



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA**

ANDREZA DE JESUS CORREIA

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ISOLADAS DE SOLOS COM HISTÓRICO DE DEPOSIÇÃO DE
MANIPUEIRA EM FEIJÃO-CAUPI CULTIVAR EPACE 10**

Cruz das Almas - BA

2017

ANDREZA DE JESUS CORREIA

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ISOLADAS DE SOLOS COM HISTÓRICO DE DEPOSIÇÃO DE
MANIPUEIRA EM FEIJÃO-CAUPI CULTIVAR EPACE 10**

Trabalho de conclusão de curso submetido ao Colegiado de Graduação de Tecnologia em Agroecologia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Agroecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega

Coorientadora: Mc. Joice Xavier de Sousa

Cruz das Almas - BA

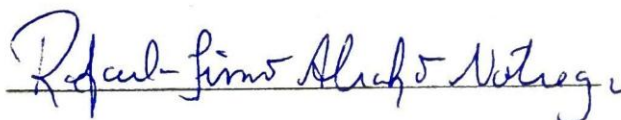
2017

ANDREZA DE JESUS CORREIA

**EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ISOLADAS DE SOLOS COM HISTÓRICO DE DEPOSIÇÃO DE
MANIPUEIRA EM FEIJÃO-CAUPI CULTIVAR EPACE 10**

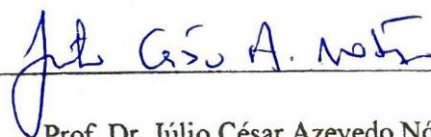
Monografia defendida e aprovada pela banca examinadora

Aprovada em 04/09/2017



Profa. Dra. Rafaela Simão Abrahão Nóbrega

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



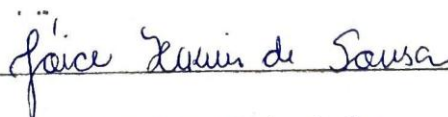
Prof. Dr. Júlio César Azevedo Nóbrega

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Dra. Thaís Emanuelle Feijó de Lima

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Ma. Joice Xavier de Sousa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dedico este trabalho aos meus pais Aline e Joel, e as minhas irmãs Jacqueline e Natália, pelo apoio e por acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Aos meus pais Aline e Joel, e minhas irmãs Natália e Jacqueline por proporcionar a conclusão do curso, pelo carinho e preocupação comigo.

A orientadora Rafaela Nóbrega pela oportunidade de estagiar no Laboratório de Biologia do Solo, pela paciência, disponibilidade, incentivo e pela confiança.

A Aniele, Damiana e Joice pela amizade e ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

A toda minha família, principalmente aos meus tios Ana, Alêda e Zé por estarem sempre presente me apoiando e incentivando.

A Raizza, Isolda e Letícia pela amizade, companhia, apoio e pelas horas de descontração.

As minhas colegas de curso Ângela e Nara pela companhia e amizade.

A Dona Jacira e Seu Raimundo por me acolherem em Cruz das Almas e pela companhia.

A todos os integrantes do Laboratório de Biologia do Solo (Adélia, Damiana, Caeline, Joice, João e Léo) pela ajuda e companhia.

À FAPESB, pelo financiamento do projeto Biotratamento da manipueira e utilização do resíduo como fonte de microrganismos e bioprodutos de interesse ambiental, agrícola e industrial pelo financiamento do projeto anterior, o qual permitiu o desenvolvimento dessa pesquisa e oportunidade de participar de um projeto de iniciação científica.

À professora Dra. Fatima Maria de Souza Moreira e a Universidade Federal de Lavras por terem cedido às estirpes autorizadas inoculantes para o feijão-caupi.

“Não interessa a chegada o importante é caminhar...”.

(BRUNO MASSI)

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de bactérias diazotróficas isoladas de solos com histórico de deposição de manipueira na germinação, nodulação e desenvolvimento de feijão-caupi, cultivar EPACE 10. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, na casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas – CCAAB da UFRB, com 12 tratamentos e quatro repetições, utilizando duas estirpes autorizadas para a cultura, INPA 3-11B e UFLA 3-84, uma estirpe em fase de teste UFLA 3-164, setes estirpes isoladas de solos com histórico de depósito de manipueira, a UFBB NA32B1, UFRB NA84B1-2, UFRB NA52A2, UFRB NA31A2, UFRB NA41A2-2, UFRB NA51C2 e UFRB NA31A1; e duas testemunhas, sem nenhuma fonte de N e outra com N mineral na cultivar do feijão-caupi EPACE 10. Após a semeadura avaliou-se a emergência e germinação durante os 10 primeiros dias, até o estágio V2, no 15º (estádio V2) colocou-se 105,3 mg de nitrogênio na testemunha com N mineral, e após 50 dias de semeadura (estádio R2) coletou-se as plantas para avaliar as variáveis: índice de clorofila, número de folhas, altura, número de nódulos, matéria fresca e seca dos nódulos e matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz, matéria seca total, eficiência e eficácia. A germinação do feijão-caupi não foi influenciada pela inoculação de bactérias diazotróficas. As estirpes UFRB NA52A2, UFRB NA51C2, UFRB NA31A1 e a UFLA 3-164, reduziram a porcentagem de emergência do feijão-caupi. As estirpes selecionadas de solos com histórico de deposição de manipueira são capazes de estabelecer simbiose com o feijão-caupi. A eficácia e eficiência não foram interferidas pela inoculação das estirpes. As estirpes UFRB NA32B1, UFRB NA41A2-2 são capazes de estimular o desenvolvimento radicular do feijão-caupi, cultivar EPACE 10.

Palavras-chave: germinação; fixação biológica de nitrogênio; inoculação

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the symbiotic efficiency of diazotrophic bacteria isolated from soils with a history of manure deposition on germination, nodulation and development of cowpea, EPACE 10 cultivar. The experiment was conducted in a completely randomized design, in the greenhouse of the Center of Agrarian, Environmental and Biological Sciences - CCAAB, UFRB, with 12 treatments and four replicates, using two authorized spores for culture, INPA 3-11B and UFLA 3-84, a strain in test phase UFLA 3-164, seven strains isolated from soils with historic of deposit of cassava wastewater, UFBB NA32B1, UFRB NA84B1-2, UFRB NA52A2, UFRB NA31A2, UFRB NA41A2-2, UFRB NA51C2 and UFRB NA31A1; And two controls, with no source of N and one with mineral N in the EPACE 10 cowpea cultivar. After sowing, emergence and germination were evaluated during the first 10 days up to the V2 stage at the 15th (V2 stage) 105.3 mg of nitrogen was added to the control with mineral N, and after 50 days of planting (R2 stage) the plants were collected to evaluate the variables: chlorophyll index, leaf number, height, number of nodules, matter Fresh and dry nodules and shoot dry matter, root dry matter, total dry matter, efficiency and effectiveness. The germination of cowpea was not influenced by the inoculation of diazotrophic bacteria. The strains UFRB NA52A2, UFRB NA51C2, UFRB NA31A1 and UFLA 3-164, reduced the emergence percentage of cowpea. The selected strains of soils with a history of manure tree deposition are able to establish symbiosis with cowpea. Efficacy and efficiency were not interfered with by inoculation of the strains. The strains UFRB NA32B1, UFRB NA41A2-2 are capable of stimulating the root development of cowpea, EPACE 10 cultivar.

Keywords: germination; biological nitrogen fixation; inoculation

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Valores médios de velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE), porcentagem de emergência (%E), coeficiente de velocidade de emergência (CVE), velocidade de germinação (VG), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G) e tempo médio de germinação (TMG) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado co bactérias diazotróficas28

TABELA 2. Valores médios do número de nódulos (NN), matéria fresca e seca de nódulos (MFN e MSN) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado com bactérias diazotrófica.....29

TABELA 3. Valores médios dos índices de clorofila *a*, *b* e total, número de folhas (NF), altura (H), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST), eficácia (EFSN) e eficiência (EFCN) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado com bactérias diazotróficas.....31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BNL - Bactérias que nodulam leguminosas

BFNNL - Bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas

CCAAB - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas

C/N - Controle com nitrogênio mineral

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

CVE - Coeficiente de velocidade de emergência

E - Porcentagem de emergência

EFCN - Eficácia

EFSN - Eficiência

FBN - Fixação biológica de nitrogênio

G - Porcentagem de germinação

H - Altura

IVE - Índice de velocidade de emergência

IVG - Índice de velocidade de germinação

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MFN - Matéria fresca nódulos

MSN - Matéria seca de nódulos

MSPA - Massa seca da parte aérea

MSR - Matéria seca da raiz

MST - Matéria seca total

NF - Número de folhas

NN - Número de nódulos

S/N - Controle sem inoculação e sem nitrogênio mineral

TMG - Tempo médio de germinação

USP - Universidade de São Paulo

UFLA - Universidade Federal de Lavras

UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

VE - Velocidade de emergência

VG - Velocidade de germinação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 Aspectos gerais da cultura do feijão-caupi.....	16
3.2 Fixação biológica de nitrogênio e outros processos promotores de crescimento vegetal ..	17
3.3 Bactérias diazotróficas e leguminosas.....	20
3.4 Manipueira.....	21
3.5 Inoculação de rizóbios em feijão-caupi.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6 CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma das principais culturas produzidas e consumidas no Brasil, por sua adaptação às condições edafoclimáticas, contribuindo para a geração de emprego e renda para pequenos e médios produtores (AMARAL et al., 2013). Essa leguminosa é uma excelente fonte de proteína, podendo ser consumido os grãos verdes ou secos. Além disso, possui potencial para uso como adubo verde e forragem (COSTA et al., 2011). No entanto, essa cultura ainda apresenta restrições à produtividade, com média de 480 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017), uma vez que, seu cultivo é realizado em solos com baixa fertilidade e uso de poucas tecnologias. Portanto, faz se necessário a adoção de métodos para aprimorar sua produção.

Uma das características importantes do feijão-caupi é a sua capacidade de estabelecer simbiose com as bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas de leguminosas – BFNNL (LACERDA et al, 2004; MOREIRA, 2006). A fixação biológica de nitrogênio (FBN), por meio de estirpes de rizóbios eficientes, apresenta-se como uma alternativa para otimização dos rendimentos de feijão-caupi, podendo reduzir os custos de produção e contribuir para sustentabilidade ambiental. Estudos comprovam, que a FBN, quando eficiente, pode suprir o N que as plantas precisam, dispensando a aplicação do N mineral (LACERDA et al., 2004; ALMEIDA et al., 2010; CHAGAS JÚNIOR et al., 2010; COSTA et al., 2014a; FARIAS et al., 2016a).

Além da FBN, as bactérias diazotróficas podem promover o crescimento das plantas por outras características como a solubilização inorgânica de fosfatos, produção de exopolissacarídeos e síntese de fitohormônios (SILVA et al., 2016). Entre os hormônios que podem ser sintetizados por esses microrganismos, são relatados o ácido indolacético, giberelinas e citocinas (GOPALAKRISHNAN et al., 2015), que podem promover o crescimento vegetal influenciando desde a germinação das sementes até o desenvolvimento das plantas (PATIL et al., 2011; GIRIO et al., 2015).

Bactérias diazotróficas podem ser isoladas de áreas de mineração (NÓBREGA et al., 2004), de ecossistemas amazônicos (SILVA et al., 2011), de solos com depósito de manipueira (SOUSA, 2017) e outros. A manipueira é o resíduo da produção de farinha de mandioca, e através de estudos verifica-se a presença de diversas espécies de bactérias

promotoras de crescimento vegetal neste resíduo (ELIJAH et al., 2004; CARDOSO et al., 2009).

Embora já existam estirpes de rizóbio autorizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2011) como inoculantes para a cultura do feijão-caupi, a eficiência dessas pode sofrer interferência das condições edafoclimáticas do ambiente de cultivo, do cultivar utilizado, além da capacidade de competição com a população de rizóbios nativos dos solos (COSTA et al., 2016). Portanto, a seleção de novas estirpes de rizóbio é necessária para otimização dessa biotecnologia nas mais diversas regiões, pois muitas vezes os rizóbios autorizados podem não ser eficientes em fixar N_2 e competir com as comunidades nativas de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL), o que justifica estudos em diferentes regiões brasileira, principalmente no Recôncavo da Bahia que tem poucos trabalhos sobre a eficiência de bactérias diazotróficas no cultivo do feijão-caupi. O cultivar de feijão-caupi mais utilizado nesta região é EPACE 10, porém há poucos estudos científicos sobre este, o que demonstra a importância de utilizá-lo em pesquisas para melhorar a produção dos agricultores da região.

Para o desenvolvimento de inoculantes bacterianos para a promoção do crescimento vegetal, essas devem ser avaliadas, primeiramente, em ambiente controlado, para posteriormente avaliar sua eficiência em condições de campo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência simbiótica de bactérias diazotróficas isoladas de solos com histórico de deposição de manureira na germinação, nodulação e desenvolvimento de feijão-caupi, cultivar EPACE 10

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência simbiótica de bactérias diazotróficas isoladas de solos com histórico de deposição de manureira na germinação, nodulação e desenvolvimento de feijão-caupi, cultivar EPACE 10.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio na emergência e germinação do feijão-caupi.

Avaliar a nodulação do feijão-caupi por novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio.

Comparar o efeito da inoculação de novas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio com outras atualmente autorizadas pelo MAPA e com os controles com adubação nitrogenada mineral e a testemunha sem nenhuma fonte de nitrogênio.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da cultura do feijão-caupi

O feijão caupi, popularmente chamado de feijão de corda e feijão macassar, é uma leguminosa, dicotiledônea, pertencente à ordem Fabales, da família Fabaceae, tribo Phaseoleae, gênero *Vigna* e espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp (LIMA, et al, 2007). Originária, provavelmente, do continente africano, pode ser consumido com os grãos secos ou verdes (BRITO; MURAOK; SILVA, 2009). Os grãos de feijão são ricos em proteínas, apresenta aminoácidos essenciais, vitaminas, mineiras e carboidratos (DEVI; KUSHWAKA; KUMAR, 2015).

É uma planta herbácea, de produção anual, com crescimento determinado ou indeterminado, podendo ser de crescimento ereto, semi-ereto, semi-prostrado, prostrado ou trepador. Sua germinação é do tipo epigéia e os cotilédones incluídos no primeiro nó do ramo principal da planta (FALL et al., 2003). Sua inflorescência é cimeira, com flores dispostas nas axilas das folhas, o fruto é uma vagem que apresenta tamanho e formas variáveis, com sementes em fileiras, que podem apresentar diferentes formas, tamanho, cor e tegumento. A raiz pode atingir uma profundidade de 2 m, e pode apresentar nódulos devido à associação com bactérias fixadoras de nitrogênio (MAFRA, 1979).

O ciclo fenológico do feijão é compreendido em fase vegetativa e fase reprodutiva. A fase vegetativa é composta pela V0 - semeadura, V1 - emergência dos cotilédones na superfície do solo, V2 - abertura completa das folhas unifolioladas completamente separadas, V3 - separação e abertura completa dos folíolos da primeira folha trifoliada, V4 - separação e abertura completa dos folíolos da segunda folha trifoliada, V5 - separação e abertura completa dos folíolos da terceira folha trifoliada, V6 - surgimento do ramo secundário nas axilas das folhas unifolioladas e nas primeiras folhas trifolioladas, V7 - abertura completa da primeira folha do ramo secundário, V8 - abertura completa da segunda folha do ramo secundário e V9 - abertura completa da terceira folha do ramo secundário. A fase reprodutiva é composta pelo R1 - surgimento do primeiro botão floral no ramo principal, R2 - antese da primeira flor, R3 - início da maturação da primeira vagem, R4 - maturação da metade das vagens da planta e R5 - maturação da maioria das vagens da planta (CAMPOS et al., 2000).

A temperatura ideal para o cultivo do feijão-caupi é na faixa de 20°C a 35°C, o que limita seu cultivo em regiões com temperaturas muito baixas. É uma espécie rústica que se adapta a seca, solo com baixa fertilidade, e quase não é afetada pelo fotoperiodismo (PINHO et al., 2005). É uma cultura adaptada ao clima tropical, capaz de resistir a adversidades como salinidade, altas temperaturas e déficit hídrico. Apresenta um teor elevado de proteína sendo um dos principais alimentos da população das regiões Norte e Nordeste do país (FREIRE FILHO et al., 2005a; FREIRE FILHO et al., 2005b).

Apesar de ser uma cultura importante para alimentação da população brasileira, sua produção ainda é considerada baixa. No Brasil, a produtividade média é de 480 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). A baixa produtividade pode estar relacionada ao baixo incremento tecnológico utilizado em seu cultivo e o uso de cultivares com baixo potencial de produção (CARDOSO; RIBEIRO, 2006).

Essa leguminosa é promíscua, capaz de formar simbiose com bactérias diazotróficas de diversos gêneros, portanto, uma das alternativas para aumentar a produção é aperfeiçoar a fixação biológica de nitrogênio, com a inoculação de bactérias diazotróficas selecionadas quando a sua eficiência (FRANCO et al., 2002; JARAMILLO et al., 2013; SOARES et al., 2014). Diversos estudos com inoculação de bactérias diazotróficas têm sido desenvolvidos, gerando dados que comprovam a eficiência da fixação biológica de nitrogênio em várias regiões, podendo substituir a adubação com N mineral (LACERDA et al., 2004; ZILLI et al., 2009; ALMEIDA et al., 2010; COSTA et al., 2011; BORGES et al., 2012; FERREIRA et al., 2013; MARINHO et al., 2014; FARIAS et al., 2016a, SOUSA, 2017). Desta forma, a inoculação com bactérias adaptadas às diversas condições edafoclimáticas, podem apresentar maior eficiência na fixação de nitrogênio e alto potencial de competição com as espécies nativas (COSTA et al., 2014b).

3.2 Fixação biológica de nitrogênio e outros processos promotores de crescimento vegetal

O nitrogênio é um macronutriente presente nas células de todos os seres vivos, participa da síntese de DNA, RNA e proteínas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2008). Cerca de 78% da atmosfera é composta pelo gás nitrogênio, porém as plantas não absorvem o N nesta forma. Esse nitrogênio pode entrar no sistema solo-planta através da fixação biológica de nitrogênio,

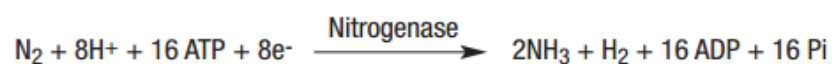
esta apresenta respostas positivas para o ambiente e a economia (FERNANDES; SOUZA, 2006; REIS et al., 2006).

Apesar de está disponível no solo em várias formas (amônio, uréia, nitrato, aminoácidos, peptídeos e formas complexas insolúveis), as plantas só absorvem as formas inorgânicas do nitrogênio, como o amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) (WILLIAMS; MILLER, 2001). O N pode ser disponibilizado para o sistema solo-planta através de descargas elétricas, FBN, mineralização da matéria orgânica e adição de fertilizantes nitrogenados. As vias de saída do nitrogênio do sistema podem ser através da lixiviação, volatilização de amônia e desnitrificação, exportação pela cultura e erosão.

A FBN é o principal meio de incorporação de nitrogênio ao ecossistema, pode ser realizada por bactérias de vida livre, simbióticas ou associativas. As bactérias de vida livre, fixam nitrogênio para seu próprio consumo; bactérias associativas, promove o crescimento da planta, mas não formam nódulos, sendo uma relação assimbiótica; e bactérias simbióticas, a bactéria e a planta são beneficiadas por essa relação, promovendo uma interação simbiótica com formação de estruturas especializadas, denominadas de nódulos (MOREIRA et al., 2010).

A simbiose entre rizóbios e leguminosas consiste no sistema mais estudado, onde ocorre a formação de nódulos nas raízes de leguminosas, que convertem o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3) forma que é absorvida pela planta, utilizada para a formação de elementos essenciais como as proteínas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2008). Dessa forma, a adubação nitrogenada mineral pode ser parcialmente ou totalmente substituída pela inoculação dessas bactérias (CHAGAS JÚNIOR et al., 2010). A FBN é um processo benéfico para as bactérias e as plantas, uma vez que, as plantas se beneficiam do nitrogênio fixado pelas bactérias, e carboidratos produzidos pelas plantas são fornecidos às bactérias, consistindo em uma fonte de energia (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As bactérias diazotróficas possuem a enzima nitrogenase, o que faz delas capazes de reduzir o N_2 para a forma inorgânica combinada NH_3 , tornando-o disponível para as plantas. O processo da FBN é representado em condições normais de pressão e temperatura pela equação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006):



A FBN garante um ecossistema em equilíbrio, proporciona uma agricultura sustentável e reduz à necessidade de aplicação de adubo nitrogenado que em excesso pode contaminar as águas e os vegetais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2008; JADOSKI et al., 2010; JAMES; BALDANI, 2012; BULGARELLI et al., 2013). Os fertilizantes nitrogenados são oriundos de combustíveis fósseis não renovados, o que faz dele um adubo caro. Ele também é um produto que pode sofrer várias reações no solo e ser facilmente perdido (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Além da FBN, as bactérias diazotróficas podem atuar na promoção de crescimento vegetal através da síntese de fitormônios, solubilização de fosfato e outros processos (BULGARELLI et al., 2013). Esses microrganismos podem apresentar resultados positivos no desenvolvimento das plantas, como na germinação de sementes, emergência e crescimento das plantas através da síntese de fitormônios (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Entre os hormônios que podem ser sintetizados pelas bactérias diazotróficas são identificados a auxina, giberlina e citocininas (COSTA et al., 2013; GOPALAKRISHNAN et al., 2015). As auxinas participam dos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, regulando a divisão e alongamento celular, diferenciação, senescência, florescimento, entre outros (TEALE et al., 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). As citocininas participam da divisão celular e influencia o desenvolvimento vascular, mobilização de nutrientes e dominância (NISHIMURA et al., 2004). A giberilina estimula a quebra da dormência, a divisão celular, expansão foliar, alongamento e crescimento do caule (TAIZ; ZEIGER, 2013). Também apresenta papel importante na germinação de sementes, o ácido giberélico ativa as enzimas hidrolíticas e afetam intensamente no desdobramento das substâncias de reserva e auxilia a mobilização do endosperma (GEORGE et al., 2008).

Inoculantes com rizóbios apresentaram interferência na germinação de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) e não interferiram na germinação de cornichão (*Lotus corniculatus* L.) (MARTINS et al., 2015). Na avaliação do efeito da inoculação de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) com estirpes de *Azotobacter* sp. produtores de auxina, favoreceram a germinação e desenvolvimento quando comparado ao controle (PATIL et al., 2011).

A mistura de cinco espécies de bactérias promotoras de crescimento vegetal, a *G. diazotrophicus*, *Azospirillum mazonense*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans*, não apresentaram resultados significativos nas gemas brotadas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), porém, obtiveram resultados positivos no índice de

velocidade de brotação (GIRIO et al., 2015). A inoculação com estirpe de *Pseudomonas synxantha* estimula a emergência e germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), atuando com resultados positivos na porcentagem de germinação, primeira contagem da germinação e emergência (SOARES et al., 2012). Desta forma, a síntese de hormônios por bactérias diazotróficas pode favorecer a emergência e germinação do feijão-caupi.

3.3 Bactérias diazotróficas e leguminosas

As bactérias que nodulam leguminosas (BNL), também denominadas como rizóbios, ocasionam a formação de estruturas específicas predominantemente nas raízes, mas também podem ocorrer no caule das plantas, que são os nódulos, onde ocorre a FBN (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Nos nódulos formados pela relação mutualista entre a planta e os rizóbios, os rizóbios reduzem o N_2 à amônia, que fica disponível para a planta; em troca a planta libera aminoácidos e carbono para a bactéria. Este processo ocorre quando a bactéria entra no tecido vegetal, através de mecanismos de infecção e formam os nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MATA et al., 2011). O estabelecimento dessa relação ocorre em três etapas: a pré-infecção, a infecção da planta pelo rizóbio promovendo a formação dos nódulos e a realização da fixação de nitrogênio nos nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As leguminosas em simbiose com rizóbios apresentam maior concentração de nitrogênio em suas folhas do que outros tipos de plantas que crescem em uma mesma área. Este fato é importante na ciclagem de nutrientes, por causa da rápida mineralização das folhas ricas em nitrogênio (SPRENT, 2001). Os rizóbios são de grande importância ecológica e econômica. A utilização destes microrganismos na agricultura é uma alternativa viável, porém é necessário disseminar essa biotecnologia entre os agricultores.

A adubação nitrogenada industrial vem sendo substituída pelo uso de inoculantes. No Brasil, a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é o maior exemplo de sucesso dessa simbiose, sendo a adubação nitrogenada mineral para essa cultura substituída totalmente por estirpes de rizóbios autorizadas. Para esta cultura existem quatro estirpes no mercado autorizadas pelo MAPA, a CPAC 15 (*Bradyrhizobium japonicum*), CPAC 7 (*Bradyrhizobium japonicum*), SEMIA 587 (*Bradyrhizobium elkanii*) e 29 W (*Bradyrhizobium elkanii*) (BRASIL, 2011). Assim como a soja, o feijão-caupi também possui quatro estirpes autorizadas pelo MAPA, são

elas: UFLA 3-84, BR3267, INPA3-11B e BR 3262, essas pertencem ao gênero *Bradyrhizobium* (BRASIL, 2011).

O MAPA (BRASIL, 2011) apresenta uma lista de cerca de 110 espécies de leguminosas que possuem inoculantes indicados para a sua produção. Para produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) recomenda-se a inoculação de duas estirpes de *Rhizobium tropici*, o milho (*Zea mays*) pode ser inoculado com *Azospirillum brasilense*, o arroz (*Oriza sativa*) com *Azospirillum brasilense*, e diversas outras espécies.

A inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio é uma das alternativas que pode ser usada visando à manutenção da sustentabilidade na agricultura, já que é uma tecnologia natural de baixo custo econômico, fornece nitrogênio para as culturas. Como é uma biotecnologia que não provoca impactos negativos, a FBN pode ser utilizada em sistemas de produção agroecológicos e melhorar a produção nesses sistemas.

3.4 Manipueira

A manipueira é o resíduo líquido proveniente da produção de farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.), é formada pela água de lavagem das raízes e da água derivada da prensagem da mandioca (CARDOSO et al., 2009). A grande produção da farinha de mandioca gera uma quantidade muito grande desse resíduo, que na maioria das vezes é descartado incorretamente, contaminando o solo, mananciais superficiais e subterrâneos (SILVA JÚNIOR et al., 2012).

A manipueira é um subproduto da fabricação de farinha com cor amarela claro, com aspecto leitoso, incluindo cerca de 5 a 7 % de fécula, glicose, ácido cianídrico, e outras substâncias orgânicas como proteínas, lipídeos e carboidratos, e nutrientes minerais (CEREDA, 2001a). Apresenta-se na forma de suspensão aquosa e, quimicamente, como miscelânea de compostos, como goma, açúcares, proteínas, linamarina, derivados cianogênicos, substâncias e sais minerais diversos (CERADA, 2001b). Assim, quando lançada diretamente, sem nenhum tipo de tratamento, em corpos hídricos ou no solo provoca sérios problemas ao meio ambiente.

A cada tonelada de farinha produzida são gerados 300 litros de resíduo líquido de mandioca (COSTA et al., 2010). Logo, esse resíduo requer um destino apropriado para evitar

o seu depósito diretamente no meio ambiente, que conseqüentemente pode acarretar danos para esses locais (NASU; FORMENTINI; FURLANETTO, 2015).

Devido à composição química da manipeira, esta tem potencial para ser utilizada como adubo, já que seu composto apresenta grande quantidade de potássio, nitrogênio, magnésio, fósforo, cálcio e enxofre, ferro e micronutrientes (DUARTE et al., 2012; BARRETO et al., 2013), e é um rico recurso microbiano (SILVA, 2003; ELIJAH et al., 2014).

A manipeira apresenta grande diversidade bacteriana, sendo relatadas 26 espécies de bactérias. Destas destacam-se: *Bacillus subtilis*, *B. pumulus*, *B. licheiformis* e *B. cereus* como microrganismos que possuem potencial para promover o crescimento vegetal (ELIJAH et al., 2014).

As bactérias do gênero *Bacillus* estão presentes em maior quantidade na rizosfera e sua capacidade de promover o crescimento vegetal está sendo bastante pesquisada (SAHARAN; NEHRA, 2011). O gênero *Bacillus* apresenta espécies que não formam nódulos com leguminosas, mas produzem auxina (COSTA et al., 2013). A espécie *Bacillus subtilis* quando co-inoculada com estirpe do gênero *Bradyrhizobium* contribuiu no incremento da matéria seca de feijão-caupi e leucena (*Leucaena leucocephala*) (ARAÚJO et al., 2010). Quando inoculada em milho (*Zea mays*) e arroz (*Oryza sativa*) apresentaram resultados positivos (LIMA et al., 2011).

Considerando que as bactérias presentes na manipeira podem promover crescimento vegetal, os solos com histórico de deposição desse resíduo podem abrigar microrganismos promotores do crescimento vegetal.

3.5 Inoculação de rizóbios em feijão-caupi

A FBN, quando eficiente, pode suprir o N que as plantas precisam, dispensando a aplicação do N mineral (LACERDA et al., 2004; ALMEIDA et al., 2010; COSTA et al., 2011). Pesquisas afirmam que a FBN contribui no incremento da matéria seca das plantas (RODRIGUES et al., 2013).

O feijão-caupi apresenta baixa especificidade de nodulação, sendo capaz de nodular com rizóbios inoculados ou nativos do solo de várias espécies, principalmente, com as do

gênero *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Burkholderia*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* (MOREIRA, 2006; ZILLI et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2012; JARAMILLO et al., 2013; SOARES et al., 2014).

A fixação biológica também pode ser afetada por fatores como a salinidade, disponibilidade de nutrientes no solo, temperatura, acidez do solo, umidade do solo, densidade do inóculo presente no inoculante, baixa capacidade de competição das estirpes com as estirpes nativas do solo, processo de inoculação e outros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os inoculantes podem ser aplicados de diversas formas na semente, em forma líquida ou turfosa. Quando em forma líquida deve ser aplicado a quantidade indicada nas sementes, colocá-las para secar na sombra e, posteriormente fazer a semeadura (EMBRAPA, 2009). Na forma turfosa as sementes devem ser misturadas uma solução açucarada e a turfa com o rizóbio. Para realizar esses procedimentos é necessário utilizar materiais esterilizados, evitando contaminação (HUNGRIA et al., 2001).

O inoculante também pode ser aplicado no sulco de semeadura. O inoculante líquido deve ser acondicionado via aspersão no sulco, a solução deve conter a quantidade mínima de 50 L ha⁻¹. Para garantir a eficácia e a segurança dessa aplicação é recomendado que se utilize uma dose seis vezes maior que a indicada para inoculação de sementes (EMBRAPA, 2004).

A utilização de inoculantes vem mostrando resultados positivos para a cultura em campo, aumentando sua produção (ZILLI et al., 2008; ZILLI et al., 2009; ALMEIDA et al., 2010; COSTA et al., 2011; BORGES et al., 2012; FERREIRA et al., 2013; MARINHO et al., 2014; FARIAS et al., 2016a). No entanto, é necessário investir mais nessa tecnologia e compartilhar com os pequenos agricultores (SOUSA; MOREIRA, 2011).

Estudos mostram que as estirpes UFLA 3-84 e INPA 3-11B, autorizadas pelo MAPA, contribuíram substancialmente na produção do feijão-caupi, em comparação as plantas adubadas com nitrogênio mineral e as não inoculadas. Em vasos de Leonard e em vasos com solos não estéril, Soares et al. (2014) verificaram que a estirpe UFLA 3-164 demonstrou eficiência em fixar nitrogênio quando inoculada em feijão-caupi. Em condições de campo, as estirpes apresentaram resultados significativos na produção de grãos de feijão-caupi com a inoculação dessas estirpes, em estudo realizado no estado do Piauí (FERREIRA et al., 2013).

O feijão-caupi, cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense, apresentou maior produtividade quando inoculada com a estirpe INPA 3-11B em relação à adubação nitrogenada (GUALTER et al., 2011). No município de Confresa - MT, a estirpe INPA 3-11B favoreceu o aumento de 41% na produção de grãos desse feijão em relação à testemunha sem N mineral e sem inoculação de bactérias (SOUZA; MOREIRA, 2011). Porém, nem sempre a inoculação dessas estirpes apresenta resultados positivos, como no experimento que não houve aumento na produção dos grãos quando utilizada a inoculação das estirpes INPA 3-11B e a UFLA 3-84 (COSTA, 2011).

A falta de resultados positivos pode está relacionado à densidade populacional de estirpes nativas e o alto poder de competição delas com as estirpes inoculadas, e aos fatores edafoclimáticos (SOARES et al., 2006). As estirpes nativas apresentam eficiência variável de fixação e fornecimento de N para a planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A identificação de novas bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas é importante para a criação de produtos biotecnológicos para ser usados pelos agricultores substituindo parcialmente ou totalmente os fertilizantes nitrogenados (MARRA et al., 2012). Desta forma, é necessário desenvolver mais pesquisas com rizóbios, a fim de encontrar estirpes adaptadas as condições locais e que possa aumentar a produção do feijão-caupi, gerando uma renda maior ao produtor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, no Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas – CCAA, em Cruz das Almas – Bahia (12°40'19''S e 39°06'22''W), durante 50 dias, entre os meses de dezembro de 2016 e janeiro de 2017.

O solo utilizado foi proveniente da estação experimental da UFRB, caracterizado por ser Latossolo Amarelo distrocoeso de textura média. A área da coleta foi cultivada anteriormente com mamona (*Ricinus communis* L.) e possui um histórico de cultivo convencional sem nenhum relato de uso de inoculante. Esse foi coletado da camada de 0 a 20 cm, passou em peneira com 4 mm de abertura, em seguida, retirou-se uma amostra que foi encaminhada para o Laboratório de análise de solo e nematóides da Universidade de São Paulo - USP, para a realização das análises químicas e outra amostra foi encaminhada para o Laboratório de física do solo da UFBB. Posteriormente foi acondicionado em vasos plásticos com capacidade de 3L para condução do experimento.

As características químicas do solo avaliadas na camada de 0 a 20 cm foram: pH em H₂O 5,8; CTC 2,8 cmol_c dm⁻³; SB (Soma de Bases) 0,9 cmol_c dm⁻³; V 32,1%; MO (matéria orgânica) 14,4 g dm⁻³; Al 0,2 cmol_c dm⁻³; H+Al 1,9 cmol_c dm⁻³; S 6,9 mg dm⁻³; P (Mehlich 1) 10,9 mg dm⁻³; K 37,6 mg dm⁻³; Ca 0,5 cmol_c dm⁻³; Mg 0,3 cmol_c dm⁻³; Cu 0,65 mg dm⁻³; Fe 55,4 mg dm⁻³; Mn 20,7 mg dm⁻³; Zn 1,3 mg dm⁻³; B 0,37 mg dm⁻³.

O delineamento foi inteiramente casualizado, composto por 12 tratamentos e quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. Os tratamentos foram compostos por duas estirpes já autorizadas pelo MAPA para o cultivo do feijão-caupi (LACERDA et al., 2004): INPA 3-11B (BR 3301) e UFLA 3-84 (BR 3302); uma estirpe em fase de teste a UFLA 3-164, proveniente de solo de mineração de bauxita em recuperação (MELLONI et al., 2006) e que foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Lavras - UFLA; sete estirpes isoladas no Laboratório de Biologia do Solo da UFRB, oriundas de solos com histórico de deposição de manípueira da cidade de Vitória da Conquista – BA e selecionadas em meio de cultura NFb (DÖBEREINER et al., 1995) e em condições controladas: UFRB NA32B1, UFRB NA84B1-2, UFRB NA52A2, UFRB NA31A2, UFRB NA41A2-2, UFRB NA51C2 e UFRB NA31A1. Os demais tratamentos consistiram de duas

testemunhas, uma com nitrogênio mineral com aplicação de 105,3 mg de nitrogênio por vaso, e a outra testemunha sem adubação nitrogenada e sem inoculação.

Para obtenção do inóculo, as bactérias foram crescidas em meio de cultura 79 semissólido e incubadas BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), por quatro dias, a 25°C, obtendo-se a fase log de crescimento com concentração mínima de 10^8 células g^{-1} de inoculante. Em cada repetição foi adicionada 1 mL do inoculante sobre a semente. Nos controles sem inoculação, foram adicionadas 1 mL do meio de cultura 79 semissólido, sem inóculo.

Utilizou-se o cultivar EPACE 10, adquirido na feira livre do município de Cruz das Almas - BA. As sementes passaram pelo processo de desinfestação superficial com etanol 98% durante 30 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 2 minutos e três lavagens com água destilada estéril, método também utilizado por Costa et al. (2016).

A semeadura foi realizada utilizando cinco sementes por vaso. Após o plantio as plantas foram irrigadas diariamente e todas receberam a mesma quantidade de água, 200 mL por repetição. Durante os primeiros 10 (estádio V0 – V2) dias avaliou-se a emergência e germinação das sementes e no 15º (estádio V2) dia realizou-se o desbaste das plantas, deixando duas plantas por vaso.

Com os dados obtidos da avaliação da emergência e germinação durante os primeiros 10 dias de semeadura foi determinado a velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE), porcentagem de emergência (%E), coeficiente de velocidade de emergência (CVE), velocidade de germinação (VG), porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG).

A emergência foi considerada com o desenvolvimento da semente e a germinação foi avaliada quando as plantas apresentaram emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal (BRASIL, 2009).

A velocidade de emergência (VE) e velocidade de germinação (VG) foi calculada conforme a metodologia proposta por Edmond e Drepala (1958), utilizando a seguinte fórmula: $VE \text{ ou } VG = [(N_1 G_1) + (N_2 G_2) + \dots + (N_n G_n)] / (G_1 + G_2 + \dots + G_n)$. Em que N é o número de dias da semeadura a cada avaliação e G é o número de plantas emergidas ou germinadas observadas a cada contagem.

O índice de velocidade de emergência (IVE) e o índice de velocidade de germinação foram determinados pela fórmula: IVE ou $IVG = \sum (n_i / t_i)$, em que n é o número de sementes que emergiram ou germinaram no tempo 'i', t_i é o tempo após o plantio das sementes e i é 1 até 10 dias, que é o período de avaliação da germinação (MAGUIRE, 1962).

A porcentagem de emergência (%E) e a porcentagem de germinação (%G) foi calculada pela fórmula $\%E$ ou $\%G = (N * 100) / N$, em que N é número de plantas emergidas por repetição. O coeficiente de velocidade de emergência foi dado a partir da fórmula $CVE = (G_1 + G_2 + \dots + G_n) / (N_1 G_1) + (N_2 G_2) + \dots + (N_n G_n) \times 100$, sendo CVE = coeficiente de velocidade de emergência, G o número de plântulas emergidas a cada avaliação e N é o número de dias da semeadura a cada avaliação (FURBECK et al., 1993). O tempo médio de germinação foi determinado com a fórmula $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$, n_i é o número de sementes germinadas por dia, t_i é o tempo da avaliação da emergência, i é 1 à 10 dias (LABOURIAU, 1983).

As plantas foram cultivadas até o florescimento (estádio R2), que ocorreu aos 50 dias do ensaio. Em seguida as plantas foram coletadas e avaliaram-se os seguintes variáveis: índice de clorofila, utilizando clorofilômetro eletrônico (clorofiLOG CFL 1030) da marca Falker, sendo a unidade expressa como índice de clorofila falker (ICF) de forma adimensional. Utilizando-se uma régua graduada em cm foi determinada a altura das plantas (H). Avaliou-se também o número de folhas (NF), número de nódulos (NN), matéria fresca dos nódulos (MFN). Posteriormente, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas em estufa de circulação de ar forçado por 72 horas a 60 °C, após esse período, foi determinado a matéria seca dos nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria secada raiz (MSR) e matéria seca total (MST).

Com os dados de matéria seca da parte aérea calculou-se a eficácia (EFSN) e eficiência (EFCN) das estirpes em relação às testemunhas. Para calcular a eficácia usou-se a fórmula: $Eficácia = (MSPA \text{ inoculada}) * 100 / (MSPA \text{ da testemunha absoluta})$. A eficiência foi determinada pela relação: $Eficiência = (MSPA \text{ inoculada}) * 100 / (MSPA \text{ da planta adubada com N mineral})$.

Os dados foram submetidos à análise de variância com o teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2014). As variáveis NN, MFN, MSN, EFSN e EFCN foram transformadas em raiz quadrada de $(X+0,5)^{0,5}$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, a inoculação das estirpes de bactérias diazotróficas não proporcionaram efeitos significativos para os variáveis de qualidade fisiológica das sementes avaliadas, uma vez que, houve efeito significativo apenas para a variável porcentagem de emergência (E%), em que, as estirpes UFRB NA32B1, UFRB NA84B1-2, UFRB NA31A2, UFRB NA41A2-2 apresentaram resultados semelhantes às estirpes autorizadas pelo MAPA para feijão-caupi, enquanto as estirpes INPA 3-11B e UFLA 3-84, não diferiram do tratamento sem inoculação (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE), porcentagem de emergência (%E), coeficiente de velocidade de emergência (CVE), velocidade de germinação (VG), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G) e tempo médio de germinação (TMG) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado com bactérias diazotróficas.

Tratamentos	VE	IVE	%E	CVE	VG	IVG	%G	TMG
	dia	plântulas dia ⁻¹	-----%-----		dia	plântulas dia ⁻¹	%	dia
UFRB NA32B1	6,84 a	6,35 a	100,00 a	14,06 a	7,62 a	3,60 a	100,00 a	3,24 a
UFRB NA84B1-2	6,75 a	5,72 a	90,00 a	13,83 a	7,82 a	3,05 a	90,00 a	2,63 a
UFRB NA52A2	6,92 a	4,65 a	80,00 b	10,24 a	7,88 a	2,63 a	80,00 a	2,28 a
UFRB NA31A2	6,47 a	7,12 a	95,00 a	14,07 a	7,76 a	3,37 a	95,00 a	2,91 a
UFRB NA41A2-2	6,56 a	6,41 a	90,00 a	14,01 a	7,80 a	3,25 a	90,00 a	2,77 a
UFRB NA51C2	6,64 a	5,70 a	80,00 b	14,23 a	7,97 a	2,50 a	75,00 a	2,15 a
UFRB NA31A1	7,32 a	3,01 a	65,00 b	13,36 a	8,29 a	1,67 a	85,00 a	1,37 a
INPA 3-11B	7,01 a	5,70 a	100,00 a	13,72 a	7,81 a	3,35 a	95,00 a	2,89 a
UFLA 3-164	6,65 a	5,27 a	80,00 b	14,10 a	7,93 a	2,52 a	80,00 a	2,14 a
UFLA 3-84	6,62 a	6,18 a	90,00 a	14,12 a	7,77 a	3,08 a	90,00 a	2,65 a
S/N	7,13 a	4,90 a	95,00 a	13,72 a	8,12 a	2,77 a	95,00 a	2,31 a
Média	6,81	5,55	88,73	13,59	7,89	2,89	88,64	2,49
CV (%)	6,15	29,06	16,48	14,85	4,9	30,03	19,42	33,39

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Observa-se que a inoculação com as estirpes UFRB NA52A2, UFRB NA51C2, UFRB NA31A1 e UFLA 3-164 reduziram a porcentagem de emergência das plântulas, uma vez que essas obtiveram médias inferiores ao controle sem inoculação. As bactérias diazotróficas podem produzir hormônios que venham a estimular a germinação e o desenvolvimento das

culturas. No entanto, para a eficiência desses hormônios, existe uma faixa de concentração na qual beneficiam o crescimento das plantas, portanto, fora dessa faixa benéfica as concentrações mais baixas se tornam ineficazes e as mais elevadas poderão ser tóxicas (SCHLINDWEIN et al., 2008).

A porcentagem de emergência observada nos melhores tratamentos variou de 90 a 100% para as plântulas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Teófilo et al. (2008) e Dutra et al. (2007) avaliando a qualidade fisiológica de sementes, sem nenhum inoculante, oriundas de diferentes localidades do estado do Ceará, do mesmo cultivar utilizado nesse estudo, observaram uma taxa de emergência variando de 92 a 98% e 94 a 99%, respectivamente.

Foram observadas diferentes respostas para a maioria das cepas avaliadas quanto à nodulação e promoção do feijão-caupi (Tabela 2). Todas as estirpes foram capazes de nodular as plantas, ratificando que o feijão-caupi é uma espécie promíscua, corroborando com outros estudos (MARRA et al., 2012; SOARES et al., 2014; COSTA et al., 2016). O número de nódulos (NN) e matéria seca dos nódulos (MSN) são critérios estabelecidos no protocolo do MAPA (2011) para avaliar a eficiência simbiótica entre as bactérias fixadoras de nitrogênio e leguminosas. Além do NN, o estímulo de produção da MSPA é um dos principais fatores analisados na seleção de estirpes e para recomendação de inoculantes (COSTA et al., 2013).

Tabela 2. Valores médios do número de nódulos (NN), matéria fresca e seca de nódulos (MFN e MSN) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado com bactérias diazotróficas.

Tratamentos	NN	MFN	MSN
	número planta ⁻¹	mg planta ⁻¹	
UFRB NA32B1	20,00 b	12,50 c	9,67 c
UFRB NA84B1-2	24,25 b	12,75 c	8,83 c
UFRB NA52A2	33,25 a	18,75 b	14,88 b
UFRB NA31A2	34,13 a	14,50 c	11,50 c
UFRB NA41A2-2	18,75 b	38,50 a	19,50 a
UFRB NA51C2	18,50 b	22,50 b	14,25 b
UFRB NA31A1	7,13 c	7,83 d	5,17 d
INPA 3-11B	23,75 b	22,25 b	13,75 b
UFLA 3-164	24,25 b	21,06 b	14,00 b
UFLA 3-84	24,38 b	23,50 b	13,17 b
S/N	19,50 b	11,00 c	11,17 c

C/N	3,25 c	7,17 d	3,00 d
Média	17,34	15,44	11,07
CV (%)	29,03	13,47	10,38

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

As estirpes, UFRB NA52A2 e UFRB NA31A2, promoveram o maior número de nódulos, diferindo significativamente dos demais tratamentos, inclusive, das estirpes autorizadas pelo MAPA para essa cultura. As estirpes UFRB NA32B1, UFRB NA84B1-2, UFRB NA41A2-2, UFRB NA51C2 e UFLA 3-164 proporcionaram números de nódulos semelhantes às duas estirpes autorizadas INPA 3-11B e UFLA 3-84 e ao controle sem inoculação (S/N). A estirpe UFRB NA31A1 apresentou baixa eficiência simbiótica nesse estudo para todas as variáveis avaliadas (Tabela 1), sendo semelhante ao controle com N mineral (C/N).

A nodulação nas plantas de feijão-caupi, proporcionadas pelo tratamento sem inoculação, indicam a presença de rizóbios nativos presentes no solo estudado. Em se tratando de uma cultura com capacidade de nodular com bactérias de diversos gêneros, são muito comuns estudos em que se verificam médias significativas para o número e massa de nódulos em razão das populações nativas de rizóbios nos solos (COSTA et al., 2014a; FARIAS et al., 2016b). Os rizóbios nativos são bastante competitivos, mas apresentam baixa eficiência na fixação de nitrogênio. Porém, quando há deficiência de nitrogênio no solo as estirpes nativas podem apresentar eficiência próxima as obtidas por estirpes recomendadas para a cultura. As estirpes nativas podem apresentar capacidade eficiente (FREITAS; SILVA; SAMPAIO, 2012).

Avaliando a eficiência da estirpe em fase de seleção UFLA 3-164 e das duas estirpes autorizadas, INPA 3-11B e UFLA 3-84 inoculadas em feijão-caupi, com o mesmo solo utilizado no presente estudo e sob condições controladas, não verificou diferença significativa entre essas e o tratamento sem inoculação para as variáveis que avaliam a nodulação, apontando a existência de rizóbios nativos do solo capazes de nodular essa leguminosa (COSTA, 2016).

A estirpe UFRB NA41A2-2 proporcionou as maiores médias para as variáveis matéria fresca de nódulos e matéria seca de nódulos, diferindo significativamente das demais estirpes, inclusive das autorizadas. As estirpes UFRB NA52A2, UFRB NA51C2 e UFLA 3-164 foram semelhantes às estirpes autorizadas, INPA 3-11B e UFLA 3-84, para a MFN e MSN (Tabela

2). Apesar da estirpe UFRB NA31A2 ter promovido um grande NN em relação a outras estirpes, para as variáveis matéria fresca e seca dos nódulos, essa estirpe comportou-se maneira semelhante às estirpes UFRB NA32B1 e UFRB NA84B1-2 e ao controle sem inoculação. Demonstrando a importância da avaliação conjunta do número e massa dos nódulos, uma vez que poderá ocorrer um número de nódulos significativos, no entanto, não refletindo em ganhos de massa.

Observou uma grande redução para todas as variáveis avaliadas quanto à nodulação quando se aplicou o N mineral, indicando que, a presença dessa fonte de N inibe a formação dos nódulos, conforme concluem vários estudos (MARTINS et al., 2013; COSTA et al., 2014a; FARIAS et al., 2016b).

Não houve efeito da inoculação das estirpes para os índices de clorofila *a*, *b* e total, número de folhas (NF), altura (H), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), eficácia e eficiência (EFSN e EFCN) das plantas de feijão-caupi, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para a variável MSR.

A matéria seca da raiz (MSR) obteve resultados significativos nos tratamentos com as estirpes UFRB NA32B1, UFRB NA41A2-2, que não diferiram da estirpe autorizada INPA 3-11B. COSTA et al. (2013) verificaram maiores médias de MSR em feijão-caupi, sob condições controladas em vasos Leonard, quando inoculada com a estirpe INPA 3-11B, diferindo significativamente das estirpes autorizadas UFLA 3-84 e BR 3267. Em ambiente controlado utilizando vasos de Leonard, as estirpes INPA 03-11B e a UFLA 03-84 apresentaram resultados positivos em relação ao controle com baixa dose de nitrogênio para MSR, porém o controle com uma dose maior apresentou o melhor resultado (COSTA et al., 2016).

Tabela 3. Valores médios dos índices de clorofila *a*, *b* e total, número de folhas (NF), altura (H), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST), eficácia (EFSN) e eficiência (EFCN) das plantas de feijão-caupi, cultivar EPACE 10, inoculado com bactérias diazotróficas.

Tratamentos	Índice de clorofila			NF planta ⁻¹	H cm	MSPA -----mg planta ⁻¹ -----	MSR	MST	EFSN -----%-----	EFCN
	<i>a</i>	<i>b</i>	Total							
UFRB NA32B1	38,88 a	19,21 a	58,09 a	7,63 a	28,20 a	2163 a	563 a	2728 a	153,12 a	125,39 a
UFRB NA84B1-2	40,94 a	20,86 a	61,80 a	6,88 a	23,39 a	1290 a	308 b	1595 a	87,34 a	78,73 a
UFRB NA52A2	41,63 a	23,64 a	65,26 a	6,25 a	24,49 a	1775 a	360 b	2138 a	116,33 a	105,36 a
UFRB NA31A2	38,46 a	19,05 a	57,51 a	6,88 a	27,84 a	2055 a	385 b	2440 a	131,28 a	128,46 a

UFRB NA41A2-2	39,21 a	19,81 a	59,03 a	6,00 a	26,70 a	1845 a	610 a	2446 a	121,39 a	125,01 a
UFRB NA51C2	40,74 a	22,23 a	62,98 a	8,25 a	25,44 a	1605 a	460 b	2068 a	105,26 a	102,85 a
UFRB NA31A1	37,08 a	18,13 a	55,20 a	8,13 a	24,11 a	1153 a	390 b	1543 a	74,88 a	72,42 a
INPA 3-11B	41,79 a	23,45 a	65,24 a	6,00 a	26,14 a	1705 a	505 a	2213 a	118,26 a	104,56 a
UFLA 3-164	40,31 a	20,94 a	61,25 a	8,38 a	26,01 a	1580 a	440 b	2018 a	96,18 a	109,09 a
UFLA 3-84	38,36 a	20,71 a	59,08 a	6,25 a	25,26 a	1480 a	445 b	1925 a	96,42 a	96,71 a
S/N	41,22 a	23,44 a	64,66 a	7,13 a	24,70 a	1575 a	405 b	1978 a	100,00 a	101,86 a
C/N	41,55 a	21,50 a	63,05 a	7,88 a	27,23 a	1820 a	355 b	2170 a	129,89 a	100,00 a
Média	40,01	21,08	61,09	7,14	25,79	1670,41	436	2106	110,86	104,2
CV	8,44	21,09	12,45	19,76	12,51	35,01	26,92	32,16	20,64	26,27

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A ausência de diferença significativa para essas variáveis indica que as estirpes que não foram eficientes na nodulação das plantas de feijão-caupi, possivelmente promovem o crescimento das plantas por outros processos biológicos não avaliados nesse trabalho como síntese de fitormônios, solubilização de fosfato, produção de exopolissacarídeos, podem atuar como controle biológico, aumento da resistência das plantas contra fitopatógenos e insetos, entre outros (GOPALAKRISHNAN et al., 2015; SILVA et al., 2016).

A eficiência da fixação biológica de nitrogênio pode sofrer interferência de fatores como o genótipo da espécie hospedeira, das condições do solo, do clima, da eficiência do rizóbio e da capacidade de competição com as bactérias nativas do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Desta forma, os rizóbios nativos do solo utilizado no experimento, podem ter interferido na fixação biológica de nitrogênio pelas estirpes selecionadas e podem apresentar capacidade eficiente na nodulação de feijão-caupi.

A seleção de novas bactérias que fixam e nodulam leguminosas é uma das alternativas para melhorar a produção agrícola e diminuir a utilização de fertilizantes nitrogenados (MARRA et al., 2012). Os inoculantes com rizóbios são produtos biotecnológicos que podem ser utilizados na produção agroecológica para melhorar o cultivo de leguminosas, como o feijão-caupi, sem provocar danos ao ambiente e a saúde humana. Desta forma, é necessário desenvolver mais pesquisas com rizóbios, para encontrar estirpes adaptadas às condições locais e que possa aumentar a produção do feijão-caupi e aumentar a renda do produtor.

Como as estirpes UFRB NA32B1 e UFRB NA41A2-2 apresentaram bons resultados no incremento da matéria seca da raiz, novos estudos podem ser desenvolvidos com co-

inoculação com outras estirpes de bactérias eficientes na promoção de H, MSPA, NN, MFN e MSN.

6 CONCLUSÕES

A germinação do feijão-caupi não foi influenciada pela inoculação de bactérias diazotróficas.

As estirpes UFRB NA52A2, UFRB NA51C2, UFRB NA31A1 e a UFLA 3-164, reduziram a porcentagem de emergência do feijão-caupi.

As estirpes selecionadas de solos com histórico de deposição de manureira são capazes de estabelecer simbiose com o feijão-caupi, cultivar EPACE 10.

A eficácia e eficiência não foram interferidas pela inoculação das estirpes.

As estirpes UFRB NA32B1, UFRB NA41A2-2 são capazes de estimular o desenvolvimento radicular do feijão-caupi, cultivar EPACE 10.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. L. G. ALCÂNTARA, R. M. C. M.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 364-366, 2010.

AMARAL, F. H. C.; NÓBREGA, J. C. A.; MARTINS, R. N. L.; SILVA, A. F. T.; COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; LUSTOSA FILHO, J. F.; DIÓGENES, L. C.; PACHECO, L. P. Productivity and nodulation of cowpea inoculated in function of phosphorus and potassium. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 11, p. 86-92, 2013.

ARAÚJO, A. S. F.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre nodulação, fixação de N₂ e crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 182-185, 2010.

BARRETO, M. T. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R.; MAGALHÃES, A. G.; TAVARES, U. E.; DUARTE, A. S. Atributos químicos de dois solos submetidos à aplicação de manipueira. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 528-534, 2013.

BORGES, P. R. S.; SABOYA, R. C. C.; SABOYA, M. F.; DOS SANTOS, E. R.; SOUZA, S. E. A. Distribuição de massa seca e rendimento de feijão-caupi inoculadas com rizóbio em Gurupi, TO. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 37-44, 2012.

BRASIL. **Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011 anexo** – protocolo oficial para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica de cepas, inoculantes e tecnologias relacionados ao processo de fixação biológica de nitrogênio em leguminosas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, nº 58 de 25 mar. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 149 p.

BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de 15 N. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n. 4, p.895-905, 2009.

BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.

CAMPOS, F. L.; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. A.; SILVA, R. Q. B.; ROCHA, M. M. Ciclo fenológico em caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp): Uma proposta de escala de desenvolvimento. **Revista Científica Rural**, v.5, n. 2, p.110-116, 2000.

CARDOSO, E.; CARDOSO, D.; CRISTIANO, M.; SILVA, L.; BACK, A. J.; BERNADIM, A. M.; PAULA, M. M. S., Use of *manihot esculenta*, crantz processing residue as biofertilizer in corn crops. **Research Journal of Agronomy**, v.3, n. 1, p.1-8, 2009.

CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q. Desempenho agrônômico do feijão-caupi, cv. Rouxinol, em função de espaçamentos entre linhas e densidades de plantas sob regime de sequeiro. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 2, p. 102-105, 2006.

CEREDA, M. P. Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. Série culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas. **Fundação Cargill**, São Paulo, p.340, 2001a.

CEREDA, M. P. Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. **Fundação Cargill**, São Paulo, v.4, p.67-79, 2001b.

CHAGAS JUNIOR, 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 Agrônômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Safra 2017. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_03_14_15_28_33_boletim_graos_marco_2017bx.pdf. Acesso em: 28 mar. 2017.

COSTA, E. M.; CARVALHO, F.; NÓBREGA, R. S. A.; SILVA, J. S.; MOREIRA, F. M. S. Bacterial strains from floodplain soils perform different plant-growth promoting processes and enhance cowpea growth. **Scientia Agrícola**, v. 73, n. 4, p. 301-310, 2016.

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

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; FERREIRA, L. V. M.; AMARAL, F. H. C.; SILVA, A. F. T.; NÓBREGA, J. C. A.; MOREIRA, F. M. S. Growth and yield of the cowpea cultivar

BRS Guariba inoculated with rhizobia strains in southwest Piauí. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, p. 3073-3084, 2014a.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; MARTINS, L. V.; AMARAL, FF. H. C.; MOREIRA, F. M. S. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2011.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; SILVA, A. F.; FERREIRA, L. V. M.; NÓBREGA, J. C. A.; MOREIRA, F. M. S. Resposta de duas cultivares de feijão-caupi à inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n. 4, p.489-494, 2014b.

COSTA, F. M. **Nodulação e crescimento de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] inoculado com estirpes de rizóbio em ambiente protegido**. 2016. 34f. Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

COSTA, S. G.V. A. O.; NITSCHKE, M.; LÉPINE, F.; DÉZIEL, E.; CONTIERO, J. Structure, properties and applications of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* L2-1 from cassava wastewater. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p.1511–1516, 2010.

DEVI, C. B.; KUSHWAHA, A.; KUMAR, A. Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6821-6827, 2015.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária, Seropédica, Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária — Centro Nacional de Pesquisa Agrobiologia, 1995. 60p.

DUARTE, A. S.; SILVA, E. F.; ROLIM, M. M.; FERREIRA, R. F. A. L.; MALHEIROS, S. M. M.; ALBUQUERQUE, F. S. Uso de diferentes doses de manipueira na cultura da alface em substituição à adubação mineral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 3, p. 262-267, 2012.

DUTRA, A. S.; TEÓFILO, E. M.; MEDEIROS FILHO, S.; DIAS, F. T. C. Qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi em quatro regiões do estado do Ceará. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 111-116, 2007.

EDMOND, J.B.; DRAPALA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v. 71, n. 1, p. 428-34, 1958.

ELIJAH, A. I.; ATANDA, O. O.; POPOOLA, A. R.; UZOCHUKWU, S. V. A. Molecular characterization and potential of bacterial species associated with cassava waste. **Nigerian Food Journal**, v.32, n. 2, p.56-65, 2014.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo de Soja no Cerrado de Roraima**. 2009. Disponível em:

<<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/CultivodeSojanoCerradodeRoraima/tratamentosemente.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil**. 2004. Disponível em:

<<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/index.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

FALL, L.; DIOUF, D.; FALL-NDIAYE, M. A.; BADIANE, F. A.; GUEY, M. G. Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] varieties determined by ARA and RAPD techniques. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 2, p.48-50, 2003.

FARIAS, T. P.; SOARES, B. L.; ARAÚJO, A. R. A.; MOREIRA, F. M. S. Symbiotic efficiency of rhizobia strains with cowpea in southern Maranhão. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 611-618, 2016b.

FARIAS, T. P.; TROCHMANN, A.; SOARES, B. L.; MOREIRA, F. M. Rhizobia inoculation and liming increase cowpea productivity in Maranhão State. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 3, p. 387-395, 2016a.

FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R. Absorção de nutrientes. In: FERNANDES, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p.115-152, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n. 2, p.109-112, 2014.

FERREIRA, L. V. M.; NOBREGA, R. S. A.; NOBREGA, J. C. A.; AGUIAR, F. L.; MOREIRA, F. M. S.; PACHECO, L. P. Biological nitrogen fixation in production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Family Farming in Piauí, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v.5, n. 4, p. 153-160, 2013.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S.T. A.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S.M. Nodulation in Andean and Mesoamerican cultivars of dry bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n. 8, p.1145-1150, 2002.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; VIANA, F. M. P.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 519-640, 2005a.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A.; RIBEIRA, A. **Feijão caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 519, 2005b.

FREITAS, A. D. S.; SILVA, A. F.; SAMPAIO, E. V. S. B. Yield and biological nitrogen fixation of cowpea varieties in the semi-arid region of Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 45, p. 109-114, 2012.

FURBECK, S. M.; BOURLAND, F. M.; WATSON JÚNIOR, C. E. Relationship of seed and germination measurements with resistance to seed weathering cotton. **Seed Science and Technology**, v.21, n. 3, p. 505-12, 1993.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. **Plant propagation by tissue culture**, 3 ed. Springer, 2008.

GIRIO, L. A. S.; DIAS, F. L. F.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; SCHULT, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 33-43, 2015.

GOPALAKRISHNAN, S.; SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI. R.; RAJEEV KUMAR VARSHNEY, R. K.; GOWDA, C. L. L.; KRISHNAMURTHY, L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. **3 Biotech**, v. 5, n. 4, p. 355-377, 2015.

GUALTER, R. M. R.; BODDEY, R. M.; RUMJANEK, N. G.; FREITAS, A. C. R.; XAVIER, G. R. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p.303-308, 2011.

GUIMARÃES, A. A.; JARAMILLO, P. M. D.; NÓBREGA, R. S. A.; FLORENTINO, L. A.; SILVA, K. B.; MOREIRA, F. M. de S. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, 2012.

HUNGRIA, M.; HUEIRE, L. M O.; COCA, R. G.; MEGIAS, M. Preliminary characterization of fast growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Soil Bioogy and Biochemistry**, v. 33, n. 10, p. 1349-1361, 2001.

JADOSKI, S. O.; SAITO; L. R. PRADO; C.; LOPES; E. C.; SALES; L. L. S. R.. Características da lixiviação de nitrato em áreas de agricultura intensiva. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.3, n. 1, p. 193-200, 2010.

JAMES, E. K.; BALDANI, J. I. The role of biological nitrogen fixation by non-legumes in the sustainable production of food and biofuels. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1, p. 1-3, 2012.

JARAMILLO, P. M. D.; GUIMARÃES, A. A.; FLORENTINO, L. A.; SILVA, K., B.; NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M S. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems in the Western Amazon. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 6, p. 397-404, 2013.

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**, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

LIMA, C. J. G. S.; OLIVEIRA, F. de A.; MEDEIROS, J. F. de; OLIVEIRA, M. K. T.; ALMEIDA JÚNIOR, A. B. de. Resposta do feijão-caupi a salinidade da água. **Revista Verde**, v.2, n. 2, p. 79-86, 2007.

LIMA, F. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; ARAÚJO, F. F.;LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. F. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 4, p. 544-550, 2011.

MAFRA, R. C. Contribuição ao estudo do “feijão massacar”: fisiologia, ecologia e tecnologia de produção. In: Curso de treinamento para pesquisadores de feijão-caupi, **Anais...**, Ed. EMBRAPA-CNPAP/IITA, Goiânia, p.1- 39, 1979.

MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura**, Instrução Normativa nº 13, 2011, 19p.

- MARINHO, R. C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; ZILLI, J. É.; XAVIER, G. R.; SANTOS, C. A. F.; SAULO DE TARSO AIDAR; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 5, p. 395-402, 2014.
- MARRA, L. M.; SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; CARVALHO, R. F.; LIMA, J. M.; MOREIRA, F. M. S. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant Soil**, v. 357, n. 1, p. 289-307, 2012.
- MARTINS, A. F.; OLIVEIRA, F. P. de; VARGAS, L. K.; SCHLINDWEIN, G.; LISBOA, B. B.; SÁ, E. L. S. de. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de cornichão e azevém. **Revista AGROTEC**, v. 36, n. 1, p. 294-302, 2015.
- MARTINS, R. N.; NÓBREGA, R. S. A.; SILVA, A. F. T.; NÓBREGA, J. C. A.; AMARAL, F. H. C.; COSTA, E. M.; LUSTOSA FILHO, J. F.; MARTINS, L. V. Nitrogênio e micronutrientes na produção de grãos de feijão-caupi inoculado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1577-1586, 2013.
- MATA, F. S. D.; ALMEIDA, J. A. R.; REIS, T. C.; SOUZA, D. S.; MAURICIO, I. S. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja com aplicação de diferentes doses de molibdênio (Mo) e cobalto (Co). **Revista Trópica**, v. 5, n. 2, p. 15-22, 2011.
- MELLONI, R. MOREIRA, F. M. S.; NÓBREGA, R. S. A.; SIQUEIRA, J. O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n. 2, p. 235-246, 2006.
- MOREIRA, F. M. S. Nitrogen-fixing Leguminosae-nodulating bacteria. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford, CAB International Publishing, p. 237-270, 2006.
- MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, p. 729, 2008.

NASU, E. G. C.; FORMENTINI, H. M.; FURLANETTO, C. Effect of manipueira on tomato plants infected by the nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 78, p. 193-197, 2015.

NISHIMURA, C.; OHASHI, Y.; SATO, S.; KATO, T.; TABATA, S.; UEGUCHI, C. Histidine kinase homologs that acts as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 16, n. 6, p. 1365-1377, 2004.

NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M. S.; J. O. SIQUEIRA; A. S. LIMA. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2, p. 269-279, 2004.

PATIL, N. B.; GAJBHIYE, M.; AHIWALE, S. S.; GUNJAL, A. B.; KAPADNIS, B. P. Optimization of Indole 3 acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from Sugarcane. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 1, p. 307-314, 2011.

PINHO, J. L. M.; TÁVORA, F. G. A. F.; GONÇALVES, J. A. **Aspectos ecofisiológicos**. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. (Org.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 193-228, 2005.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa**. In: FERNANDES, M. S. (ed.) Nutrição Mineral de Plantas. SBCS, Viçosa, p. 154-194, 2006.

RODRIGUES, A. C.; SILVEIRA, J. A. G.; BONIFACIO, A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Metabolism of nitrogen and carbon: Optimization of biological nitrogen fixation and cowpea development. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 67, p. 226-234, 2013.

SAHARAN, B. S. NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. **Life Sciences and Medicine Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; PRATES, F.; STUMPF, R. Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.658-664, 2008.

SILVA JUNIOR, J. J.; COELHO, E. F.; SANT'ANA, J. A. V.; ACCIOLY, A. M. A. Physical, chemical and microbiological properties of a Dystrophic Yellow Latosol using manipueira. **Engenharia Agrícola**, v. 32, n. 4, p. 736-744, 2012.

SILVA, F. F. **Impacto da aplicação de efluente de fecularia de mandioca em solo e na cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*)**. (Dissertação Mestrado), UEM, Maringá, p.69, 2003.

SILVA, F. G.; SANTOS, I. B.; SOUZA, A. J.; FARIAS, A. R. B.; DINIZ, W. P. S.; KUKLINSKY-SOBRAL, J; FREIRE, M. B. G. S. Bioprospecting and plant growth-promoting bacteria tolerant to salinity associated with *Atriplex nummularia* L. in saline soils. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 31, p. 1203-1214, 2016.

SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; LIMA, A. S.; BARBERI, A.; MOREIRA, F. M. S. Densidade e diversidade de bactérias diazotróficas isoladas de solos amazônicos utilizando meios semi-sólidos sem N. **Sciencia Agricola**, v. 68, n. 5, p. 518-525, 2011.

SOARES, A. L. L.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I – caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 5, p. 795-802, 2006.

SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; RUFINI, M.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Cowpea symbiotic efficiency, pH and aluminum tolerance in nitrogenfixing bacteria. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 3, p. 171-180, 2014.

SOARES, V. N.; TILLMANN, M. A. A.; MOURA, A. B.; ZANATTA, Z. G. C. N. Potencial fisiológico de sementes de arroz tratadas com rizobactérias ou tiametoxam. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 563-572, 2012.

SOUSA, J. X. **Promoção do crescimento vegetal por bactérias oriundas de solos com histórico de deposição de manipueira**. 2017. 61 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, 2017.

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

SPRENT, J.I. Nodulation in legumes. **Royal Botanic Gardens**, v. 89, n. 6, p. 146, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TEALE, W. D., PAPONOV, I. A., PALME, K. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, n. 11, p. 847–859, 2006.

TEÓFILO, E. M.; DUTRA, A. S.; PITOMBEIRA, J. B.; DIAS, F. T. C.; BARBOSA, F. S. Potencial fisiológico de sementes de feijão caupi produzidas em duas regiões do Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 3, p. 443-448, 2008.

WILLIAMS, L.E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual review of plant biology**, v. 52, p. 659-688, 2001.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 4, p. 749-758, 2009.

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. p. 7, (Embrapa Roraima. Comunicado técnico, 10).