



Pré-inoculação de *Bradyrhizobium yuanmingense* em sementes de feijão-caupi utilizando veículo polimérico e turfoso

*Pre-inoculation of *Bradyrhizobium yuanmingense* in cowpea seeds using polymeric and peat carrier*

FAVERO, Vinício Oliosio¹; MICHEL, Daniele Cabral¹; SILVA JÚNIOR, Elson Barbosa¹; PAULO, Fernanda Santana¹; RUMJANEK, Norma Gouvêa²; XAVIER, Gustavo Ribeiro²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), viniciooliosio@hotmail.com; danielecamichel@gmail.com; elsonlica@yahoo.com.br; nandasibylla@yahoo.com.br;

²Embrapa Agrobiologia, norma.rumjanek@embrapa.br; gustavo.xavier@embrapa.br

Tema Gerador: Manejo de Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

Resumo

O feijão-caupi se beneficia da fixação biológica de nitrogênio, sendo a inoculação de sementes uma forma de maximização da produtividade. Recomenda-se que a inoculação seja feita em no máximo 24 horas antes do plantio, dificultando a condução em áreas extensas de plantio. Assim, objetivou-se no presente trabalho avaliar a capacidade do inoculante polimérico e turfoso em manter células rizobianas viáveis até 14 dias após a inoculação das sementes, em condições de laboratório e campo. Em laboratório, ambos os veículos mantiveram viabilidade celular até 14 dias após a inoculação. Em campo, as sementes pré-inoculadas com a formulação polimérica com 7 e 14 dias e a turfosa com 7 dias, ambas antecedendo ao plantio, apresentaram melhores Resultados em massa de nódulos. Os Resultados sugerem que a pré-inoculação de sementes de feijão-caupi por até 14 dias antes da data de plantio é uma prática viável que pode contribuir para adoção da tecnologia de inoculação na cultura.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*; fixação biológica de nitrogênio; inoculante.

Abstract

Cowpea is benefited by biological nitrogen fixation and the inoculation of its seeds one way to the maximization of productivity. It is recommended that inoculation be done no later than 24 hours before planting. This requirement it makes difficult the conduction in extensive areas of planting. In this way, the objective of this work was to evaluate the ability of polymeric and peat inoculants to maintain rhizobia cells viable until 14 days after the inoculation of seeds; in laboratory and field conditions. In the laboratory, both of the carriers maintained cell viability until 14 days after inoculation. In the field, seeds pre-inoculated with polymeric formulation with 7 and 14 days and peat with 7 days, both preceding the planting, showed best mass result of nodules. The results suggest that pre-inoculation of cowpea seeds for up to 14 days prior to planting date it is a viable practice that can contribute for the adoption of inoculation technology in the crop.

Keywords: *Vigna unguiculata*; biological nitrogen fixation; inoculant.



Introdução

A cultura de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] se destaca quanto ao potencial de fixação biológica de nitrogênio (FBN), que pode ser incrementado por meio da inoculação com bactérias rizobianas. O uso de inoculantes com estirpes eficientes (XAVIER et al., 2006) diminui ou mesmo dispensa o uso de fertilizantes nitrogenados, sendo esta uma importante tecnologia para a agricultura brasileira.

A inoculação de sementes costuma ser realizada momentos antes do plantio, com o objetivo de garantir maior sobrevivência e viabilidade das bactérias inoculadas à semente, assim como recomendado para a cultura da soja (EMBRAPA, 2013), devendo ser feito o plantio no prazo máximo de 24 horas após a inoculação, principalmente em casos que se utilize sementes tratadas quimicamente, em que há uma redução drástica no número de células rizobianas (CAMPO et al., 2009). Sendo assim, se torna difícil a realização correta da inoculação em áreas extensas, em que se demande vários dias de semeadura, e em caso de impossibilidade de plantio após a inoculação das sementes, a exemplo da ocorrência de intempéries climáticas.

O intervalo entre a inoculação e o plantio também são estudados com a finalidade de possibilitar a comercialização e distribuição de sementes já inoculadas, principalmente para atender pequenos agricultores, que em sua grande maioria não possuem acesso direto aos inoculantes. Neste contexto, objetivou-se no presente trabalho avaliar a capacidade do inoculante polimérico e turfoso em manter células rizobianas viáveis até 14 dias após a inoculação das sementes, podendo prolongar o prazo entre a inoculação e o plantio, além de permitir que agricultores de base familiar adquiram sementes já inoculadas.

Material e Métodos

Foi conduzido no laboratório de Ecologia Microbiana na Embrapa Agrobiologia um ensaio de recuperação e quantificação de células de *Bradyrhizobium yuanmingense* (LEITE et al., 2017) BR 3267 (SEMIA 6462) em sementes inoculadas de feijão-caupi cv. BRS Guariba. Utilizou-se o veículo polimérico IPC 2.2 (FERNANDES JÚNIOR et al., 2009) e o turfoso (padrão). As sementes foram previamente desinfestadas, e então inoculadas com 15 gramas de inoculante para cada 500 gramas de sementes. Os inoculantes polimérico e turfoso apresentavam concentrações de $1,3 \times 10^8$ e de $6,5 \times 10^9$ unidades formadoras de colônias (UFC) g⁻¹, respectivamente, conforme avaliação realizada no dia da inoculação, o que resultou em uma concentração aproximada de $7,8 \times 10^5$ UFC semente⁻¹ quando utilizado o inoculante polimérico e de $3,9 \times 10^7$ UFC semente⁻¹ para o turfoso, considerando-se que cada amostra de 20 g de sementes pos-



sui aproximadamente 100 sementes. Após a inoculação, as sementes foram secas ao ar e armazenadas em Becker sob temperatura ambiente em laboratório ($24 \pm 3^\circ\text{C}$). A recuperação e quantificação de *Bradyrhizobium* foi realizada conforme BRASIL (2010), após 1, 7 e 14 dias de armazenamento.

O ensaio em condições de campo foi instalado em maio de 2014 no campo experimental da Embrapa Agrobiologia em Seropédica-RJ ($22^\circ45'22.2''\text{S}$ $43^\circ40'02.1''\text{W}$), em Argissolo Vermelho-Amarelo (SANTOS et al., 2006). Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial 2×3 , além de 2 testemunhas. As parcelas experimentais de 4×6 m, compostas por oito linhas de plantio espaçadas por 0,5 m. O experimento foi realizado com um total de oito tratamentos: dois tipos de formulação com a estirpe BR 3267 e com 1, 7 e 14 dias após a inoculação, além da testemunha absoluta e nitrogenada (70 kg ha^{-1}). Os inoculantes utilizados foram testados quanto à viabilidade celular, tendo o inoculante polimérico e turfoso uma concentração de $4,3 \times 10^8$ e $3,0 \times 10^8 \text{ UFC g}^{-1}$, respectivamente. As sementes foram inoculadas utilizando 24 gramas de inoculante para cada 400 gramas de sementes, o que resultou em uma concentração de $5,16 \times 10^6$ e $3,6 \times 10^6 \text{ UFC semente}^{-1}$ para o inoculante polimérico e turfoso, respectivamente. As sementes inoculadas foram conservadas em sacos de papel e à temperatura ambiente em laboratório até o dia do plantio. Foi realizada coleta de plantas aos 37 dias após a emergência, para avaliação das variáveis massa de parte aérea seca (MPAS), de raiz seca (MRS) e de nódulos secos (MNS). Os dados foram analisados através do programa Sisvar v. 4.5 (FERREIRA, 2008), com análise de variância e a comparação das médias através do teste de Tukey e de regressão para a recuperação de células rizobianas a partir das sementes em função do tempo, ambos ao nível de probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

No ensaio conduzido em laboratório, as sementes pré-inoculadas com o inoculante turfoso apresentaram maior quantidade de células rizobianas recuperadas após 1, 7 e 14 dias da inoculação, em comparação às sementes inoculadas com a formulação polimérica (Tabela 1). Não foram encontrados contaminantes fúngicos ou bacterianos ao longo do período de observação, exceto aos 14 dias quando foram detectadas contaminações bacterianas na concentração de 10^3 células semente $^{-1}$.



Tabela 1 – Sobrevivência da estirpe BR 3267 e presença de contaminantes fúngicos e bacterianos em sementes de feijão-caupi inoculadas com inoculante polimérico e turfoso, avaliadas com 0, 1, 7 e 14 dias após a inoculação. *UFC semente-1.

Variáveis	Tipo de Veículo	Dias após a inoculação			
		0	1	7	14
Células Rizobianas*	Polimérico	5,1x10 ⁶ a	3,0x10 ⁵ b	5,0x10 ⁵ b	2,5x10 ⁵ b
	Turfoso	3,6x10 ⁶ a	2,8x10 ⁶ a	4,6x10 ⁶ a	3,8x10 ⁶ a
Contaminante Fúngico*	Polimérico	0	0	0	0
	Turfoso	0	0	0	0
Contaminante Bacteriano*	Polimérico	0	0	0	10 ³
	Turfoso	0	0	0	10 ³

Médias seguidas por letras iguais dentro de cada tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto à sobrevivência, houve perda de viabilidade celular nas sementes inoculadas com o inoculante polimérico na avaliação de 1 dia após a inoculação, dada por equação de regressão quadrática, com R² de 43,36, e significativo a 10% de probabilidade. Percebe-se que em ambos os inoculantes há uma tendência de manutenção da viabilidade após a avaliação de 1 dia.

Nos Resultados obtidos no experimento de campo (Tabela 2), não houveram diferenças estatísticas para as variáveis MPAS e MRS.

Tabela 2 - Massa da parte aérea seca, de raiz seca e de nódulos secos de plantas de feijão-caupi. Tratamentos com sementes inoculadas com 0, 7 e 14 dias em antecedência ao plantio, além das testemunhas absoluta (TA) e nitrogenada (TN).

Variável	Veículo	Tempo						Média	TA	TN	C.V.(%)
		0	7	14	0	7	14				
MPAS	Polimérico	3,76	α A a	4,21	α A a	3,86	α A a	3,94	α		
	Turfoso	4,89	α A a	5,35	α A a	3,74	α A a	4,66	α	4,66 a	4,38 a
	Média	4,32	A	4,78	A	3,80	A				32,93
MRS	Polimérico	356	α A a	373	α A a	365	α A a	365	α		
	Turfoso	429	α A a	464	α A a	340	α A a	411	α	437 a	382 a
	Média	392	A	419	A	352	A				28,98
MNS ¹	Polimérico	10,20	α B bc	46,53	α A a	23,20	α A ab	26,64	α		
	Turfoso	15,50	α B bc	37,70	α A a	5,99	β C c	19,73	β	46,20 a	2,05 d
	Média	12,85	B	42,11	A	14,59	B				13,88

Médias seguidas por letras gregas iguais dentro de cada veículo, maiúsculas dentro de cada tempo e minúsculas comparando todos os tratamentos e as testemunhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ¹Dados transformados por log (x).



FERREIRA et al. (2013) também relataram que a inoculação da estirpe BR 3262 proporcionou massa da parte aérea similar a do controle sem inoculação, porém com incrementos na produtividade de grãos de até o dobro, sendo importante a realização da inoculação de sementes.

Para a variável MNS os tratamentos inoculados com 7 dias de antecedência apresentaram Resultados superiores aos inoculados no dia do plantio, para ambos os veículos. SILVA JÚNIOR (2012) também avaliou a eficiência da inoculação antecipada com a estirpe BR 3267 em condições de campo na região Centro-Oeste, onde encontrou Resultados semelhantes, com maior massa de nódulos secos utilizando o inoculante polimérico com 35 dias de antecedência ao plantio. Estes Resultados evidenciam que há um período de “estabilização” das bactérias inoculadas na semente. Relacionando estes Resultados com aqueles obtidos no ensaio em laboratório, observa-se que as concentrações de rizóbio recuperadas a partir da inoculação das sementes até o prazo de 14 dias em laboratório foram capazes de se estabelecerem em condições de campo após o armazenamento, o que evidencia o potencial da técnica.

Comparando todos os tratamentos inoculados com as testemunhas, quanto à variável MNS, os tratamentos inoculados com 7 dias de antecedência e 14 dias de antecedência utilizando o veículo polimérico apresentaram Resultados iguais estatisticamente à testemunha absoluta, mostrando que a população nativa de rizóbios da área são eficientes na nodulação. SILVA JÚNIOR et al. (2014) também indicaram a presença de rizóbios estabelecidos neste mesmo campo experimental, onde avaliaram a inoculação em plantas de feijão-caupi, tendo apresentado mais de 200 mg de nódulos secos por planta no tratamento absoluto.

Conclusão

Os veículos polimérico e turfoso foram capazes de manter células viáveis até 14 dias após a inoculação das sementes, com melhores Resultados em nodulação nos tratamentos inoculados com 7 dias de antecedência para ambos os veículos e 14 dias para o polimérico, o que possibilita maior prazo entre a inoculação e o plantio, e a distribuição de sementes já inoculadas, sendo necessários estudos relacionados à fitossanidade e tratamento químico das sementes.

Agradecimentos

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro.



Referências Bibliográficas

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelecer os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Seção 1, p.4-10, 2010.

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M.. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. Symbiosis, v.48, n.1, p.154-163, 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, n.16, p.265, 2013.

FERNANDES JÚNIOR, P. I.; GUSMÃO, T. R.; PAULO JANSEN, P. O.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Polymers as carriers for rhizobial inoculant formulations. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.44, n.9, p.1184-1190, 2009.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para Análises e ensino de estatística. Revista Symposium, v.6, p.36-41, 2008.

FERREIRA, L. de V. M.; NÓBREGA, R. S.A.; NÓBREGA, J. C. A.; AGUIAR, F. L. de; MOREIRA, F. M. de 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, p.153-160, 2013.

LEITE, J.; PASSOS, S. R.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; ZILLI, J. É. Genomic identification and characterization of the elite strains *Bradyrhizobium yuanmingense* BR 3267 and *Bradyrhizobium pachyrhizi* BR 3262 recommended for cowpea inoculation in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 2017.

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. (Ed.). Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p.306, 2006.

SILVA JÚNIOR, E. B. Avaliação da Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantios Tecnificados de Feijão-Caupi na Região Centro-Oeste do Brasil., Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo). Curso de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. p.69, 2012.



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO
X CONGRESSO BRASILEIRO
V SEMINÁRIO DO DF E ENTORNO
12-15 SETEMBRO 2017
BRASÍLIA- DF, BRASIL

Tema Gerador 9

Manejo de Agroecossistemas
e Agricultura Orgânica



SILVA JÚNIOR, E. B.; SILVA, K.; OLIVEIRA, S. S.; OLIVEIRA, P. J.; BODDEY, R. M.; ZILLI, J. E.; XAVIER, G. R. Nodulação e produção de feijão-caupi em resposta à inoculação com diferentes densidades rizobianas. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.49, n.10, p.804-812, 2014.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. Caatinga (Mossoró, Brasil), v.19, n.1, p.25-33, 2006.