

**Bactérias diazotróficas no crescimento inicial e alterações bioquímicas de *Vigna unguiculata* sob deficit hídrico**

**Diazotrophic bacteria in the initial growth and biochemical changes of *Vigna unguiculata* under water deficit**

**Bacterias diazotróficas en el crecimiento inicial y cambios bioquímicos de *Vigna unguiculata* bajo déficit hídrico**

Recebido: 15/06/2020 | Revisado: 27/06/2020 | Aceito: 02/07/2020 | Publicado: 18/07/2020

**Alessandro Carlos Mesquita**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9754-1676>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [alessandro.mesq@yahoo.com.br](mailto:alessandro.mesq@yahoo.com.br)

**Laelson Freires Gomes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5275-8524>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [laelson.agro@gmail.com](mailto:laelson.agro@gmail.com)

**João Bosco Mota dos Santos Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9913-3791>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [boscomotta@gmail.com](mailto:boscomotta@gmail.com)

**Igor Juliano da Silva Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6942-2100>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [igor.js1@hotmail.com](mailto:igor.js1@hotmail.com)

**Wallace Renato da Silva Nogueira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5908-0322>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [wallace.bx10@gmail.com](mailto:wallace.bx10@gmail.com)

**Ana Thaila Rodrigues Felix**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1071-1490>

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

E-mail: [anathailafelix@hotmail.com](mailto:anathailafelix@hotmail.com)

## Resumo

O cultivo do feijão caupi vem se destacando por ser uma cultura adaptável para a região árida e semi-árida do Nordeste brasileiro. Dentre os fatores que reduzem a sua produção, o déficit hídrico e a adubação, tem destaque. Devido a sua capacidade de realizar simbiose com bactérias noduladoras, poderá otimizar a fixação do N<sub>2</sub> atmosférico dependendo da combinação e compatibilidade das estirpes envolvidas. O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de plantas de feijão-caupi (cultivar BRS Marataoã) sob déficit hídrico inoculadas e coinoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas com dois fatores (4x5), composto por: T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA), associado com as lâminas de água nas seguintes proporções: 100 %, 80%, 60% e 40% da evapotranspiração da cultura (ETc). As análises foram realizadas aos 45 dias após a emergência (DAE) e compostas de parâmetros filotécnicos (número de folhas, altura da planta, diâmetro do caule, clorofila a, b e total) e bioquímicos (teores de açúcares solúveis totais, açúcares redutores, e prolina). Os resultados obtidos demonstraram que o déficit hídrico ocasionou influência negativa no número de folhas, no diâmetro do caule, na altura das plantas, na clorofila A, na massa seca da parte aérea e na inoculação. A inoculação das cepas de rizóbio é reduzida quando submetida a plantas com estresse hídrico, se sobressaindo cepas nativas. Sendo que a inoculação cruzada favorece a inoculação nessas condições.

**Palavras-chave:** Inoculação; Simbiose; Irrigação.

## Abstract

The cultivation of cowpea beans has stood out for being an adaptable crop for the arid and semi-arid region of Northeast Brazil. Among the factors that reduce its production, the water deficit and fertilization, stands out. Due to its ability to perform symbiosis with nodulating bacteria, it can optimize the fixation of atmospheric N<sub>2</sub> depending on the combination and compatibility of the strains involved. The objective of the work was to evaluate the response of cowpea plants (cultivar BRS Marataoã) under water deficit inoculated and co-inoculated with nitrogen fixing bacteria. The experimental design used was completely randomized in a split plot scheme with two factors (4x5), consisting of: T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264 + BR85 (C); T4: nitrogen control (CN); T5: absolute control (CA), associated with the water depths in the following proportions: 100%, 80%, 60% and 40% of the crop evapotranspiration (ETc). The analyzes were performed at 45 days after emergence (DAE)

and composed of phylotechnical parameters (number of leaves, plant height, stem diameter, chlorophyll a, total b) and biochemical (total soluble sugar, reducing sugar, and proline). The results obtained demonstrated that the water deficit caused a negative influence on the number of leaves, on the stem diameter, on the height of the plants, on chlorophyll A, on the dry mass of the aerial part and on the inoculation. The inoculation of rhizobia strains is reduced when subjected to plants with water stress, with emphasis on native strains. Since cross-inoculation favors inoculation in these conditions.

**Key words:** Inoculation; Symbiosis; Irrigation.

### **Resumen**

El cultivo de frijol caupí se ha destacado por ser un cultivo adaptable para la región árida y semiárida del noreste de Brasil. Entre los factores que reducen su producción, se destaca el déficit hídrico y la fertilización. Debido a su capacidad para realizar simbiosis con bacterias nodulantes, puede optimizar la fijación del N<sub>2</sub> atmosférico dependiendo de la combinación y compatibilidad de las cepas involucradas. El objetivo del trabajo fue evaluar la respuesta de las plantas de caupí (cultivar BRS Marataoã) bajo déficit hídrico inoculado y co-inoculado con bacterias fijadoras de nitrógeno. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar en un esquema de parcelas divididas con dos factores (4x5), compuesto por: T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264 + BR85 (C); T4: control de nitrógeno (CN); T5: control absoluto (CA), asociado con las profundidades del agua en las siguientes proporciones: 100%, 80%, 60% y 40% de la evapotranspiración del cultivo (ET<sub>c</sub>). Los análisis se llevaron a cabo a los 45 días después de la emergencia (DAE), de parámetros filotécnicos (número de hojas, altura de la planta, diámetro del tallo, clorofila a, total b) y bioquímicos (azúcar soluble total, azúcares reductores, y prolina). Los resultados obtenidos demostraron que el déficit hídrico causó una influencia negativa en el número de hojas, en el diámetro del tallo, en la altura de las plantas, en la clorofila A, en la masa seca de la parte aérea y en la inoculación. La inoculación de las cepas de rizobios se reduce cuando se somete a plantas con estrés hídrico, con énfasis en las cepas nativas. Dado que la inoculación cruzada favorece la inoculación en estas condiciones.

**Palabras clave:** Inoculación; Simbiosis; Irrigación.

## 1. Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é um componente fundamental em sistemas tradicionais de cultivo em regiões áridas e semiáridas do planeta. Devendo-se principalmente a sua capacidade de realizar simbiose com bactérias noduladoras que fixam nitrogênio atmosférico (Kyei-Boahen, 2017), o que favorece os níveis de nitrogênio (N) no solo. Em pequenas propriedades esse fenômeno torna-se indispensável para o desenvolvimento da cultura já que o uso de adubos nitrogenados não é prática adotada no manejo do feijão-caupi.

A utilização de cepas rizobiana exóticas com maior potencial simbiótico com o feijão-caupi e com maior eficiência na fixação de N atmosférico é uma alternativa para garantir a demanda de N durante todo o ciclo da cultura. Segundo Sousa et al. (2012), essa é uma prática viável para a redução do uso de adubos nitrogenados, reduzindo os impactos socioambientais e os custos relacionados ao manejo incorreto, além de aumentar a produtividade do feijão-caupi. A inoculação de bactérias diazotróficas em leguminosas é uma tecnologia com comprovação de eficácia (Albareda, Rodríguez-Navarro & Temprano, 2009; Michel et al, 2020).

A inoculação das sementes com bactérias diazotróficas é uma tecnologia incipiente entre os pequenos e médios produtores, mas que garante um retorno de produtividade a baixo custo na cultura do feijão-caupi (Farias et al., 2016). O feijão-caupi, considerada uma leguminosa promíscua (Ulzen et al., 2016), nodula com uma gama de espécies de rizóbio. Essa facilidade de nodular atrelada a persistência de rizóbios nativos, adaptados às condições edafoclimáticas regionais, aumentam a competição com linhagens exóticas, reduzindo a eficiência simbiótica dos inoculantes e seu potencial em fixar nitrogênio.

A coinoculação com bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) tem despontado como uma alternativa real para aumentar a eficiência simbiótica e agrônômica das bactérias fixadoras de nitrogênio devido a maior absorção de nutrientes e água promovido do aumento do sistema radicular, levando à melhora do processo de fixação biológica do nitrogênio (Schossler et al., 2016). A inoculação cruzada, prática de inocular a semente com mais de uma espécie rizobiana, apresenta resultados similares aos encontrados quando o rizóbio é inoculado com BPCP, contribuindo para maior eficiência agrônômica do inoculante (Carvalho et al., 2020).

Em estudo realizado recentemente, Jesus et al. (2018) verificaram o potencial de cepas de *Bradyrhizobium* coinoculados com rizóbio na cultura do feijão-comum, onde os resultados

demonstraram maior número e massa de nódulos, maior teor de Nitrogênio e biomassa vegetal. Todavia os estudos realizados não levam em conta os fatores abióticos que são responsáveis pela redução do seu potencial produtivo e diminui a eficiência simbiótica dos inoculantes que em sua maioria não contem bactérias adaptadas ao clima local.

Dentre os fatores abióticos que mais reduzem a produção do feijão-caupi nas áreas plantadas, o déficit hídrico tem destaque (Nascimento et al., 2004). Devido ao modelo de cultivo predominantemente sem utilização de irrigação e seu cultivo se realizar em regiões de índice pluviométrico abaixo da demanda pela cultura, com chuvas concentradas em uma única época do ano. Similar às demais leguminosas a maior demanda hídrica está nas fases de floração e formação das vagens, sendo a fase de floração também a fase de maior demanda de Nitrogênio via fixação biológica, necessitando de uma simbiose efetiva, com alto número de nódulos ativos.

A capacidade de aumentar a concentração de solutos é utilizada como um indicativo de tolerância ao déficit de água em inúmeras plantas, sendo a prolina um dos osmólitos mais estudados em plantas estressadas pela seca (Khalid, Silva & Cai, 2010). Sintetizada no citosol e com início de sua síntese em cloroplastos, acumula-se em grandes quantidades no citoplasma de células sob estresse se comportando como osmoprotetores, auxiliando a regular o potencial osmótico celular, sem influenciar as macromoléculas (Szabados & Savouré, 2010). A prolina exerce também um papel estabilizador nas proteínas e membrana da célula, além de atuar na remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que é um dos efeitos deletérios causados pelo estresse por falta de água.

Em condição de falta de água, as plantas fecham seus estômatos, reduzindo drasticamente a assimilação de CO<sub>2</sub> (Araújo et al., 2019), diminuindo a taxa fotossintética. Além de que, a conversão de amido em açúcares solúveis aumenta a concentração de compostos carbonados nas folhas, auxiliando no controle osmótico da planta durante o período de seca. Esse processo permite que a célula mantenha seu turgor, possibilitando a manutenção do aparelho fotossintético, garantindo a assimilação de carbono pela planta (Hu et al., 2015). Essas respostas fisiológicas podem ser observadas em plantas que passam por estresse hídrico e necessitam regular a entrada de água. Desta forma o objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de plantas de feijão-caupi sob déficit hídrico inoculadas e coinoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio.

## 2. Material e Métodos

A pesquisa tem como objetivo trazer novos conhecimentos para a sociedade, conforme recomendado por Pereira et al. (2018), sendo este um estudo de caso, trabalho etnográfico realizado em casa de vegetação. Algumas características descritas na metodologia foram analisadas em laboratório, sendo a natureza do trabalho qualitativo / quantitativo.

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS) da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), na cidade de Juazeiro (Latitude: 09° 24' 50'' S; Longitude: 40° 30' 10' W; Altitude: 368m), em casa de vegetação, com sombreamento de 50%. O clima da região é do tipo BSh, segundo classificação de Köppen, caracterizando-se por ser semiárido quente, com duas estações distintas, uma chuvosa com precipitação irregular e outra sem precipitação. A precipitação média anual é de 540 mm, temperatura média de 27 °C com período chuvoso concentrado entre fevereiro e abril.

Foi utilizado o solo, de classe Neossolo Flúvico, característico da região, coletado na camada arável (0-20 cm de profundidade), no campo experimental do DTCS Campus III – UNEB, onde foram retiradas amostras simples para realização da análise química do solo. A recomendação de adubação foi feita com base na análise de solo realizada pelo Laboratório de Solos, Água e Calcário (LASAC) da UNEB. Foi utilizado como parâmetro o Boletim de Recomendação de Adubação do Estado de Pernambuco (2008), com a finalidade de realizar o correto manejo da adubação, suprimindo a demanda nutricional das plantas.

O experimento foi realizado entre os meses de novembro a dezembro de 2019, com duração de quarenta e cinco dias entre emergência das plântulas e avaliação final. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas com dois fatores (4x5), sendo que as parcelas principais foram as lâminas de irrigação e as subparcelas com as diferentes fontes de inoculo, com quatro repetições, totalizando oitenta unidades experimentais. Os tratamentos seguiram a seguinte ordem T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA). As lâminas de irrigação foram estabelecidas em função da demanda diária da cultura por meio do método de lisimetria de pesagem para quantificar a lâmina de água a ser aplicada nas seguintes proporções: 100 % da evapotranspiração da cultura (ETc), 80% da ETc, 60% da ETc e 40% da ETc. A irrigação foi realizada por gotejamento, cada planta com um emissor espaçados em 0,20 m.

A inoculação e coinoculação foram efetuadas na semente de feijão-caupi, por meio de inoculante comercial misturado a água destilada autoclavada e deixado para secar dentro da

câmara de fluxo laminar. A cultivar utilizada no experimento foi a BRS Marataoã, desenvolvida pela Embrapa em 2004, essa cultivar tem hábito de crescimento indeterminado, porte semi-prostrado e possui ciclo médio-precoce.

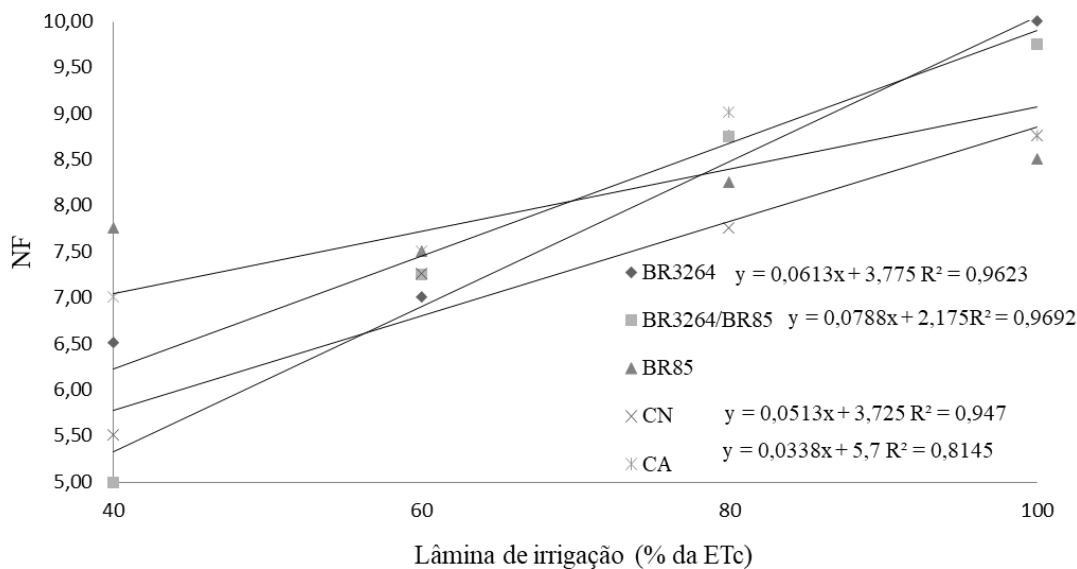
As análises foram realizadas aos 45 dias após a emergência (DAE), ou seja, no final da fase vegetativa e início da fase reprodutiva. Para as análises de crescimento foram medidos os seguintes parâmetros: número de folhas, altura da planta e diâmetro do caule. Utilizou-se de uma régua graduada para medir a altura da planta, enquanto que para aferir o diâmetro do caule foi usado um paquímetro digital. Nas análises bioquímicas para obtenção dos açúcares solúveis totais, açúcares redutores, e prolina, foram aplicadas as metodologias descritas por Yemm & Willis (1954), Miller (1959), e Bates, Waldren & Teare (1973), respectivamente. Para medir o índice de clorofila foi utilizado um medidor portátil, modelo clorofiLOG CFL1030 da empresa FALKER. As análises bioquímicas foram executadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UNEB, com exceção da clorofila que foi feita in loco. Para as análises destrutivas, os nódulos radiculares foram separados manualmente e contados, obtendo-se o número de nódulos. A parte aérea das plantas foi colocada em estufa a 60 °C por 72 horas e pesada, obtendo-se a sua matéria seca. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade. Quando observado significância, foi aplicado teste de médias de Scott-Knott e análise de regressão utilizando o software Sisvar 5.6.

### **3. Resultados e Discussão**

A análise de variância revelou que houve interação significativa entre as lâminas de irrigação e os inóculos para apenas o número de folhas referente às análises de crescimento. Para os outros fatores analisados isoladamente, houve diferença significativa nas lâminas para as variáveis: diâmetro do caule e comprimento da planta, indicando que os níveis de água no solo influenciam no desempenho do crescimento do feijão-caupi, enquanto que para o fator inóculo não houve diferença significativa para essas variáveis.

Na Figura 1 podemos observar que a medida que os níveis de irrigação se aproximam da ETc máxima da cultura, obteve-se um crescimento linear no número de folhas, independentemente da inoculação utilizada, com exceção do inóculo BR85, onde não foi encontrado ajuste para sua curva, no entanto na lâmina de 40%, este mesmo inóculo, em conjunto com o controle absoluto e o inóculo BR3264 obtiveram os maiores números de folhas.

**Figura 1.** Comportamento do número de folhas (NF) na cultura do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

O maior número de folhas no geral foi obtido na lâmina de 100% pelo inóculo BR3264, com o total de 10 folhas, enquanto que o maior incremento ocorreu na inoculação cruzada (BR3264+BR85), com um crescimento de 95% no número de folhas da lâmina de 40% da ETc para a lâmina total, subindo de 5 folhas para 9,75 folhas, respectivamente.

Segundo Rodrigues et al. (2012), os principais efeitos observados na promoção de crescimento de plantas quando do uso de BPCP são: aumentos da taxa de germinação, comprimento das raízes, crescimento de colmos ou caules, aumento do número de folhas e área foliar, aumento do número de flores e rendimento.

Esses dados corroboram com Nascimento et al., (2004), que em trabalho com água disponível no solo, chegou a resultados semelhantes, onde a medida que se aumentava a umidade do solo, o número de folhas crescia. Esse mesmo autor também concluiu que essa espécie possui mais tolerância ao déficit hídrico na fase vegetativa, enquanto que na fase reprodutiva a restrição hídrica mostra resultados mais críticos. No estudo em questão, pode ser verificado a discrepância entre os resultados adquiridos entre as lâminas exatamente na mudança da fase vegetativa para a fase reprodutiva, fundamentando assim, que nessa fase a tolerância hídrica é bastante acentuada.

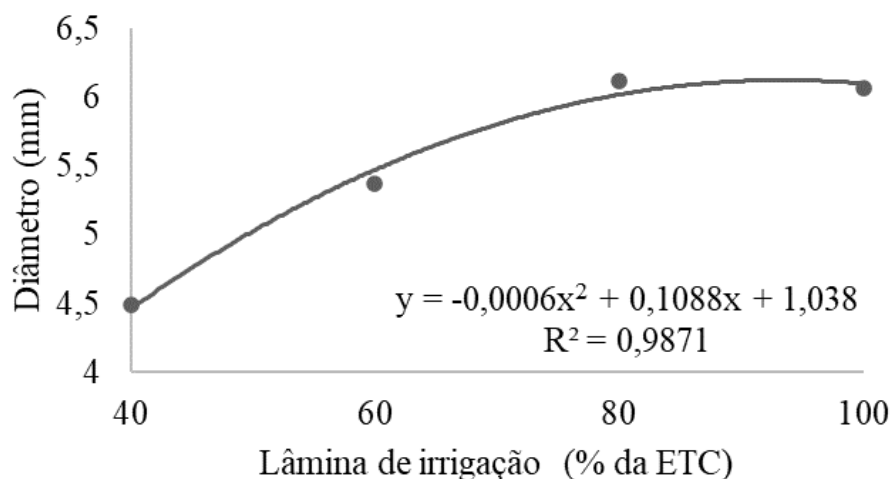
Para o parâmetro do diâmetro do caule (Figura 2), a curva de desenvolvimento seguiu um comportamento quadrática com um pico máximo de 6,12 mm na lâmina de 80% da ETc,



havendo uma tendência de redução a partir dessa lâmina, e com menor valor na lâmina de 40% da ETc com 4,5 mm.

Diferentemente, Gonçalves et al. (2017), em trabalho com feijão-caupi em condições similares constatou que não houve diferença significativa no fator lâmina de irrigação em 8 avaliações efetuadas durante o ciclo da cultura. Entretanto, Conceição et al. (2018), que em trabalho com déficit hídrico com a cultura do feijoeiro comum chegou a valores semelhantes de diâmetro de caule, entre 4,2 e 6,15mm, com crescimento a medida que as lâminas foram sendo ajustadas a ETc.

**Figura 2.** Comportamento do diâmetro do caule na cultura do feijão-caupi em função da aplicação das lâminas de irrigação aos 45 DAE.



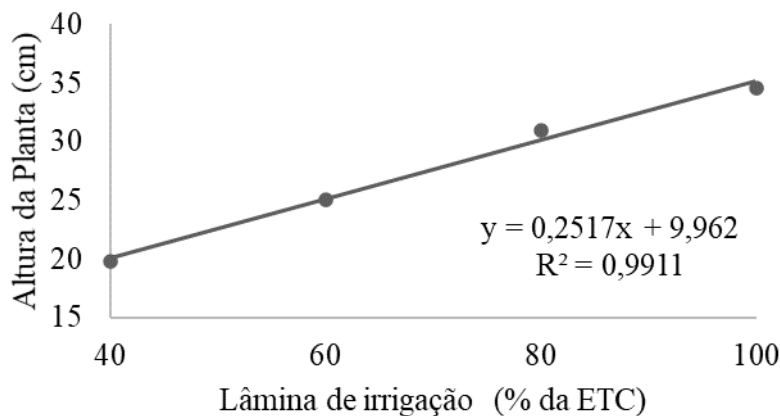
Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

A submissão ao déficit hídrico força as plantas a fecharem os estômatos para evitar a perda de água para a atmosfera, isso provoca a redução da fotossíntese, resultando em menor acúmulo de carboidrato (Taiz & Zeiger, 2017). Parte dessa reserva de carboidratos são armazenados no caule, assim quando a planta está inserida num ambiente restrito a disponibilidade de água, a circunferência do caule tende a diminuir, ficando mais propenso ao acamamento.

Segundo Suarez et al. (2012), avaliando alguns indicadores morfológicos e bioquímicos de algumas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. em déficit hídrico observou que a variação da área foliar é uma das primeiras respostas macroscópicas em plantas que sofrem de estresse hídrico. Além disso, um dos primeiros sintomas que aparecem em condições de estresse hídrico é o fechamento dos estômatos (Alemán et al, 2010), que resulta em menor captação de

CO<sub>2</sub>, necessária para a fotossíntese, o que leva à murcha, envelhecimento prematuro da folha e finalmente morte. Na variável altura de plantas (Figura 3), obteve-se uma curva de crescimento linear.

**Figura 3.** Comportamento da altura da planta (AP) na cultura do feijão-caupi em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE.



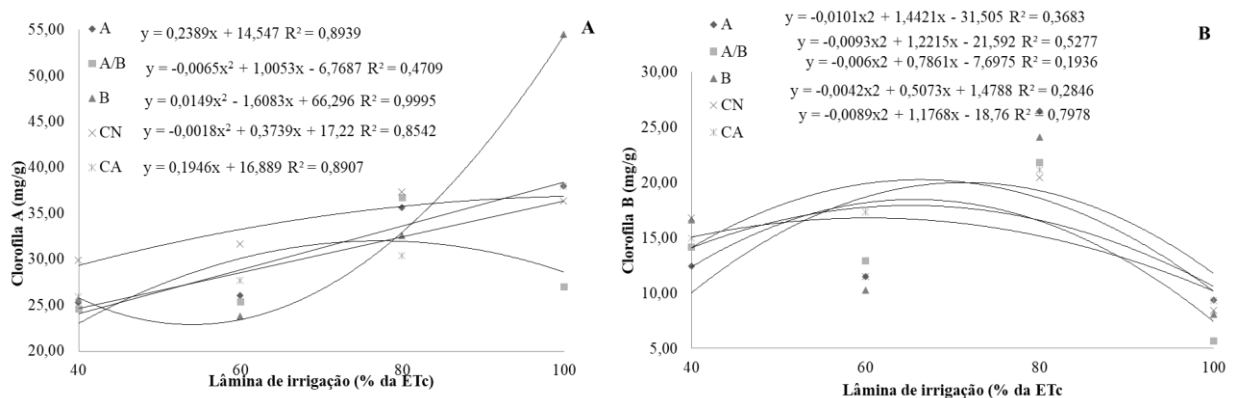
Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

A medida que a disponibilidade hídrica se aproximava a 100% da ETC, a planta teve seu crescimento aumentado, sendo que o incremento de crescimento da planta foi de quase 75% entre a lâmina de maior restrição hídrica para a lâmina plena, saindo de 19,75 cm para 34,56cm, respectivamente. Locatelli et al. (2016), encontrou resultados semelhantes para duas cultivares de feijão-caupi das três estudadas, visto que quando a restrição hídrica era mais severa a altura das plantas diminuíram proporcionalmente.

Em trabalho de campo Pessôa et al. (2017), encontrou valores de altura de plantas para a cultivar Marataoã aos 60 DAE bastantes superiores, com média de 76 cm. Enquanto Moreira et al. (2019), em ambiente protegido com essa mesma cultivar obteve valores semelhantes a esse estudo, com altura de plantas em torno de 34 cm aos 65 dias após a semeadura. Essa diferença de resultados encontradas, se deve ao fato que as plantas em ambiente protegido possui um maior sobreamento, o que diminui a taxa fotossintética. Outro fator se deve a limitação do crescimento das raízes em vaso, quando cultivadas em ambiente protegido, o que culmina num crescimento restrito da parte aérea.

Os dados relativos aos teores de clorofila A e clorofila B estão demonstrados na Figura 4.

**Figura 4.** Comportamento da clorofila A (A) e clorofila B (B) na cultura do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

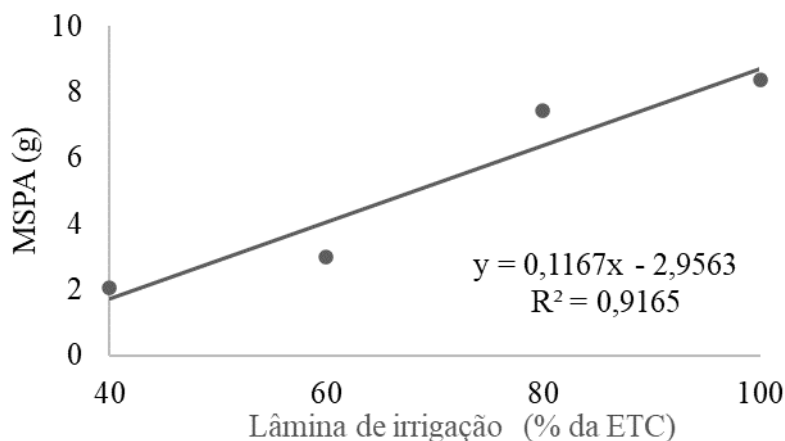
É importante observar na Figura que os teores de clorofila A e B foram influenciados em função da lâmina d'água aplicada. A clorofila está relacionada diretamente com o processo fotossintético e também ao estado nutricional da planta.

Os resultados do índice de clorofila A apresentaram interação significativa. Observa-se que na Figura 4 A que os valores de clorofila A tiveram uma tendência em cair quando se aumentava a restrição hídrica. O maior valor foi adquirido pela inoculação do rizóbio BR85 na lâmina de 100%. Batista et al. (2017), não encontraram diferenças significativas em estudo utilizando várias espécies de rizóbios com várias combinações entre eles no período de floração do feijão-caupi. Ayala et al. (2014), em trabalho com déficit hídrico com feijão-caupi a partir da floração não encontrou diferenças significativas para essa variável, porém, notou redução de 8,4% nos tratamentos com restrição hídrica. Nesse estudo, foi observado que houve um aumento de 47,6% na clorofila A da menor lâmina para a maior. Segundo Ayala et al. (2014), a diminuição da clorofila sob restrição hídrica constitui um mecanismo de defesa de plantas para reduzir a pressão do excesso de energia dos PHI e II. Dessa forma, sugere-se que a redução do índice de clorofila em situações de restrição hídrica, ocorre para não sobrecarregar o aparelho fotossintético, diminuindo os danos causados sobre o mesmo.

Quando observamos o comportamento do teor de clorofila B (Figura 4B) em função do déficit hídrico aplicado, verificamos que nas lâminas de 40, 60 e 80 % da ETC da cultura, ocorreu um dano, pois como mencionado por Streit et al. (2005), a relação ideal entre clorofila a e b, e que demonstra não haver um dano ao sistema fotossintetizante da planta, deve estar próxima de 3:1. Esse comportamento foi observado apenas quando da aplicação da lâmina de 100 % da ETC.

Os valores relativos à massa seca da parte aérea estão demonstrados na Figura 5.

**Figura 5.** Comportamento da massa seca da parte aérea (MSPA) na cultura do feijão-caupi em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE.



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

No que se refere às variáveis destrutivas, para massa seca da parte aérea (MSPA) não houve interação entre os fatores, mas houve diferença significativa para os fatores isolados. O efeito das diferentes lâminas ocasionou um ajuste de regressão linear para MSPA (Figura 5).

A menor lâmina aplicada resultou em 2,07 g de MSPA, enquanto que a maior lâmina obteve 8,37 g de MSPA, ou seja, um incremento de 328% e com tendência de ter um aumento da MSPA elevando-se a lâmina acima da ETC. Gonçalves et al. (2017) e Locatelli et al. (2016), avaliaram a massa seca da parte aérea do feijão caupi sob déficit hídrico e obtiveram resultados semelhantes, ou seja, redução da MSPA à medida que se intensificou o estresse hídrico.

A Tabela 1 mostra o efeito dos inóculos no acúmulo de massa seca, independente da lâmina aplicada.

**Tabela 1.** Comportamento do peso seco da parte aérea (MSPA) na cultura do feijão-caupi em função dos inóculos aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).

Inóculo	A	A/B	B	CN	CA
Peso seco (g)	5,7 a	4,95 b	4,82 b	5,61 a	4,97 b

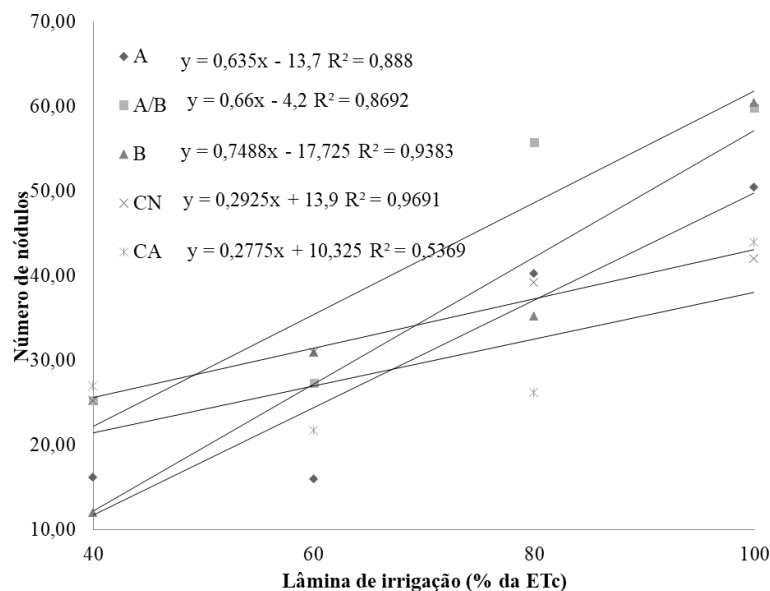
\*Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott 5%. Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

O acúmulo de massa seca na parte aérea da planta é resultado do processo fotossintético e da absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular da planta. O inóculo propicia a fixação do nitrogênio e da água, que estará inserida na abertura e fechamento dos estômatos e consequentemente, na atividade fotossintética da planta.

Para o fator isolado relacionado ao inóculo (Tabela 1), o rizóbio BR3264 e o controle nitrogenado (CN) tiveram as melhores médias, se sobressaindo em relação à inoculação combinada (BR3264+BR85), inóculo BR85 e ao controle absoluto (CA).

Observa-se que para o número de nódulos ocorreu à interação significativa entre os fatores analisados (Figura 6).

**Figura 6.** Comportamento do número de nódulos na cultura do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

A eficiência na nodulação foi diretamente influenciada pela lâmina, tendo seus maiores valores na lâmina de 100% e decrescendo conforme se reduzia a disponibilidade hídrica via irrigação (Figura 6).

Souza et al. (2015), em trabalho similar em condições de semiárido observou que não houve diferença significativa para nenhuma das 6 bactérias avaliadas ao comparar com os dois controles utilizados no experimento para a MSPA. Entretanto, podemos verificar que a bactéria A (BR3264) não diferiu estatisticamente do controle nitrogenado, promovendo um ganho no acúmulo de massa seca da parte aérea, que está diretamente relacionada com o ajustamento fotossintético da planta.

Em estudo com o feijoeiro-comum em locais afetados por estresse hídrico, Jemo et al. (2017), observaram que a eficiência de infecção do *Rhizobium* foi consideravelmente reduzida pelo estresse hídrico, ocasionando em um número de nódulos reduzidos por planta. Resultado similar foi encontrado por Mouradi et al. (2015), onde relataram que déficit hídrico em torno de superior a 50% reduziu de forma significativa o número e a massa seca de nódulos de alfafa (*Medicago sativa*).

Na lâmina de 100% houve um acréscimo de 37% no número de nódulos contados quando comparada a inoculação cruzada e o controle não inoculado, indicando que em condições de disponibilidade hídrica a introdução de cepas exóticas mais eficientes na nodulação pode garantir melhores níveis de fixação de nitrogênio atmosférico para a planta. Estudando a resposta da inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio no feijão-caupi em região semiárida Kyei-Boahen, et al. (2017) constataram que a despeito da presença de cepas nativas, a prática da inoculação elevou notadamente o número de nódulos nas plantas quando comparadas as não inoculadas.

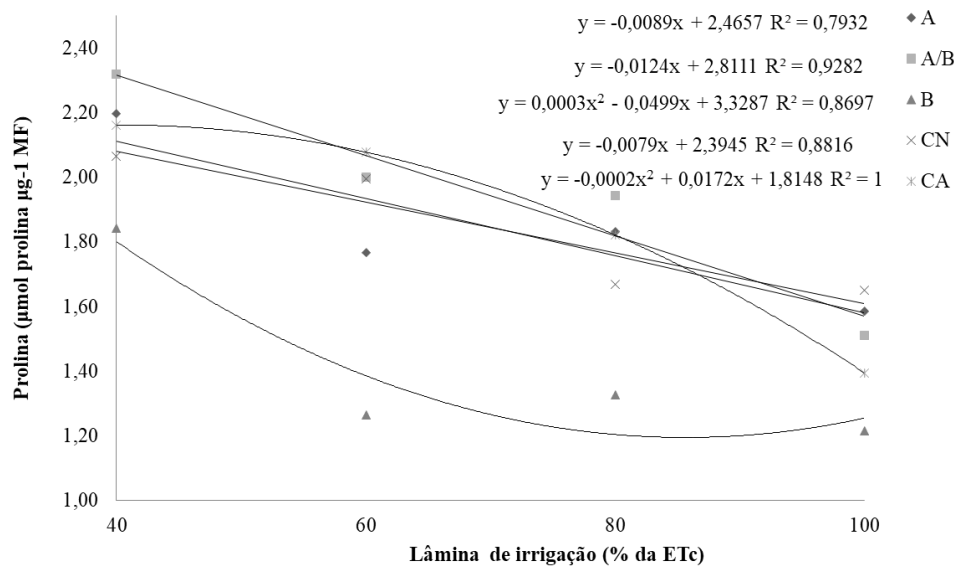
A inoculação na lâmina de 40% foi efetiva apenas na inoculação cruzada que obteve valores estatísticos iguais aos controles. O menor número de nódulos nos tratamentos inoculados pode ser explicado pela adaptabilidade inferior das cepas selecionadas ao estresse hídrico em comparação aos rizóbios nativos. Umidade do solo e índice pluviométrico e a relação do simbionte com características determinam a continuidade dos rizóbios no solo (Ferreira et al., 2016), reduzindo a capacidade de nodulação do inoculante e favorecendo a nodulação por cepas nativas já adaptadas as características adversas. Em estudo recente Tankari et al. (2019), avaliando o impacto de diferentes regimes hídricos nas respostas fisiológicas e na eficiência do uso da água em feijão-caupi constatou que a eficiência das cepas rizobiana depende principalmente da tolerância do rizóbio as variações no solo afetando de forma negativa a eficácia simbiótica da inoculação podendo favorecer assim as cepas nativas mais adaptadas.

A inoculação cruzada apresentou número de nódulos similares aos controles na lâmina de 40% denotando a maior eficiência quando é feita a adição de dois inoculantes concomitantemente na semente em ambientes com restrição de água. Em estudo com feijão comum Carvalho et al. (2020), encontraram maior número de nódulos na fase pré-floração quando comparado a inoculação cruzada e a inoculação comum. O resultado apontou que a inoculação cruzada apresenta valores similares aos encontrados quando ocorre a coinoculação do rizóbio. A inoculação cruzada pode favorecer a eficiência simbiótica dos inoculantes

comerciais em detrimento da ocupação dos nódulos por bactérias nativas que tendem a ter menor eficiência na fixação do nitrogênio atmosférico (Abou-Shanab et al., 2019).

Houve interação significativa entre as diferentes lâminas e fontes de inóculos, quando da análise do teor de prolina (Figura 7).

**Figura 7.** Comportamento da prolina na cultura do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

O aminoácido prolina está diretamente relacionado com o ajustamento osmótico das células e conseqüentemente, propiciando uma condição de menor severidade quando ocorrer um déficit hídrico.

Para o teor de prolina (Figura 7), o conteúdo desse aminoácido foi maior quando as plantas foram submetidas ao mais elevado nível de estresse hídrico em ambos os inóculos.

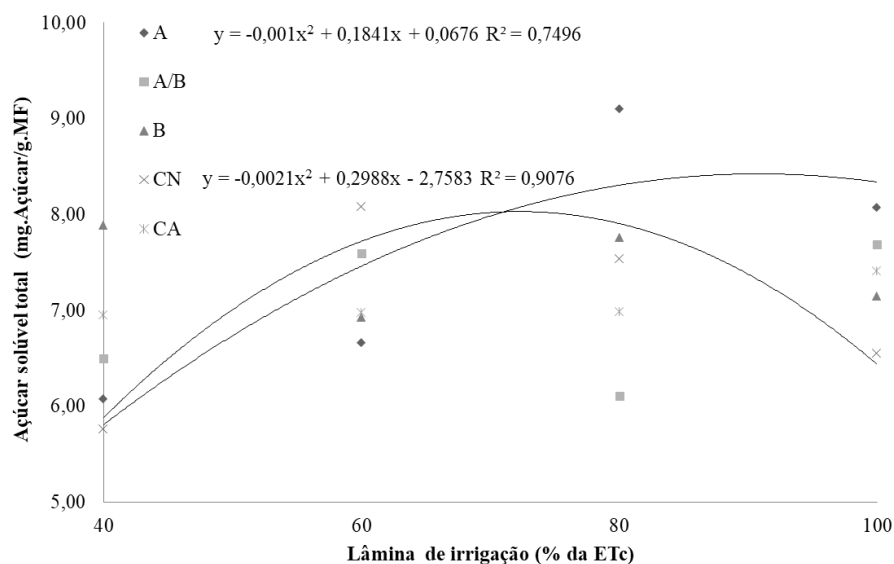
O maior valor de prolina foi obtido pela inoculação cruzada dos inóculos BR3264 e BR85 que obteve o valor de 2,32  $\mu\text{mol prolina } \mu\text{g}^{-1} \text{ MF}$  na lâmina de 40%, um aumento de 53,6% em relação à irrigação plena. Enquanto que o menor índice de prolina na lâmina de 40% foi de 1,84  $\mu\text{mol prolina } \mu\text{g}^{-1} \text{ MF}$  obtido pelo inóculo BR85, um incremento de 52% em relação a irrigação total.

A síntese de prolina é um mecanismo usualmente utilizado pelas plantas para estabilizar as membranas e manter a conformação de proteínas sob baixo potencial hídrico. Santos, Lima & Morgado (2010), em trabalho com feijão-caupi relatou que houve aumento da prolina nos tratamentos submetidos a oito dias de déficit hídrico, sendo que as variedades de ciclo

intermediário, em relação às variedades de ciclo tardio, obtiveram maiores valores quando sujeito à restrição hídrica. No entanto, Sousa et al. (2015), não encontraram diferença significativa nos teores de prolina trabalhando com o feijão-caupi a 50% da capacidade de vaso em relação a irrigação plena. Como descrito por Santos, Lima & Morgado (2010), algumas variedades de feijão-caupi, principalmente as que possuem um ciclo mais longo, parecem se utilizar de outros meios para regulação osmótica das células.

Para a variável, açúcar solúvel total (AST), apenas o inóculo BR3264 e o controle nitrogenado se ajustaram a uma curva de regressão polinomial (Figura 8).

**Figura 8.** Comportamento do açúcar solúvel total do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

O inóculo BR3264 teve seu pico na lâmina de 80% com 9,1 mg. açúcar/g.MF, 12% maior do que a lâmina de 100% e 37% maior do que na lâmina de 40%. No controle nitrogenado o maior incremento de açúcar solúvel foi na lâmina de 60%, com o valor de 8,09 mg. açúcar/g.MF, 23% maior do que na irrigação plena e 40% maior em relação a maior restrição hídrica. Dessa forma houve um aumento nos açúcares até certa restrição hídrica, contudo na lâmina de 40% os valores de açúcares solúveis tiveram uma queda significativa nesses tratamentos.

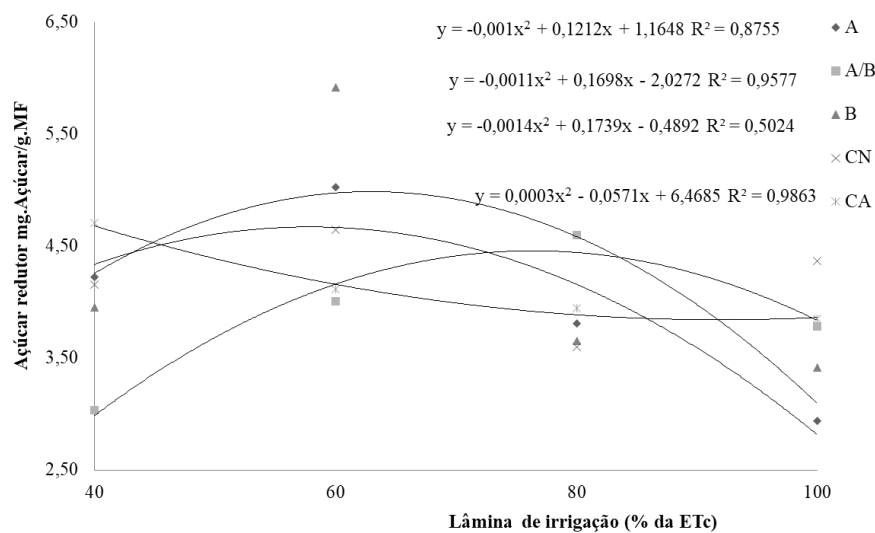
Os açúcares solúveis são compostos que realizam a regulação osmótica da célula, quando acumulados diminuem o potencial de água da mesma, o que vai desencadear no aumento de absorção de água pela planta, diminuindo o efeito do estresse hídrico



(Albuquerque et al., 2013). Santos, Lima & Morgado (2010), estudando 8 genótipos de feijão-caupi constatou que 3 genótipos tiveram um aumento significativo do açúcar sob déficit hídrico na pré-floração, 2 genótipos não tiveram diferença significativa, e 3 genótipos diminuíram seus valores sob estresse hídrico. Já Lobato et al. (2008), verificou aumento de quase 100% de carboidratos em plantas de feijão-caupi submetidas a déficit hídrico por 9 dias.

Podemos observar na Figura 9, o teor de açúcar redutor (AR) no tecido foliar do feijão-caupi.

**Figura 9.** Comportamento do açúcar redutor do feijão-caupi inoculado em função das lâminas de irrigação aos 45 DAE. T1: BR3264 (A); T2: BR85 (B); T3: BR3264+BR85 (C); T4: controle nitrogenado (CN); T5: controle absoluto (CA).



Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

Verifica-se nos resultados, que apenas o controle nitrogenado não se ajustou a nenhuma curva de regressão. Observa-se que da mesma forma que ocorreu com o açúcar solúvel total houve uma tendência ao aumento do açúcar redutor conforme era sido reduzido a lâmina de irrigação até certa restrição hídrica, com exceção do controle absoluto, que teve seu maior acúmulo de açúcar redutor na lâmina de 40% da ETc com o valor de 4,7 mg.Açúcar/g.MF, um incremento de 22% em relação a irrigação total. Nos inóculos BR3264 e BR85 o incremento do açúcar teve seu pico na lâmina de 60% da ETc, 5,02 e 5,91 mg.Açúcar/g.MF, respectivamente. No caso do inóculo BR3264 o aumento foi de 71% em relação a lâmina de 100% e 19% em relação a máxima restrição hídrica. Enquanto que o inóculo BR85 o incremento foi de 73% em relação a irrigação plena e 49% em relação a lâmina de 40%. Já o inóculo BR3264+BR85 teve seu maior conteúdo na lâmina de 80% (4,6

mg.Açúcar/g.MF), o que significa um aumento de 21,3% em contraste com a irrigação plena e 51% em relação a máxima seca.

Segundo Santos, Lima & Morgado (2010), em função do aumento do estresse hídrico o amido acaba sendo degradado nos tecidos em que foi acumulado, liberando a glicose para o metabolismo da planta. Além disso, são liberadas hexoses provenientes da hidrólise de sacarose, que podem fornecer açúcares redutores para o processo de ajustamento osmótico. Esse ajustamento osmótico por meio do incremento de açúcares redutores em plantas de feijão-caupi inoculado ocorre até certo estresse hídrico, não sendo eficiente quando a restrição hídrica é muito severa, onde outros mecanismos se sobressaem para realizar esse ajustamento, como ocorre para o mecanismo da prolina nesse cultivar.

#### **4. Conclusão e Sugestões**

O déficit hídrico ocasionou influência negativa no número de folhas, no diâmetro do caule, na altura das plantas, na clorofila A, na massa seca da parte aérea e na inoculação.

A inoculação das cepas de rizóbio é reduzida quando submetida a plantas com estresse hídrico, se sobressaindo cepas nativas. Sendo que a inoculação cruzada favorece a inoculação nessas condições.

Trabalhos futuros utilizando a inoculação cruzada devem ser realizados em campo para verificar a eficiência da inoculação e a resposta durante todo o ciclo da cultura, culminando com seus dados produtivos.

#### **5. Referências**

Abou-Shanab, R. A. I., Wongphat Charachai, M., Sheaffer, C. C., & Sadowsky, M. J. (2019). Response of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to inoculation with indigenous and commercial Rhizobium strains under organic farming systems in Minnesota. *Symbiosis*, 78(2), 125-134.

Albareda, M., Rodríguez-Navarro, D. N., & Temprano, F. J. (2009). Soybean inoculation: Dose, N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil. *Field Crops Research*, 113(3), 352-356.

Albuquerque, M. P. F., Moraes, F. K. C., Santos, R. I. N., Castro, G. L. S., Ramos, E. M. L. S., & Pinheiro, H. A. (2013). Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a deficit hídrico e reidratação. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. Brasília, 48 (1): 9–16.

Alemán, S., Domínguez, A., Domínguez, D., Fuentes, L., Pérez, Y., Pernía, B., Sosa, D., Sosa, M., & Infante, D. (2010). Estudio anatómico y bioquímico en materiales cubanos y venezolanos de *Phaseolus vulgaris* L. bajo condiciones de estrés hídrico. *RET*, 1(1), 89-99.

Araújo, W. P., Pereira, J. R., Zonta, J. H., Guerra, H. O. C., Cordao, M. A., & Brito, M. E. B. (2019). Gas exchange in upland cotton cultivars under water deficit strategies. *African Journal of Agricultural Research*, 14(23), 986-998.

Ayala, C. C., Orozco, A. J., Tatis, H. A., Agresott, M. P., & Córdoba, C. V. (2014). Respuestas fisiológicas y bioquímicas del fríjol caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) bajo déficit hídrico. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(2), 250-261.

Bates, L., Waldren, R., & Teare, D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.

Batista, E. R., Guimarães, S. L., Silva, E. M. B., & Souza, A. C. P. (2017). Combined inoculation of rhizobia on the cowpea development in the soil of Cerrado. *Revista Ciência Agronômica*, 48, (5), 745-755.

Carvalho, R. H., Jesus, E., Favero, V. O., & Straliootto, R. (2020). The Co-inoculation of Rhizobium and Bradyrhizobium Increases the Early Nodulation and Development of Common Beans. *Journal of Soil Science And Plant Nutrition*, 12-23.

Conceição, C. G., Robaina, A. D., Peiter, M. X., Parizi, A. R. C., & Conceição, J. A. (2018). Desenvolvimento Vegetativo Do Feijoeiro Irrigado Com Diferentes Lâminas. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, 12(2), 2406 - 2417.

Farias, T. P., Trochmann, A., Soares, B. L., & Moreira, F. M. S. (2016). Rhizobia inoculation and liming increase cowpea productivity in Maranhão State. *Acta Sci., Agron*, 38(3), 387-395.

Ferreira, P. A. V., Soares, C. R. F. S., Armas, R. D., Rangel, W. M., & Marciel Redin, M. (2016). Benefícios do uso de inoculantes bacterianos e os impactos sobre o consumo de fertilizantes nitrogenados no Brasil. In: Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no sul do Brasil: práticas alternativas de manejo visando a conservação do solo e da água. Cap.V: 65-86. Org. Tales Tiecher: Porto Alegre:UFRGS, 186p.

Gonçalves, I. S., Silva, R. R., Oliveira, G. M., Santiago, E. J. P., & Oliveira, V. E. A. (2017). Características fisiológicas e componentes de produção de feijão caupi sob diferentes lâminas de irrigação. *Journal of Environmental Analysis and Progress*. 02(03), 320-329.

Hu, M., Shi, Z., Xu, P., Li, H., & Zhang, Z. (2015). Wheat acclimate to water deficit by modifying carbohydrates metabolism, water use efficiency, and growth. *Brazilian Journal Of Botany*, 38(3), 505-515.

Jemo, M., Sulieman, S., Bekkaoui, F., Olomide, O. A. K., Hashem, A., Allah, E. F. A., Alqarawi, A. A., & Tran, L. P. (2017). Comparative Analysis of the Combined Effects of Different Water and Phosphate Levels on Growth and Biological Nitrogen Fixation of Nine Cowpea Varieties. *Frontiers In Plant Science*, 8, 327-355.

Jesus, E. C., Leite, R. A., Bastos, R. A., Aragão, O. O. S., & Araújo, A. P. (2018). Co-inoculation of Bradyrhizobium stimulates the symbiosis efficiency of Rhizobium with common bean. *Plant And Soil*, 425, (1-2), 201-215.

Khalid, K. A., Silva, J. A. T., & Cai, W. (2010). Water deficit and polyethylene glycol 6000 affects morphological and biochemical characters of *Pelargonium odoratissimum* (L.). *Scientia Horticulturae*, 125(2), 159-166.

Kyei-Boahen, S., Savala, C. A., Chikoye, D., & Abaidoo, R. (2017). Growth and Yield Responses of Cowpea to Inoculation and Phosphorus Fertilization in Different Environments. *Frontiers in Plant Science*, 8, 646.

Lobato, A. K. S., Oliveira Neto, C. F., Costa. R. C. L., Santos Filho, B. G., Cruz, F. G. R., & Laughinghouse, H. D. (2008). Biochemical and physiological behavior of *Vigna unguiculata*

(L.) Walp. Under water stress during the vegetative phase. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7(1): 44-49.

Locatelli, V. E. R., Medeiros, R. D., Smirdele, O. J., Alburquerque, J. A. A., & Araújo, W. F. (2016). Desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi sob lâmina de irrigação no cerrado Roraimense. *Irriga*, Edição especial: 28-39.

Michel, D. C., Guimarães, A. A., Costa, E. M., Carvalho, T. S., Balsanelli, E., Willems, A., Souza, E. M., & Moreira, F. M. S. (2020). Bradyrhizobium uaiense sp. nov., a new highly efficient cowpea symbiont. *Archives Of Microbiology*, 120-135.

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination reducing sugars. *Analytical Chemistry*. 31: 426-428.

Moreira, R. C. L., Soares, L. A. A., Medeiros, T. L. F., Fernandes, P. D., Oliveira, S. B., & Lima, G. S. (2019). Estratégias de irrigação variando as fases fenológicas no crescimento de feijão caupi sob adubação potássica. In: *V INOVAGRI International Meeting, XXVIII CONIRD-Congresso Brasileiro de Irrigação e Drenagem e I SBS-Simpósio Brasileiro de Salinidade*.

Mouradi, M., Farissi, M., Bouizgaren, A., Makoudi, B., Kabbadj, A., Very, A., Sentenac, H., Qaddourya, A., & Ghoulam, C. (2015). Effects of water deficit on growth, nodulation and physiological and biochemical processes in Medicago sativa-rhizobia symbiotic association. *Arid Land Research And Management*, 30(2), 193-208.

Nascimento, J. T., Pedrosa, M. B., & Tavares Sobrinho, J. (2004). Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o crescimento e produção de feijão caupi, vagens e grãos verdes. *Horticultura Brasileira*, 22(2), 174-177.

Pereira, A. S., et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em:  
[https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1).

Pessoa, U. C. M., Oliveira, K. J. A., Souza, A. S., Pimenta, T. A., Muniz, R. V. S., & Araújo Neto, A. G. (2017). Desempenho fisiológicos e crescimento do feijão-caupi, sob manejo de plantas daninhas. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 12(2): 246-250.

Rodrigues A. C., Antunes J. E. L., Medeiros V. V., Barros B. G. F., & Figueiredo M. V. B. (2012). Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. *Bioscience Journal*, 28(1):196-202.

Santos, C. B., Lima, G. P. P., & Morgado, L. B. (2010). Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. *Naturalia*, 33, 34-44.

Schossler, J. H., Meert, L., Rizzardi, D. A., & Michalovicz, L. (2016). Componentes de rendimento e produtividade do feijoeiro comum submetido à inoculação e co-inoculação com estirpes de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*. *Scientia Agrária*, 17(1), 10–15.

Sousa, A. S., Silva, J., Ramos, D. P., Oliveira, T. C., Gonzada, L. A. M., & Fidelis, R. R. (2012). Eficiência e resposta à aplicação de nitrogênio de genótipos de feijão comum cultivados em várzea tropical do Estado do Tocantins. *Journal Biotechnology Biodiversity*, 3(3), 31-37.

Sousa, C. C. M., Pedrosa, E. M. R., Rolim. M. M., Oliveira Filho, R. A., Souza, M. A. L. M., & Pereira Filho, J. V. (2015). Crescimento e respostas enzimáticas do feijoeiro caupi sob estresse hídrico e nematoide de galhas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, 19(2), 113–118.

Souza L. S. B., Aguiar C. A. C., Marinho L. B., Zilli J. É., Fernandes Júnior P. I., & Martins L. M. V. (2015). Desenvolvimento do feijão-Caupi inoculado com bactérias diazotróficas em função da aplicação de diferentes lâminas de irrigação. In: *XXXV Congresso Brasileiro de Ciência Solo*.

Streit N. M., Canterle L. P., Canto M. W., & Heckthwer L. H. H. (2005). As Clorofilas. *Ciencia Rural*, 35(3)748-755.

Suárez A. D., Poma N. M. M., Garcia S. A., Hernández Y. P., Rodríguez R. D., Castilho M. S., & Alfonso L. F. (2012). Algunos indicadores morfológicos y bioquímicos de cinco variedades de *Phaseolus vulgaris* L. bajo condiciones de sequía. *Revista Avanzada Científica*, 15(2), 1-17.

Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends In Plant Science*, 15(2), 89-97.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: ARTMED.

Tankari, M., Wang, C., Zhang, X., Li, L., Soothar, R., MA, H., Xing, H., YAN, C., Zhang, Y., & LIU, F. (2019). Leaf Gas Exchange, Plant Water Relations and Water Use Efficiency of *Vigna Unguiculata* L. Walp. Inoculated with Rhizobia under Different Soil Water Regimes. *Water*, 11(3), 498-512.

Ulzen, J., Abaidoo, R. C., Mensah, N. E., Masso, C., & Abdelgadir, A. H. (2016). Bradyrhizobium Inoculants Enhance Grain Yields of Soybean and Cowpea in Northern Ghana. *Frontiers In Plant Science*, 7, 327-345.

Yemm, E. W., & Willis, A. J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*, 57(3), 508-514.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Alessandro Carlos Mesquita - 100%

Laelson Freires Gomes - 100%

João Bosco Mota dos Santos Junior - 100%

Igor Juliano da Silva Souza - 100%

Wallace Renato da Silva Nogueira - 60%

Ana Thaila Rodrigues Felix - 60%