhor as condições edáficas do estado da Paraíba.

A altura de planta (AP), a produção de matéria verde (PMV) e seca (PMS), o número de folhas (NF) e o tamanho das folhas (TF) não diferiram a ($p < 0,01$) entre os tratamentos avaliados (Tabela 7). A AP variou de 15,52 no UPMS/UFPB VU05 a 17,77 cm no Nitrogênio, que apesar de semelhante aos demais tratamentos, apresentou-se mais eficiente para essa característica.

Tabela 7 – Altura de planta (AP), peso de matéria verde e seca (PMV e PMS), número de folhas (NF) e tamanho de folhas (TF) em feijão-caupi sob inoculação.

Tratamento	AP	PMV	PMS	NF	TF
	--- cm ---	----- g -----		-----	cm
UPMS/UFPB VU 04	17,12 a	6,66 a	2,99 a	5,00 a	6,38 a
UPMS/UFPB VU 05	15,52 a	7,55 a	3,77 a	5,00 a	5,87 a
UPMS/UFPB VU 08	16,30 a	4,84 a	2,40 a	5,50 a	5,75 a
UPMS/UFPB VU 01	17,07 a	7,05 a	3,33 a	6,50 a	6,20 a
UPMS/UFPB VU 14	17,55 a	5,79 a	2,57 a	3,25 a	6,18 a
UPMS/UFPB VU 12	17,62 a	6,17 a	3,01 a	5,50 a	5,91 a
Recomendado	17,50 a	6,00 a	3,03 a	4,75 a	6,17 a
Nitrogênio	17,77 a	5,36 a	3,04 a	5,50 a	5,87 a
UPMS/UFPB VU 31*	16,12 a	5,60 a	2,90 a	5,50 a	6,00 a
Testemunha	14,42 a	4,50 a	2,15 a	4,50 a	5,43 a
C.V.%	9,65	15,89	17,58	14,37	6,74

*Inoculante R2006A; CV = Coeficiente de variação.

Médias seguida de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott, ($p < 0,01$).

A forma disponível do elemento N no fertilizante nitrogenado utilizado deve ter favorecido maior taxa de crescimento para as plantas de feijão-caupi em relação aos demais tratamentos avaliados, inclusive em relação ao tratamento testemunha. Para a PMV e PMS, verifica-se que a primeira variou de 4,50 no tratamento testemunha a 7,55 g no tratamento UPMS/UFPB VU05, tendência apresentada pela PMS com 3,77 g no tratamento UPMS/UFPB VU05. Esses resultados demonstram que apesar de estatisticamente iguais, o tratamento UPMS/UFPB VU05, apresentou-se, em termos de valores absolutos, um pouco superior aos demais.

Borges et al. (2012) avaliando a distribuição de massa seca e rendimento de feijão-caupi inoculado com Rizóbio em Gurupi, no estado do Tocantis, não verificaram efeito significativo dos diferentes inoculantes utilizados sobre a produção de matéria seca e rendimento de grãos. Para os autores, um estudo mais aprofundado se faz necessário sobre a seleção de estirpes de bactérias fixadoras de N em feijão-caupi sobre as condições edafoclimáticas do local onde o estudo foi realizado.

O NF e o TF também não diferiu entre os tratamentos avaliados. Nesse caso, mostra-se que há uma tendência dos efeitos da utilização dos inoculantes e da adubação nitrogenada sobre os caracteres morfológicos do crescimento inicial das plantas de feijão. Contudo, observa-se que várias estirpes utilizadas apresentaram uma tendência de valores médios superiores para algumas variáveis em relação ao tratamento com nitrogênio (N), a exemplo do UPMS/UFPB VU01 para o número de folhas e tamanho das folhas.

Alguns inoculantes podem apresentar um efeito positivo sobre as plantas um pouco tardio em relação aos fertilizantes nitrogenados, que apresentam o elemento prontamente disponível e assimilável. Gualter et al. (2011), trabalhando com inoculação de feijão caupi por estirpes na região amazônica, verificaram que a utilização de estirpes foi eficiente na produção de matéria seca e diâmetro do caule de feijão-caupi, após a fase de florescimento da cultura. Em relação ao número de folhas e massa seca, deve ser levado em consideração o ciclo vegetativo e reprodutivo da cultura, já que a maioria das cultivares apresentam senescência a partir dos 50 após a emergência da plântula (GUALTER et al., 2011).

Com relação aos números de nódulo (NNOD), peso de nódulos verdes (PNV) e peso de nódulos secos (PNS), verifica-se que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos avaliados (Tabela 8). Percebe-se que grande parte dos inoculantes apresentaram um efeito superior aos tratamentos testemunha e nitrogênio (N). No tratamento com aplicação de N, o efeito negativo sobre a nodulação das raízes está ligado ao suprimento das plantas pelo fertilizante nitrogenado, já que as bactérias se associam com as raízes quando o solo apresenta baixa disponibilidade desse elemento para as plantas.

Tabela 8 – Número de nódulos (NNOD), peso de nódulos verdes (PNV) e secos (PNS) de feijão-caupi inoculado com diferentes estipes de rizóbios.

Tratamento	NNOD	PNV	PNS
	-----	----- g -----	
UPMS/UFPB VU 04	28,0 b	0,262 a	0,105 a
UPMS/UFPB VU 05	30,5 a	0,175 b	0,078 b
UPMS/UFPB VU 08	15,5 a	0,207 b	0,097 b
UPMS/UFPB VU 01	12,0 b	0,125 b	0,083 b
UPMS/UFPB VU 14	15,5 b	0,162 b	0,092 b
UPMS/UFPB VU 12	20,5 b	0,150 b	0,062 b
Recomendado	41,0 a	0,295 a	0,117 a
Nitrogênio	0,0 c	0,00 c	0,00 c
UPMS/UFPB VU 31*	25,7 b	0,222 a	0,110 a
Testemunha	0,0 c	0,00 c	0,00 c
C.V.%	23,12	27,51	28,34

*Inoculante R2006A; CV = Coeficiente de variação.

Médias seguida de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott, ($p < 0,01$).

Os NNOD variaram de 0,0 nos tratamentos com aplicação de N e testemunha a 41,0 com a utilização da estirpe recomendada. Para a PNV, a variação foi de 0,00 nos tratamentos com aplicação de N e testemunha e 0,295 no tratamento da estirpe recomendada. Esses resultados demonstram a eficiência do inoculante recomendado sobre a nodulação das raízes das plantas, principalmente em relação ao tratamento testemunha que tem o efeito de induzir a associação com as bactérias nativas do solo. Contudo, alguns estudos demonstraram a eficiência da associação entre bactérias nativas e as raízes de feijão-caupi sobre a produtividade, como observado por Ramires et al. (2018). Os autores verificaram que as bactérias nativas do solo foram mais eficientes, até mesmo em relação a utilização do fertilizante nitrogenado sobre a produtividade de grãos de feijão.

A presença ou a ausência de nitrogênio no solo, pode alterar o processo de simbiose (VIEIRA et al., 2005). Assim, quando em excesso, o N pode levar a diminuição da eficiência simbiótica, mas quando aplicado em pequenas quantidades na semeadura, permite maior crescimento dos nódulos e consequentemente maior FBN, entretanto, se for constatado um teor mais baixo desse elemento no solo, a atividade simbiótica será limitada (HUNGRIA et al., 2003; RAMIRES et al., 2018). Nesse sentido, a aplicação de doses de fertilizantes

nitrogenados, em faixas adequadas, é essencial para o desenvolvimento inicial e obtenção de vigor pelas plantas, antes do processo de infecção e assimilação de N-atmosférico pelas bactérias fixadores de N. Portanto, a planta apresenta-se adequadamente nutrida, até ser beneficiada pelo processo de fixação desse elemento.

Apesar do tratamento com a estirpe recomendada ter apresentado um número na ordem de 41 nódulos, ele foi estatisticamente igual ao UPMS/UFPB VU05, demonstrando assim, que ambos os tratamentos são eficientes na inoculação das raízes por bactérias fixadoras de nitrogênio. Além de eficiente na fixação de N e na formação de nódulos nas raízes do feijoeiro, a inoculação com estirpes selecionadas pode fornecer nitrogênio para as plantas em quantidades que podem atuar na proteção das plantas contra o ataque de patógenos (CHAGAS JÚNIOR et al., 2014). Contudo, verifica-se que a estirpe recomendada foi superior para a PNV e PNS, por uma ser função da outra. Para que a nodulação das plantas por rizóbios seja eficiente, os teores de alguns elementos no solo devem estar em níveis adequados, a destacar o fósforo (SILVA et al., 2010) por apresentar estreita relação com o crescimento do sistema radicular das plantas.

5 CONCLUSÕES

A inoculação com diferentes estirpes nativas não exerceu efeito significativo para as variáveis acúmulo de nitrogênio na parte aérea, altura de planta, peso de massa verde e massa seca, número de folhas e tamanho de folhas.

A inoculação com estirpes nativas foi significativa para o número de nódulos, peso de nódulos verdes e secos.

A estirpe UPMS/UFPB VU14 apresentou significância no índice de eficiência relativa de fixação de nitrogênio, podendo ser uma alternativa promissora em substituição ou associação com o nitrogênio, para potencializar o desempenho do feijão-caupi em campo.

As estirpes UPMS/UFPB VU08, UPMS/UFPB VU12 e UPMS/UFPB VU31, apresentaram maior resistência as concentrações de KCl e NaCl.

Novas pesquisas devem ser realizadas a fim de que selecionem estirpes adequadas as condições climáticas do brejo Paraibano e que sejam resistentes ao nível de salinidade encontrado em algumas classes de solo.

REFERÊNCIAS

- ASSIS JÚNIOR, J. O.; LACERDA, C. F.; SILVA, F. B.; SILVA, F. L. B.; BEZERRA, M. A.; GHEYI, H. R. Produtividade do feijão-de-corda e acúmulo de sais no solo em função da fração de lixiviação e da salinidade da água de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 702-713, 2007.
- ATKINS, C.A.; PATE, J.S.; SANFORD, P.J.; DAKORA, F.D. & MATTHEWS, I. Nitrogen nutrition of nodules in relation to “N-hunger” in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Plant Physiology**, Kansas City, v. 90, p. 1644-1649, 1989.
- AZEVEDO, B. M.; FERNANDES, C. N. V.; PINHEIRO, J. A.; BRAGA, E. S.; CAMPÊLO, A. R.; VIANA, T. V. A.; CAMBOIM NETO, L. F.; MARINHO, A. B. Efeitos de lâminas de irrigação na cultura do feijão vigna de cor preta. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 32, n. 1, p. 152-159, 2011.
- BODDEY, R.M.; SÁ, J.C.D.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v.29, p.787-799, 1997.
- BORGES, P. R. S.; SABOYA, R. C. C.; SABOYA, L. M. F.; SANTOS, E. R.; SOUZA, S. E. A. Distribuição de massa seca e rendimento de feijão-caupi inoculado com rizóbios em Gurupi, TO. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 1, p. 37-44, 2012.
- BOUHMOUCH, I.; SOUAD-MOUHSINE, B.; BRHADA, F.; AURAG, J. Influence of host cultivars and Rhizobium species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 162, p. 1103-1113, 2005.
- BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Marcha de absorção de Nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com o uso do ¹⁵N. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 895-905, 2009.
- CARNEIRO, P.T.; FERNANDES, P.D.; GHEYI, H.R.; SOARES, F.A.L. Germination and initial growth of precocious dwarf cashew genotypes under saline conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 199-206, 2002.
- CARVALHO, F. G.; SALBACH, P. A.; BIZARRO, M. J. Eficiência e competitividade de variantes espontâneas isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Recomendadas para a cultura da soja (*Glycine max*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 20, n. 4, p. 883-891, 2005.
- CAVALCANTI, E. S.; PINHEIRO, I. N. **Recomendações técnicas para o cultivo do feijão-caupi (*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.) no estado do Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá, 1999. 11p.

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; OLIVEIRA, A. G.; SANTOS, G. R.; REIS, A. F. B.; CHAGAS, L. F. B. Promoção do crescimento em feijão-caupi inoculado com rizóbio e *Tricoderma* spp. No Cerrado. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p. 190-199, 2014.

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi, TO. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, 2018/2019, sétimo levantamento**. Brasília: CONAB, 2019. 119p.

CORDOVILLA, M.D.P. LIGERO, F.; LLUCH, C. Effects of NaCl on growth and nitrogen fixation and assimilation of inoculated and KNO₃ fertilized *Vicia faba* L. and *Pisum sativum* L. plants. **Plant Science**, Amsterdam, v. 140, p. 127–136, 1999.

CORNEA, C. P.; VOAIDEȘ, C.; CIUCA, M.; STAN, V.; GAMENT, E.; RASEC, I.; DUSA, M. Molecular methods for assessment the bacterial communities from different type of soils in Romania. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 39, n. 1, p. 64-70, 2011.

CRUZ, J. L.; PELACANI, C. R.; COELHO, C. F.; CALDAI, R. C.; ALMEIDA, A. Q.; QUEIROZ, A. R. Influência da salinidade sobre o crescimento, absorção, e distribuição de sódio, cloro e macronutrientes em plântulas de maracujazeiro-amarelo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 2, p. 275-284, 2006.

ELBOUTAHIRI, N.; THAMI-ALAMI, I.; UDUPA, S. M. Phenotypic and genetic diversity in *Sinorhizobium meliloti* and *S. medicae* from drought and salt affected regions of Morocco. **BMC Microbiology**, London, v. 10, n. 1, p. 15, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. **Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio>>. Acesso em: 04 mar. 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. **História do feijão-caupi**. 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/meio-norte/historia-caupi>. Acesso em: 03 mar. 2020.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, Lavras, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Produção mundial de feijão *Vigna***. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 03 mar. 2020.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (Eds). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 519p.

FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, C. L.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; DE LYRA, M. C. C. P. Caracterização de rizóbios isolados de Jacatupé cultivado em solo salino do estado de Pernambuco, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 3, p. 497-504, 2007.

FREITAS, R. S.; AMARO FILHO, J.; MOURA FILHO, E. R. Desenvolvimento da salinidade na germinação e desenvolvimento de plantas de meloeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v.1, n. 2, p. 113-121, 2006.

GUALTER, R. M. R.; BODDEY, R. M.; RUNJANEK, N. G.; FREITAS, A. S. R.; XAVIER, G. R. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão caupi cultivado na região pré-amazônica maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 303-308, 2011.

HARA, F.A. dos S.; OLIVEIRA, L. A. de. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álcalis de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, p. 343-357, 2007.

HOBEN, H. J.; SOMASEGARAN, P. Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 44, n. 5, p. 1246– 1247, 1982.

HUNGRIA, M. Reclassification of *Rhizobium tropici* type A strains as *Rhizobium leucaenae* sp. nov. **Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Salamanca, v. 62, p. 1179-1184, 2012.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 82p.

L'TAIEF, B.; SIFI, B.; ZAMAN-ALLAH, M.; HORRES, R.; MOLINA, C.; BEEBE, S.; WINTER, P.; KAHL, G.; DREVON, J.; LACHAÛL, M. Genotypic variability for tolerance to salinity and phosphorus deficiency among N₂-dependent recombinant inbred lines of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 6, n. 22, p. 4205-4213, 2012.

LACERDA, A.M.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B; SOARES, A.L.L. Yield and nodulation of cowpea inoculated with selected strains. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, p. 67-82, 2004.

MARTINS, A.F.; VARGAS, L.K.; ZANIN, J.G.; LONGONI, L.S.; FRAGA, L.G.C.; SÁ, E.L.C. Resistência à salinidade de rizóbios noduladores de *Lotus* spp. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 16, n. 1, p. 73-79, 2010.

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

MEDEIROS, R.; SANTOS, V.; ARAÚJO, A.; OLIVEIRA FILHO, C. Estresse salino sobre a nodulação de feijão-caupi. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 5, p. 202-206, 2008.

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

MIGUEL, D. C.; MOREIRA, F. M. S. Influência do pH e do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 6, p. 873-883, 2001.

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

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e Bioquímica do Solo. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. (Eds.). **Fixação biológica de nitrogênio atmosférico**. 2 ed. Lavras: Editora UFLA, p. 449-541, 2005.

NOBREGA, R. S. A.; MOTTA, J. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas a salinidade *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 899-905, 2004.

NOGUEIRA, C. C. P.; BASTOS, E. A.; ANDRADE JÚNIOR, A. S. **Cultivo do feijão-caupi**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2017. 9p.

OGUTCU, H.; ADIGUZEL, A.; GULLUCE, M.; KARADAYI, M.; SAHIN, F. Molecular characterization of *Rhizobium* strains isolated from wild chickpeas collected from high altitudes in Erzurum-Turkey. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucharest, v. 14, n. 2, p. 4294-4300, 2009.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, J. A.; LOPES, E. B.; SILVA, E. É.; ARAÚJO, L. H. A.; RIBEIRO, V. V. **Rendimento produtivo econômico do feijão-caupi em função de doses de potássio**. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, n. 2, p. 629-634, 2009.

PEDROTTI, A.; CHAGAS, R. M.; RAMOS, V. C.; PRATA, A. P. N.; LUCAS, A. A. T.; SANTOS, P. B. Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015.

PERIN, A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. Cobertura do solo e acumulação de nutrientes pelo amendoim forrageiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, p.791-796, 2003.

PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J. E. M.; CECON, P. R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 35-40, 2004.

RAMIRES, R. V.; LIMA, S. F.; SIMOM, C. A.; CONTARDI, L. M.; ALVAREZ, R. C. F.; BRASIL, M. S. Inoculação com rizóbios associado ao manejo da adubação nitrogenada em feijão comum. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 14, n. 1, p. 49-57, 2018.

RIBEIRO, M. R.; FREIRE, F. J.; MONTENEGRO, A. A. A. 2003. Solos halomórficos no Brasil: Ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: CURI, N.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVAREZ, V. H. (eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.3, p.165-208.

RIBEIRO, R. A.; ROGEL, M. A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; BARCELLOS, F.G.; MARTÍNEZ, J.; THOMPSON, F. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S.; VIANA, F. M. P. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. p. 281-335, 2005.

SILVA, A.F.; FREITAS, A.D.S; Stamford, N.P. Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1327-1333, 2002.

SILVA, E. F. L.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B. dos.; NUNES, L. A. P. L.; CARNEIRO, R. F. V. Fixação biológica do N₂ em feijão-caupi sob diferentes doses e fontes de fósforo solúvel. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 394-302, 2018.

SILVA, L. L.; PINHEIRO, M. S.; SOUSA, J. B.; MARTIM, S. C. S.; MARTIM, C. M. Diversidade de rizóbio da unidade de conservação Parque Nacional de Ubajara no estado do Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 19, p. 2141-2156, 2014.

SILVA, M. C.; QUEIROZ, J. E. R.; ARAÚJO, K. D.; PAZERA JÚNIOR, E. Condições ambientais da reserva ecológica estadual da Mata do Pau Ferro, Areia-PB. **Geografia**, Londrina, v. 15, n. 1, p. 51-63, 2006.

SILVA, M. F.; SANTOS, C. C. R. S.; SOUSA, C. A.; ARAÚJO, R. S. L.; STAMFORD, N. P.; FIGUEIREDO, M. V. B. Nodulação e eficiência da fixação do N₂ em feijão caupi por efeito da taxa do inóculo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 6, n. 5, p. 1418-1425, 2012.a

SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S.; QUINDERÉ, M. A. W. Pragas In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. Ed. **Feijão-Caupi – Avanços Tecnológicos**. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 366 – 402.

SOUZA, J. S. **Caracterização e seleção de rizóbios nativos associados à (*Vigna unguiculata*) (L.) Walp.** 2018. 39f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em agronomia), Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2018.

SOUZA, J. S.; MARTINS, A. F. Caracterização e seleção de rizóbios nativos de solos paraibanos associados a *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 40, n. 3-4, p. 71-81, 2019.

SOUZA, R. F. de. **Dinâmica de fósforo em solos sob influência da calagem e adubação orgânica, cultivados com feijoeiro**. 2005. 141f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

SOUZA, R. F. de. **Dinâmica de fósforo em solos sob influência da calagem e adubação orgânica, cultivados com feijoeiro**. 2005. 141f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

TAGLIAFERRE, C.; SANTOS, T. J.; SANTOS, L. C.; SNTOS NETO, I. J.; ROCHA, F. A.; PAULA, A. Características agronômicas de feijão caupi inoculado em função de lâminas de irrigação e de níveis de nitrogênio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 142-248, 2013.

THIES, J.E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P.W. Subgroups of cowpea miscellany: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogaea*, and *Macroptilium atropurpureum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Amsterdam, v. 57, p. 1540-1545, 1991.

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 152, n. 1, p. 131-138, 1993.

ZANANDREA, I.; NASSI, F. L.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sobre parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.

ZAUZA, E. A. V, ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. p. 23-51.

ZILLI, J. E.; SILVA NETO, M. L.; FRANÇA JÚNIOR, I.; PERIN, L.; MELO, A. R. Resposta do feijão-caupi a inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 739-142, 2011.

ZILLI, J E.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. **BR 3262: nova estirpe de *Bradyrhizobium* para a inoculação de feijão-caupi em Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2008. 7p. (Embrapa Roraima. Comunicado técnico, 10).