

EFEITO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO SOBRE A NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DO FEIJÃO-CAUPI¹

Adão Marcelino Lacerda²
Fátima Maria de Souza Moreira^{3,4}
Messias José Bastos de Andrade⁵
André Luis de Lima Soares⁶

RESUMO

Com o objetivo de avaliar estirpes de rizóbio, previamente selecionadas em condições axênicas, na simbiose com feijão-caupi, três ensaios foram conduzidos: dois em casa de vegetação, em vasos com solo, e outro em campo, no município de Perdões-MG. No primeiro ensaio foram testadas sete estirpes selecionadas, da região amazônica, mais a estirpe BR 2001, recomendada como inoculante para a cultura, em dois cultivares (BR14-Mulato e BR08-Caldeirão). No segundo ensaio foram testadas quatro estirpes da região amazônica, sendo três do primeiro ensaio, mais uma quinta estirpe isolada de área de mineração de bauxita em Minas Gerais, reabilitada com bracatinga, no cultivar BR14-Mulato. O ensaio de campo foi conduzido em um Argissolo Vermelho-Amarelo testando quatro estirpes selecionadas nos ensaios anteriores de casa de vegetação, sobre o cultivar BR14-Mulato. Todos os ensaios contaram ainda com duas testemunhas, uma com adição de nitrogênio mineral e outra sem nitrogênio mineral, ambas sem inoculação. A maioria das estirpes da região amazônica (UFLA 03-36, UFLA 03-84, UFLA 03-129 e INPA 0311-B)

¹ Trabalho extraído da dissertação do primeiro autor, apresentada ao curso de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da UFLA. Aceito para publicação em 17.09.2003.

² Mestrando do Departamento de Ciência do Solo - UFLA e bolsista CAPES/CNPq. E-mail: adaoml@terra.com.br

³ Departamento de Ciência do Solo, DCS/UFLA, Cx. P. 37, 37200-000, Lavras, MG. Bolsista CNPq. E-mail: fmoreira@ufla.br

⁴ Autor para correspondência.

⁵ Departamento de Agricultura da UFLA. Bolsista CNPq. E-mail: mandrade@ufla.br

⁶ Mestrando do Departamento de Ciência do Solo/UFLA e bolsista do CNPq.

foi mais eficiente que a BR 2001. A inoculação com estirpes amazônicas trouxe aumentos de rendimento de grãos pelo caupi que variaram de 23,7 a 31,2%, em relação às plantas não-inoculadas e sem N mineral, podendo essas estirpes ser recomendadas para testes de eficiência agrônômica em outras regiões e posterior emprego na produção de inoculantes comerciais.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, fixação biológica de nitrogênio, inoculação de sementes.

ABSTRACT

YIELD AND NODULATION OF COWPEA INOCULATED WITH SELECTED RHIZOBIA STRAINS

Aiming to evaluate rhizobia strains, previously selected under axenic conditions, in symbiosis with cowpea, three experiments were carried out: two under greenhouse conditions (plastic pots with soil) and one under field conditions in Perdões, MG. In the first experiment, seven strains from Amazon region (Brazil) were assayed along with strain BR 2001, recommended as inoculant to cowpea, in two cultivars (BR14-Mulato and BR08-Caldeirão). The second experiment tested four strains from Amazon region, being three already tested in the first experiment and a fifth strain isolated from a bauxite mining area rehabilitated with *Mimosa scabrella* at Minas Gerais state (Brazil), in the cultivar BR14-Mulato. The field experiment was conducted in an Yellow-Red Argisol with four strains, selected in the previous pot experiments, inoculating cultivar BR14-Mulato. All assays comprised two controls, with or without mineral nitrogen, both without inoculation. Most strains isolated from the Amazon region (UFLA 03-36, UFLA 03-84, UFLA 03-129 and INPA 0311-B) were more efficient than strain BR 2001. Inoculation with Amazonian strains contributed significantly to cowpea grain yields: increments from 23.7 to 31.2% in relation to control plants without mineral nitrogen addition were observed. Thus, these strains can be recommended to agronomic efficiency tests in other regions and be further used in the production of commercial inoculants.

Key words: *Vigna unguiculata*, biological nitrogen fixation, seed inoculation.

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é nativo da África e bastante cultivado nas regiões tropicais dos continentes africano, asiático e americano, onde constitui uma das fontes de proteína, principalmente para as populações de baixa renda. Seu cultivo predomina na agricultura de subsistência caracterizada por baixo uso de tecnologia e por ocupar solos marginais deficientes em nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo. Esses fatores contribuem para a baixa produtividade de grãos, que, no Brasil, varia de 400 a 500 kg.ha⁻¹ (11). A possibilidade da interação simbiótica dessa espécie com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, vulgarmente denominadas rizóbios, pode permitir o aumento de rendimento da cultura e diminuir o custo de produção, além de economizar combustíveis fósseis utilizados na produção industrial de

fertilizantes nitrogenados. Estimativas feitas por métodos isotópicos, realizados no cultivar CNC X 284-4E, inoculado com a estirpe CM 1528, mostraram que o caupi pode obter até 95% do nitrogênio total por intermédio da fixação biológica de N₂ (FBN) (3).

A seleção de estirpes que combinem eficiência na fixação de N₂, adaptação a diferentes condições edáfoclimáticas e alta competição por sítios de infecção nodulares é importante para a produção de inoculantes. No processo de seleção de estirpes é fundamental que se tenha variabilidade do microssimbionte, para que aumente a probabilidade de sucesso da simbiose hospedeiro-rizóbio. Assim, a grande diversidade vegetal, inclusive a de leguminosas, encontrada nos vários sistemas de uso da terra (capoeira, pastagem tradicional, sistema agroflorestal, floresta e monocultura) da região da Amazônia, pode abrigar também grande variabilidade de estirpes de rizóbio (19, 21) adaptadas a baixo pH e temperaturas elevadas (predominantes nos solos brasileiros) e de alta eficiência simbiótica. A maior parte de inoculantes produzidos no Brasil e importados são para a cultura da soja (cerca de 99%), sendo o restante empregado em outras espécies de leguminosas, entre elas o caupi (2). A pequena produção de inoculante comercial para essa cultura é devido ao seu caráter de cultivo de subsistência e ao baixo uso de tecnologia, o que evidencia a necessidade de difusão dessa tecnologia de baixo custo entre os pequenos agricultores.

Este trabalho teve por objetivo selecionar, entre as estirpes de rizóbio isoladas de diversos sistemas de uso da terra, e que mostraram boa eficiência em experimentos prévios sob condições axênicas, as eficientes em fixar nitrogênio em simbiose com caupi.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três ensaios: dois em casa de vegetação, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, e outro em campo, no município de Perdões-MG. Nos experimentos de casa de vegetação foram empregados vasos plásticos, com capacidade para 1,5 dm³ de solo. Os cultivares usados foram BR14-Mulato e BR08-Caldeirão, da espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp, ambos de hábito de crescimento indeterminado, tipo “enramador” e com sementes marrons. O primeiro é imune ao vírus do mosaico-severo-do-caupi, do grupo comovírus, e também altamente resistente ao vírus do grupo potyvirus e à sarna (*Sphaceloma* sp.) (4). As sementes foram obtidas do Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária do Meio Norte (CNPAMN), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em Teresina-PI.

A identificação, origem e algumas das características culturais das estirpes de rizóbio encontram-se no Quadro 1. A maioria é típica do gênero *Bradyrhizobium* (crescimento lento e alcalinização do meio YMA). Sete

foram isoladas, utilizando-se o caupi como planta-isca, em solos com diferentes sistemas de uso da terra da Região Amazônica. Elas mostraram boa eficiência, quanto à FBN, em experimentos prévios conduzidos em vasos Leonard (12, 21). Também foram incluídas outras três estirpes: INPA 03-11B, isolada de *Centrosema* sp., na Amazônia (14), e eficiente para caupi em vasos de Leonard (12) e para soja (17); UFLA-03-170, isolada de caupi em área reabilitada com bracatinga após a mineração da bauxita, e com alta eficiência simbiótica (superior à BR 2001) em vasos de Leonard (20); e BR 2001, isolada de *Crotalaria juncea* no Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, da Embrapa, em Itaguaí-RJ, e recomendada para inoculação de sementes pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbiológicos de Interesse Agrícola (RELARE).

QUADRO 1 - Identificação, origem (sistema de uso da terra/Estado) e características culturais das estirpes de rizóbios usadas nos ensaios

Identificação	Origem	Características culturais em placa				
		ACI ¹	D ²	pH ³	AI ⁴	COR
UFLA 03-128	Pastagem/ AC	8	1-2	Alcalino	Não	Amarela
UFLA 03-39	Capoeira/RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA 03-25	Monocultura/ RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA 03-35	Capoeira/RO	5	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA 03-129	Pastagem/ AC	7	1-2	Neutro	Não	Amarela
UFLA 03-36	Capoeira/RO	4	1-2	Neutro	Não	Branca
UFLA 03-84	Pastagem/RO	6	1-2	Alcalino	Não	Branca
UFLA 03-170	Área reabilitada/MG ⁵	10	2	Alcalino	Sim	Branca
INPA 03-11B	Terra firme/AM	7	1	Alcalino	Não	Branca
BR 2001 ⁶	Libéria/África	8	1-2	Alcalino	Não	Branca

¹tempo em dias para aparecimento de colônias isoladas, ²diâmetro da colônia, ³reação do meio de cultivo após crescimento de colônias, ⁴absorção de indicador do meio de cultivo e ⁵ com bracatinga (*Mimosa acabrella*) após mineração de bauxita, ⁶originalmente SEMIA 6145.

Primeiro ensaio em casa de vegetação

Foi conduzido em novembro e dezembro de 2001 em Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico (8) coletado no município de Itumirim-MG (Quadro 2). O solo foi coletado na camada arável (0 a 20 cm), seco ao ar, destorroado, homogeneizado e passado em peneira de 4 mm. O cálculo da dose de calcário foi realizado segundo o método de saturação por bases (22), de modo a elevar a saturação para 60%.

QUADRO 2 - Resultados de análises químicas (antes da adubação) de amostras dos solos (0 a 20 cm de profundidade) utilizados nos ensaios em casas de vegetação			
Característica	Unidade	Latossolo	Argissolo
		Vermelho-Amarelo Distrófico típico ¹	Vermelho-Amarelo Distrófico típico ²
pH em H ₂ O (1:2,5)		5,5 AcM	5,9 AcM
P (Mehlich I)	mg dm ⁻³	1,0 Mba	42,3 Bo
K (Mehlich I)	mg dm ⁻³	8,0 Mba	105,0 Bo
Ca	cmol _c dm ⁻³	0,4 Mba	4,6 Mbo
Mg	cmol _c dm ⁻³	0,1 Mba	1,1 Bo
Al	cmol _c dm ⁻³	0,2 Mba	0,6 M
H + Al	cmol _c dm ⁻³	2,3 Ba	2,1 Ba
S.B.	cmol _c dm ⁻³	0,5 Mba	6,0 Bo
t	cmol _c dm ⁻³	0,7 Mba	6,6 Bo
T	cmol _c dm ⁻³	2,8 Ba	8,1 M
m	%	27,8 Ba	9,0 Mba
V	%	18,5 Mba	7,4 Bo
Matéria Orgânica	dag.kg ⁻¹	0,4 Mba	1,8 Ba

Análises realizadas pelos Laboratórios do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. Interpretação de acordo com Ribeiro, Guimarães e Alvarez V. (23). AcM=acidez média, Bo=teor bom, M=teor médio, Ba=teor baixo, Mba=teor muito baixo e Mbo=teor muito bom. ¹ Primeiro ensaio, em casa de vegetação. ² Segundo ensaio, em casa de vegetação e em campo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 10: dois cultivares (BR14-Mulato e BR08-Caldeirão) e dez formas de fornecimento de N: oito estirpes (UFLA 03-128, UFLA 03-129, UFLA 03-36, UFLA 03-25, UFLA 03-39, UFLA 03-35, INPA 03-11B e BR 2001, todas descritas no Quadro 1), além de duas testemunhas, uma com adição de nitrogênio mineral, 300 mg de N-NH₄NO₃.vaso⁻¹, e outra sem nitrogênio mineral, ambas sem inoculação. A dose do tratamento com nitrogênio mineral foi parcelada em duas vezes: 165 mg de N no plantio e 135 mg de N, 15 dias após a emergência.

As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol 95%, por cinco minutos, e com hipoclorito de sódio 1%, por três minutos. Posteriormente, foram lavadas seis vezes com água destilada antes da semeadura (cinco sementes por vaso). Em seguida, foi feita a inoculação das sementes com 1 mL de cultura bacteriana por vaso. Cada cultura das estirpes de rizóbio havia crescido em meio YMA (27) semi-sólido, por cinco dias, a 28°C, e continha cerca de 1 x 10⁸ células por mL. Cinco dias após a emergência, fez-se o desbaste, deixando uma planta por vaso. A todos os tratamentos foram adicionadas soluções de macro e micronutrientes, de

modo que as concentrações finais de cada vaso fossem as seguintes: 30 mg de N-(NH₄)₂SO₄ em todos os tratamentos, 60 mg de S-K₂SO₄ e (NH₄)₂SO₄, 150 mg de K-K₂SO₄ e KH₂PO₄, 300 mg de P-supertriplo e KH₂PO₄, 0,225 mg de Mo-NH₄Mo₇O₂₄·4 H₂O, 1,2 mg de B-H₃BO₃, 2,25 mg de Cu-CuSO₄·5H₂O, 5,25 mg de Mn-MnSO₄·H₂O, 6 mg de Fe-Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O, 7,5 mg de Zn-ZnSO₄·7H₂O. Foram adicionados mais 270 mg de N- NH₄NO₃, no caso da testemunha com N mineral.

Na floração, as plantas foram cortadas rente ao solo, sendo determinados: matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (Efr) de cada estirpe em relação ao tratamento que recebeu N mineral (I), número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN).

Para a determinação do peso da matéria seca, a parte aérea foi acondicionada em sacos de papel e depositada em estufa de ar forçado (65-70°C) até atingir peso constante.

A eficiência relativa de cada estirpe foi calculada segundo a expressão

$$\text{Efr} = \frac{\text{MSPA}}{\text{MSPA da testemunha com N mineral}} \times 100$$

Segundo ensaio em casa de vegetação

Foi conduzido de abril a junho de 2002, com o cultivar BR14-Mulato, em um Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico (8) coletado na camada arável (0 a 20 cm), e cujas características químicas encontram-se no Quadro 2.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e sete tratamentos: cinco estirpes de rizóbio (INPA 03-11B, UFLA 03-129, UFLA 03-84, UFLA 03-36 e UFLA 03-170, conforme Quadro 1); e mais duas testemunhas, uma com N mineral (300 mg N-NO₃NH₄ .vaso⁻¹), e outra sem N, ambas sem inoculação.

A instalação, condução e avaliações seguiram os mesmos critérios do primeiro ensaio.

Ensaio de campo

O ensaio foi conduzido com o cultivar BR14-Mulato em área experimental do município de Perdões, Minas Gerais, entre dezembro de 2001 e fevereiro de 2002, em um Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico (8), da Fazenda Escola Vito Críncoli, cujas características químicas encontram-se no Quadro 2.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e seis tratamentos: quatro estirpes amazônicas que mostraram

boa eficiência quanto a FBN nos experimentos anteriores (UFLA 03-36, UFLA 03-84, UFLA 03-129 e INPA 03-11B), e duas testemunhas, ambas sem inoculação, uma em que se aplicaram 70 kg de N.ha⁻¹ (uréia), e outra na qual não se aplicou nitrogênio mineral. A adubação nitrogenada foi parcelada em duas doses iguais, uma no plantio e a outra 20 dias após a emergência.

O solo foi preparado com uma aração e uma gradagem. Todos os tratamentos receberam adubação fosfatada e potássica de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O, usando como fonte o superfosfato simples e o cloreto de potássio, incorporados a 6 cm de profundidade. O inoculante foi preparado com turfa esterilizada em autoclave, na proporção 3:1 de turfa e culturas em meio YMA semi-sólido na fase log (após cinco dias de crescimento). Inocularam-se as sementes na proporção de 500 g do inoculante por 20 kg de sementes. A semeadura foi feita imediatamente após a inoculação. Foi adotado o espaçamento entre fileiras de 1,0 m, e a densidade de 10 sementes por metro (5). As parcelas foram constituídas por quatro linhas de 5 m de comprimento, totalizando 20 m² de área total. A área útil correspondeu a 10 m² (as duas linhas centrais).

Por ocasião do florescimento foram coletadas aleatoriamente, na área útil, cinco plantas de cada parcela, para avaliação da nodulação (número e matéria seca de nódulos) e da parte aérea (matéria seca, teor e acúmulo de N e eficiência relativa). Na colheita, foram avaliados o rendimento de grãos e o teor e acúmulo de nitrogênio nos grãos. O nitrogênio total foi analisado pelo método semimicrokjedahl (25). O N acumulado na parte aérea e nos grãos foi calculado multiplicando-se o peso da matéria seca (g) da parte aérea ou de grãos pela percentagem de N e dividindo por 100.

Os dados dos três ensaios foram submetidos à análise de variância, empregando-se o sistema de análise estatística SISVAR, versão 3.01 (10). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiro ensaio em casa de vegetação

Os cultivares influenciaram significativamente o número de nódulos (NN) e as formas de fornecimento de N afetaram significativamente o NN, a matéria seca de nódulos (MSN) e a eficiência relativa (Efr), mas não houve significância da interação entre esses fatores. O cultivar BR08-Caldeirão apresentou maior NN por planta (96,7) do que o cultivar BR14-Mulato (80,5) (Quadro 3).

QUADRO 3 - Número de nódulos (NN) e matéria seca (MSN) nos dois cultivares. Primeiro ensaio de casa de vegetação

Cultivar	NN por planta	MSN g.planta ⁻¹
BR 14 Mulato	80,5 b	0,446 a
BR 08 Caldeirão	96,7 a	0,438 a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de F, a 5%.

Tanto as médias de NN como de MSN dos dois cultivares (Quadro 3) ficaram próximas das encontradas em outros cultivares cultivados em casa de vegetação num solo de textura média (6), mas foram superiores às obtidas por outros autores (26) em solo Aluvial argiloso e Podzólico arenoso.

Quanto às formas de fornecimento de N, a estirpe INPA 0311-B destacou-se dos demais tratamentos por produzir maiores NN e MSN (Quadro 4). A inoculação com a estirpe UFLA 03-35 ficou no mesmo grupo da testemunha com N, em que a dose de 300 mg N-NH₄NO₃.vaso⁻¹ reduziu o NN em aproximadamente 34%, em relação à testemunha sem N. Os NN provenientes dos demais tratamentos, incluindo a estirpe referência (BR 2001) e a testemunha sem nitrogênio, ficaram em um grupo intermediário. O NN da testemunha sem N indica que o solo possui uma significativa população nativa de rizóbio, capaz de nodular o caupi.

QUADRO 4 - Número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN), e eficiência relativa (Efr) dos tratamentos, em função de diferentes formas de fornecimento de N em um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico. Primeiro ensaio em casa de vegetação

Formas de fornecimento de N	NN por planta	MSN mg planta ⁻¹	Efr %
BR 2001	89,00 b	374 c	68,17 b
Test. S/ N	84,87 b	394 c	72,86 b
UFLA 03-128	95,37 b	373 c	78,71 b
INPA 0311-B	127,25 a	628 a	78,05 b
UFLA 03-39	82,50 b	369 c	80,23 b
UFLA 03-25	98,50 b	493 b	86,08 a
UFLA 03-35	64,50 c	463 c	87,51 a
UFLA 03-129	93,63 b	418 c	91,12 a
UFLA 03-36	94,12 b	525 b	95,45 a
Test.C/N (300 mg/vaso)	56,13 c	385 c	100,00 a
CV %	28,23	20,26	21,18

Médias seguidas da mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A estirpe INPA 03-11B também se destacou em relação à MSN, apresentando valores que superaram em 36 e 19%, respectivamente, as médias do grupo inferior (no qual situaram-se as duas testemunhas e a estirpe-referência) e intermediário (Quadro 4).

Em relação à Efr, as estirpes UFLA 03-25 (86,08%), UFLA 03-35 (87,51%), UFLA 03-129 (91,12%) e UFLA 03-36 (95,45%) destacaram-se, situando no mesmo grupo da testemunha com N.

No que diz respeito à MSPA, houve interação significativa entre os fatores cultivar e formas de fornecimento de N (Quadro 5). As estirpes UFLA 03-35, UFLA 03-36 e UFLA 03-129 foram as mais eficientes quando empregadas no cultivar BR08-Caldeirão, situando-se no mesmo grupo da testemunha que recebeu N mineral. No cultivar BR14-Mulato, a estirpe UFLA 03-36 foi superior às outras e ficou no mesmo grupo da testemunha com N.

QUADRO 5 - Matéria seca da parte aérea (MSPA) dos cultivares BR08-Caldeirão e BR14-Mulato, em função de diferentes formas de fornecimento de N. Primeiro ensaio em casa de vegetação				
Formas de fornecimento de N	BR08 Caldeirão		BR14 Mulato	
	MSPA		MSPA	
	g planta ⁻¹		g planta ⁻¹	
BR 2001	6,732	bA	4,977	cB
Test. S/ N	7,277	bA	4,982	cB
UFLA 03-128	7,700	bA	5,832	cB
INPA 0311-B	6,485	bA	7,102	bA
UFLA 03-39	7,372	bA	6,415	bA
UFLA 03-25	7,512	bA	7,105	bA
UFLA 03-35	8,185	aA	6,730	bB
UFLA 03-129	8,630	aA	6,987	bB
UFLA 03-36	8,195	aA	7,907	aA
Test. C/ N (300 mg/vaso)	9,340	aA	8,850	aA
CV %	12,62			
Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, enquanto médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem pelo teste de F, a 5% de probabilidade				

Na ausência de inoculação e adubação nitrogenada, o cultivar BR08-Caldeirão produziu o correspondente a cerca de 84% da MSPA do melhor tratamento de fornecimento de N (estirpe UFLA 03-129), enquanto BR14-Mulato, na mesma condição, produziu 63% em relação à melhor média (estirpe UFLA 03-36). Isso indica que BR08-Caldeirão apresentou, em relação ao BR14-Mulato, maior eficiência da FBN, quando em simbiose com rizóbios nativos.

A estirpe INPA 0311-B, que se destacou quanto ao NN e à MSN, não teve o mesmo comportamento em relação à MSPA, equiparando-se à testemunha sem N, no cultivar BR08-Caldeirão; sua eficiência foi intermediária quando testada no cultivar BR14-Mulato (Quadro 5).

A estirpe BR 2001, referência para fabricação de inoculantes para caupi, esteve entre as menos eficientes nos dois cultivares, ficando no grupo da testemunha sem N, quanto à produção de MSPA. A baixa eficiência da BR 2001 também foi verificada por outros autores (12, 20, 21), em vasos Leonard. Em experimento de campo foram encontrados cinco isolados superiores à BR 2001 quanto à ocupação nodular em área de cerrado do meio-norte do Brasil; entretanto, não foram mencionados a MSPA nem o rendimento de grãos (28).

As estirpes que apresentaram maior MSPA no cultivar BR08-Caldeirão, em relação ao BR14-Mulato, foram a BR 2001, UFLA 03-128, UFLA 03-35 e UFLA 03-129. As médias de MSPA são semelhantes àquelas encontradas por outro autor (3), que trabalhou em casa de vegetação com o cultivar CNC X 284-4E, cultivado em vasos com Latossolo Vermelho-Amarelo.

O processo de seleção de estirpes para determinada espécie vegetal envolve, de modo geral, quatro estádios. No primeiro é verificada, em câmara de crescimento (condições ótimas e controladas de temperatura, umidade, luminosidade e nutrientes), a capacidade de nodular e fixar nitrogênio de um número elevado de estirpes, testadas separadamente, em tubos ou sacos plásticos com solução nutritiva livre de nitrogênio na forma mineral, com ou sem ágar, em condições estéreis. No segundo estádio, estirpes selecionadas no estádio anterior são testadas em misturas de areia e vermiculita esterilizadas e solução nutritiva livre de N, em vasos de Leonard, na casa de vegetação. Nos estádios seguintes, estirpes selecionadas são testadas em vasos com solo, na casa de vegetação, e depois no campo. Estirpes que não tenham boa performance nos estádios iniciais de seleção são eliminadas, pois se não estabelecem simbiose eficiente em condições nutricionais e ambientais adequadas também não o farão nas condições mais estressantes do solo (18).

A BR 2001 foi menos eficiente que as outras estirpes, neste experimento e em outros trabalhos (12, 20, 21) que estudaram sua eficiência nos três estádios iniciais de seleção. Portanto, não foi incluída nos experimentos posteriores deste trabalho.

Segundo ensaio de casa de vegetação

As formas de fornecimento de N influenciaram todas as variáveis. As estirpes foram semelhantes entre si e superiores às testemunhas com ou sem N mineral, em estabelecer maior NN (Quadro 6). Em relação a MSN, a testemunha sem N ficou no mesmo grupo dos tratamentos que receberam

inoculação de estirpes selecionadas, e todos os tratamentos proporcionaram maior MSN que o tratamento com N mineral (Quadro 6). Neste ensaio, a população nativa (testemunha sem N mineral) induziu à produção de menor NN que a do solo do experimento anterior (33,8 contra 84,9 nódulos por planta). No entanto, no que diz respeito à MSN (385 contra 394 mg.planta⁻¹) e à Efr (64,84 e 72,86%), tiveram comportamento equivalente.

QUADRO 6 - Número (NN) e matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA) e eficiência relativa (Efr,) em função de diferentes formas de fornecimento de N em Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico. Segundo ensaio em casa de vegetação

Formas de fornecimento de N	NN por planta	MSN mg.planta ⁻¹	MSPA g.planta ⁻¹	Efr %
Test. S/ N	33,75 b	385 a	5,587 c	64,84 b
UFLA 03-36	149,75 a	482 a	5,705 c	66,70 b
UFLA 03-84	87,00 a	582 a	6,380 b	73,92 b
INPA 0311-B	107,75 a	530 a	6,485 b	75,39 b
UFLA 03-129	115,75 a	510 a	6,537 b	75,84 b
UFLA 03-170	89,50 a	457 a	6,632 b	77,50 b
Test. c/ N 300 mg/vaso	12,25 b	25 b	8,680 a	100,0 a
CV %	34,80	21,03	9,79	12,02

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A dose de 300 mg.vaso⁻¹ de N (testemunha com N) inibiu a nodulação, reduzindo em 63% o número de nódulos, em relação à testemunha sem N (Quadro 6). Essa inibição foi mais pronunciada do que a ocorrida no solo do experimento anterior, cuja redução foi de 34%, provavelmente em virtude do maior conteúdo de matéria orgânica do solo deste ensaio (1,8 dag.kg⁻¹) em relação ao anterior (0,4 dag.kg⁻¹), incrementando, conseqüentemente, o efeito inibitório do nitrogênio sobre o processo de FBN.

Todas as estirpes produziram MSPA intermediária entre as testemunhas, com exceção da UFLA 03-36, que ficou no mesmo grupo da testemunha sem N (Quadro 6).

Diferentemente do primeiro ensaio, todas as estirpes foram inferiores à testemunha com N mineral, quanto à eficiência relativa. Nesse caso, o efeito inibidor do N da matéria orgânica do solo, prejudicando o processo de FBN, pode estar envolvido.

Ensaio de campo

Verificou-se efeito significativo das formas de fornecimento de N sobre a MSN, a MSPA, a Efr, o acúmulo de N na MSPA, o rendimento, e o teor e acúmulo de N nos grãos (Quadro 7).

QUADRO 7 - Médias do número de nódulos por planta (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), eficiência relativa (Efr), acúmulo de N na parte aérea (Acúmulo de N na PA), rendimento de grãos e teor e acúmulo de N nos grãos de caupi, em um Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico, em função de diferentes formas de fornecimento de N. Experimento de campo

Fontes de N	NN	MSN (mg planta ⁻¹)	MSPA (g planta ⁻¹)	Eficiência relativa (%)	Acúmulo de N na PA (mg planta ⁻¹)	Rendimento de grãos (kg ha ⁻¹)	Teor de N grãos (%)	Acúmulo de N nos grãos (kg ha ⁻¹)
Test. s/N	15,5 a	168,8 b	16,6 b	56,3 c	326,2 c	1021 b	3,3 b	34,2 b
INPA 0311-B	17,0 a	200,3 b	20,9 b	71,6 b	568,6 b	1341 a	3,8 a	50,5 a
UFLA 03-36	15,6 a	181,0 b	22,2 b	74,1 b	556,1 b	1264 a	3,8 a	47,1 a
UFLA 03-129	18,2 a	187,0 b	23,3 b	76,7 b	625,7 b	1321 a	3,6 b	47,2 a
UFLA 03-84	21,0 a	275,3 a	26,6 a	88,4 a	733,9 a	1272 a	3,8 a	48,9 a
Test. c/N 70 kg/ha	11,0 a	122,3 b	30,2 a	100 a	948,6 a	1413 a	3,9 a	54,9 a
CV (%)	36,34	25,71	19,94	19,35	28,84	12,39	6,49	15,52

Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O NN não foi afetado significativamente pelos tratamentos e foi bem menor que os obtidos nos ensaios anteriores em vasos. Martinazzo (15), estudando o potencial de FBN no caupi, em um Latossolo Vermelho-Amarelo argiloso na Amazônia, obteve oito nódulos por planta na testemunha sem nitrogênio, 12 nódulos por planta na testemunha com 80 kg de N.ha⁻¹ e até 118 nódulos por planta no caso de tratamentos com inoculação. No presente ensaio de campo, a dose de 70 kg.ha⁻¹ de N (testemunha com N) não foi suficiente para inibir a nodulação, pois as médias de MSN e de NN ficaram no mesmo grupo da testemunha com N mineral, à exceção da estirpe UFLA 03-84, em relação à MSN. Apesar de números de nódulos relativamente baixos, a MSN obtida no presente ensaio foi superior à da maioria dos tratamentos testados no trabalho de Martinazzo (15), no qual o peso da MSN variou de 10 a 440 mg por planta.

A estirpe UFLA 03-84 foi a que também se destacou na produção de MSPA e, conseqüentemente, na Efr, situando-se no mesmo grupo da testemunha com N mineral (Quadro 7). Quanto a essa eficiência, as estirpes UFLA 03-129, UFLA 03-36 e INPA 0311-B ficaram em grupo intermediário entre a testemunha sem N e a testemunha com N mineral (Quadro 7). Este último tratamento, juntamente com a estirpe UFLA 03-84, formou o grupo com maior MSPA.

Com relação ao acúmulo de nitrogênio na parte aérea, a testemunha sem N foi a que apresentou menor acúmulo, ficando em grupo inferior aos demais. A estirpe UFLA 03-84, mais uma vez, se destacou, sendo a única a situar-se no mesmo grupo da testemunha com N mineral (Quadro 7). As demais apresentaram acúmulo intermediário entre as testemunhas com ou sem N.

O rendimento de grãos foi relativamente baixo, de 1.021 a 1.403 kg ha⁻¹, e pode ter sido negativamente influenciado pelas chuvas elevadas e mal distribuídas: 399, 132 e 368 mm em dezembro, janeiro e fevereiro, respectivamente (dados fornecidos pelo setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia da UFLA). Entretanto, todas as estirpes ficaram no mesmo grupo da testemunha com N mineral, mostrando que a inoculação proporcionou ganho no rendimento de grãos, em relação à testemunha sem N (Quadro 7).

Apesar de a estirpe UFLA 03-84 ter se destacado quanto à produção de MSPA e MSN, ela se situou no mesmo grupo das demais, em relação ao rendimento de grãos. De fato, nem sempre a MSN é bom indicador da eficiência de uma estirpe (7,24). Fening e Danso (9) relataram que, dentre 33 isolados que apresentaram alta nodulação em um solo de Gana, na África, foram eficientes apenas 9%.

A testemunha sem nitrogênio, apesar de não diferir da maioria das estirpes, quanto ao NN e à MSN, foi a que menos produziu grãos. Em outras palavras, pode-se afirmar que os rizóbios nativos, embora

produzindo nódulos comparáveis aos da maioria das estirpes, estes foram menos eficientes e resultaram em menor produtividade.

Quanto ao teor de nitrogênio nos grãos, a estirpe UFLA 03-129 e a testemunha sem N ficaram no mesmo grupo, enquanto as demais estirpes ficaram no grupo da testemunha com N mineral. Por outro lado, em relação ao acúmulo de N nos grãos, todos os tratamentos que receberam inoculação ficaram no mesmo grupo da testemunha com N mineral (Quadro 7). O acúmulo de N nos grãos é função do rendimento e do teor de N nos grãos. Considerando a similaridade dos agrupamentos dos tratamentos pelo teste de Scott-Knott, no presente ensaio esse acúmulo foi mais influenciado pelo rendimento de grãos.

Os resultados deste e de outros trabalhos (12, 16, 20, 21) indicam baixa eficiência da BR 2001 em relação a outras estirpes de rizóbio. Como ela é uma estirpe já empregada em inoculante comercial, procurou-se verificar a possibilidade de ter havido contaminação e/ou troca da verdadeira cepa da BR 2001 da coleção da UFLA. Assim, foram solicitadas novas cepas das coleções do IPAGRO/RS e da Embrapa Agrobiologia, que foram crescidas em meio YMA, juntamente com a cepa da Coleção da UFLA oriunda da Embrapa Agrobiologia. Todas as procedências apresentaram as mesmas características culturais em YMA (alcalinização do meio, crescimento lento e pouca produção de goma). Lima (13) verificou que os perfis eletroforéticos de proteína total também foram semelhantes, indicando que não houve troca ou contaminação da estirpe. Embora a BR 2001 esteja registrada na RELARE desde 1985, como estirpe selecionada para fabricação de inoculantes comerciais, no presente estudo ela não apresentou bom desempenho.

CONCLUSÕES

1) As estirpes UFLA 03-35, UFLA 03-36 e UFLA 03-129 são mais eficientes que a BR 2001 na produção de matéria seca da parte aérea do caupi em casa de vegetação.

2) A inoculação das sementes no campo com as estirpes INPA 03-11B, UFLA 03-36, UFLA 03-84 e UFLA 03-129 resulta em rendimentos de grãos equivalentes ao da testemunha que recebeu nitrogênio mineral.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos de laboratório Marlene Aparecida Silva e Manoel Aparecido de Souza, aos alunos de graduação Lamartine Wellington Branquinho e Sandro Lima de Souza, e aos mestrandos Vandeir Gregório Alves e Silvano Rodrigues Santos, pelo valioso auxílio na condução de

análises em geral dos experimentos. Aos professores José Oswaldo Siqueira e Siu Mui Tsai pelas sugestões no texto.

REFERÊNCIAS

1. BERGENSEN, F.J.; BROCKWELL, J.; GIBSON, A. H. & SCHWINGHAMER, E.A. Studies of natural populations and mutants of *Rhizobium* in the improvement of legume inoculants. *Plant and Soil*, 1: 3-16, 1971.
2. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estatísticas. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br> > acessado em: 1999.
3. BRITO, M.P.B. Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada usando ¹⁵N. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1992, 197p. (Dissertação de mestrado).
4. CARDOSO, M.J.; FREIRE FILHO, F. R. & SOBRINHO, C.A. BR14 Mulato: nova cultivar de feijão macassar para o estado do Piauí. Teresina, EMBRAPA/UEPAI, 1990. 4p. (Comunicado Técnico, 48).
5. CARDOSO, M.J.; MELO, F.B. & ANDRADE JUNIOR, A.S. Densidade de plantas de caupi em regime irrigado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 32 :399-405, 1997.
6. COELHO, K.J.F. & NASCIMENTO, R. Nodulação de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) submetido a déficit hídrico crescente no solo. *Agropecuária Técnica*, 20 (2):58-67, 1999.
7. DÖBEREINER, J.; FRANCO, A. A. & GUZMÁN, I. Estirpes de *Rhizobium japonicum* de excepcional eficiência. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 5: 155-61, 1970.
8. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, Embrapa , 2000. 412p.
9. FENING, J.O. & DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. *Applied Soil Ecology*, 2:23-9, 2002.
10. FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45., São Carlos, 2000. Programa e Resumos, UFSCar, 2000. p.235.
11. FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D. & SANTOS, C.A. Melhoramento genético do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: Workshop, Petrolina, 1998, [S.l.], Embrapa Semi-Árido, 1998.
12. LACERDA, A. M. & MOREIRA, F.M.S. Eficiência e seleção de isolados de rizóbio em *Vigna unguiculata*. In: Congresso de Iniciação Científica da UFLA, 13, Lavras, 2000. Resumos, UFLA, 2000, p.46.
13. LIMA, A. S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de solos da Amazônia sob diferentes sistemas de uso da terra.. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2003. 56p. (Dissertação de mestrado).
14. MAGALHÃES, F.M.M. O estado atual do conhecimento sobre fixação biológica de nitrogênio na Amazônia. Simpósio do Trópico Úmido, 1, Belém, 1984. Anais, MA/EMBRAPA/CPATU, 1986. p.499-512.
15. MARTINAZZO, A. F. Potencial de fixação em N₂ em *Vigna unguiculata* Walp. em diferentes condições ambientais. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1989. 154p. (Dissertação de mestrado).
16. MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P. & RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the northeast region of Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*, 29: 1005-10, 1997.
17. MIGUEL, D.L. & MOREIRA, F.M.S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 25: 873-83, 2001.

18. MOREIRA, F. S. M. & SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, Editora UFLA, 2002. 620p.
19. MOREIRA, F. S. M.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSTERS, K. & FRANCO, A. A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. *Systematic and Applied Microbiology*, 16: 135-46, 1993.
20. MOTTA, J. S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. isoladas de áreas de mineração de bauxita reabilitadas. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2002. 43p. (Dissertação de mestrado).
21. PEREIRA, E.G. Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2000. 93p. (Tese de doutorado).
22. RAIJ, B. van. Avaliação da fertilidade do solo. Piracicaba, Instituto Internacional da Potassa, 1981. 142p.
23. RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T. & ALVAREZ V, V.H. (eds.). Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação. Viçosa, Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.
24. SAITO, S.M.T. Avaliação em campo de capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17: 999-1006, 1982.
25. SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. Piracicaba, ESALQ/USP, 1979. 27p.
26. STAMFORD, N. P.; SANTOS, D. R.; SILVA, V.M.; SANTOS, C.E.R.S. & MONTEIRO, M. C. Fixação do N₂ e matéria seca do caupi em dois solos do semi-árido brasileiro submetidos à deficiência hídrica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 14:283-90, 1990.
27. VINCENT, J. M. A. Manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1970. 164 p.
28. ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; FREIRE FILHO, F.R. & NEVES, M.C.P. Seleção de estirpes de rizóbios para inoculação de caupi (*Vigna unguiculata*) em áreas de cerrado. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Caupi, 5, 2001, Teresina-PI. Anais, [s.n.], 2001. p.257-62.