

OCORRÊNCIA NATURAL DE MICORRIZA E RHIZOBIUM PHASEOLI EM ÁREAS COM FEIJOEIRO¹

S.M. TSAI SAITO², ELEONORA C.S. MARTINS³, J.R. DE FREITAS⁴ e
A.J. ROSTON⁵

RESUMO - Experimentos padrões de 5 m x 5 m (10 linhas de 5 m) foram instalados usando a cultivar Carioca, em 16 locais no sul de São Paulo, de cultivo tradicional de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), para determinar a existência de micorriza vesicular-arbuscular (MVA) e de *Rhizobium phaseoli* nativos. Detectou-se elevado número de *Rhizobium* nos solos (em média, 4×10^6 bact/g de solo), com abundante nodulação, em condições controladas de casa de vegetação, e baixa nodulação em campo, indicando que fatores ambientais (principalmente água) limitaram o desenvolvimento dos nódulos nas condições de campo. A percentagem de infecção pelo fungo MVA no campo variou entre 13,3 e 83,3%, com média geral de 53%, e em casa de vegetação, entre 6,6 e 53,3%, com média geral de 32%. O número de esporos variou entre 4 e 65 por 50 g de solo, com média ao redor de 21 esporos/50 g solo. A maior ocorrência do *Rhizobium* em casa de vegetação em relação à encontrada no campo e a resposta inversa observada com o fungo MVA indicaram que fatores diversos atuaram no estabelecimento e sobrevivência dos microrganismos.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*.

NATURAL OCCURENCE OF MYCORRHIZA RHIZOBIUM PHASEOLI IN AREAS UNDER BEANS CULTIVATION

ABSTRACT - Standard experimental plots 5 m x 5 m (10 rows of 5 m each) were set with the bean cultivar Carioca in 16 sites in the south of São Paulo State, Brazil, to determine the presence of native vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) and native *Rhizobium phaseoli*. It was observed that *Rhizobium phaseoli* and VAM are present in those areas. In respect to *Rhizobium*, the abundant nodulation in the glasshouse and high number of *Rhizobium* in the soil (around 4×10^6 bact/g of soil), compared to the poor nodulation at those sites, indicate that environmental factors (mainly drought) limited nodule development under field condition. VAM infection varied between 13,3 to 83,3% in the field, with an average of 53% and between 6,6 to 53,3% in the glasshouse, averaging 32%. The spore numbers varied from 4 to 65 per 50 g of soil, with an average of 21 spores/50 g of soil. The higher occurrence of *Rhizobium* in the glasshouse when compared with that under field conditions, and the inverse response observed with VAM fungi indicate that diverse factors have acted on the establishment and survival of both microorganisms.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado, em nossas condições, principalmente em pequenas propriedades, utilizando baixa tecnologia e solos pobres (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 1981). A produtividade média do feijão cultivado no Brasil é muito baixa, cerca de 550 kg/ha (Projeto Feijão 1976). Por isso, estudos sobre

tecnologias que minimizem a dependência da cultura aos fertilizantes representariam um passo importante para o melhor estabelecimento e aumento da produtividade do feijoeiro a um menor custo.

Dois microrganismos se evidenciam em associação simbiótica com o feijoeiro, aumentando sua eficiência no aproveitamento de nutrientes. São o *Rhizobium phaseoli*, cuja contribuição se deve à capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico e cedê-lo ao hospedeiro (Saito 1982), e a micorriza vesicular-arbuscular (MVA), fungo da família *Endogonoceae*, que, ao colonizar a planta, aumenta a superfície de absorção do sistema radicular do hospedeiro com suas hifas (Mosse 1973), tendo papel principal na absorção de fósforo e de outros nutrientes (Mosse et al. 1976, Daft & Nicolson 1966).

¹ Aceito para publicação em 18 de julho de 1983.

² Eng^a - Agr^a, Dr^a, Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Caixa Postal 96, CEP 13400 - Piracicaba, SP. Bolsista do CNPq e da FAPESP. Apoio financeiro FAPESP, Projeto Agronomia 81/82.

³ Eng^a - Agr^a, CENA. Bolsista do CNPq e da FAPESP.

⁴ Eng^o - Florestal, CENA. Bolsista do CNPq.

⁵ Eng^o - Agr^o, Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada (CATI), Av. Brasil, 2340, CEP 13100 - Campinas, SP.

No Brasil, o uso de inoculação com o *Rhizobium phaseoli* é irrisório (Araújo 1974). As respostas à inoculação são muito variáveis, desde o insucesso (El-Beheidi 1970, Nuñez & Valdez 1976) até respostas de 25 a 71 kg N/ha ciclo (Graham & Rosas 1977, Saito 1982, Ruschel et al. 1982). Muitos fatores estão associados a estes resultados; entre eles, a competição com estirpes nativas e a sobrevivência da estirpe introduzida em condições adversas (Saito & Ruschel 1980).

Deve-se enfatizar a grande dependência do feijoeiro em relação ao fósforo e seu microssimbionte *Rhizobium phaseoli* para uma efetiva fixação de nitrogênio (Saito & Ruschel 1978a). Neste contexto, o papel da micorriza se evidencia suprimindo a planta de fósforo e micronutrientes.

O estabelecimento desta tríplice associação *Rhizobium*-leguminosa-micorriza poderá causar aumentos efetivos na produção, quando eficiente.

Neste trabalho, foi feito um levantamento das populações autóctones de *R. phaseoli* e da ocorrência de MVA naturalmente estabelecida na cultura. Instalou-se um experimento padrão de 5 m x 5 m (10 linhas de 5 m) com a cultivar Carioca, em cada um dos 16 locais, onde se cultivava tradicionalmente o feijoeiro, tentando abranger uma área representativa da cultura no Estado de São Paulo. Estas informações são consideradas essenciais à concepção de um programa de inoculação com *Rhizobium phaseoli*, neste estado, aliado a uma avaliação do potencial de infecção dos microssimbiontes em condições naturais de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento foi realizado em 16 locais, tentando abranger 50% da área econômica da cultura.

Procurou-se, inicialmente, obter informações sobre produção, produtividade, sistema de cultivo, sistema de produção e período de cultivo de cada área escolhida para instalação do ensaio (Tabela 1), através de um questionário respondido pelos proprietários.

Experimento de campo

Foi instalado, em cada área, um experimento padrão de 5 m x 5 m (10 linhas de 5 m), à base de 15 sementes por metro linear, empregando a cultivar Carioca. As sementes foram esterilizadas com H₂O₂ (10% volume) para eliminação do *Rhizobium* e imediatamente semeadas. A adubação foi feita no plantio usando 80 kg P₂O₅/ha de superfosfato simples e 30 kg K₂O/ha de cloreto de potás-

sio. Eliminou-se a adubação nitrogenada a fim de evitar a inibição do *Rhizobium*. Os demais tratamentos culturais foram conduzidos normalmente pelos proprietários. Dados de precipitação pluviométrica foram obtidos posteriormente junto ao Departamento de Águas e Energia Elétrica de São Paulo (Tabela 2).

Foram tiradas amostras de solo (3 kg) para análise química (Tabela 3), determinação do número mais provável de *Rhizobium* em cada solo e repetição do ensaio em casa de vegetação.

Após seis semanas da sementeira, foram retiradas as amostras em cada área, que constavam de 20 plantas colhidas ao acaso. A avaliação da nodulação foi feita com base no número, tamanho, cor e distribuição dos nódulos nas plantas (Tabela 4). Com relação à infecção micorrízica, utilizou-se o sistema radicular das plantas, que foram guardadas em frascos "snap cap" de 100 ml, juntamente com solução conservante FAA (formol, ácido acético e álcool etílico). Foram retiradas amostras (terço médio do sistema radicular) e, separadamente, coloridas pelo método de Phillips & Hayman (1970).

A porcentagem de infecção micorrízica foi avaliada a partir de observações ao microscópio óptico. Cada leitura constou da observação de dez segmentos de 1 cm de raiz. Foram feitas três leituras para cada local, adotando-se o critério de considerar positivo o segmento que apresentasse estruturas características do fungo (vesículas e/ou arbusculos) em seu interior, obtendo-se, assim, a porcentagem de infecção que, após análise de variância, revelou a porcentagem mais provável de infecção nos solos analisados.

Experimento em casa de vegetação

Foi realizado um ensaio em casa de vegetação, utilizando os solos trazidos dos locais estudados. Para cada local, utilizaram-se 500 g do solo amostrado, colocando-se em sacos de plástico escurecido (três repetições).

A adubação foi feita na dosagem equivalente à do campo, tendo sido semeadas quatro sementes por vaso, deixando-se, após o desbaste, duas plantas por vaso.

As plantas foram colhidas após seis semanas da sementeira e realizaram-se as análises de infecção e nodulação, conforme descrito para o campo.

O solo da rizosfera das plantas foi pesado (50 g) para contagem de esporos pelo método de decantação e peneiragem (Gerdemann & Nicolson 1966).

A determinação do número mais provável de *Rhizobium* (NMP) em cada solo foi feita com base em plantas de feijoeiro, mantidas em condições assépticas em vermiculita e solução nutritiva deficiente em N mineral (McKnight 1949). Adotou-se o método de Brockwell (1963) e o sistema de tubos com vermiculita de Saito & Ruschel (1978b) modificado. Para cada solo, usou-se uma série de diluições de 10² a 10⁷ em duplicata e os dados estão incluídos na Tabela 4. As condições do "fitotron" foram de 25°C/20°C para dia/noite; 13 horas de fotoperíodo à intensidade de 20.000 lux (24 w/m²) e 60 a 70% de umidade relativa.

TABELA 1. Informações obtidas pelos proprietários dos locais onde os ensaios foram instalados.

Nº exp.	Local	Produção		Sistema de cultivo			Sistema prod.	Períodos de cultivo na área	
		Área (ha)	Campo (sacos/ha)	Adubação (kg/ha)	Cobert. N	Irrig.			Práticas de cultivo
1	Avaré	10	40	300 (4-16-30)	2 vezes	Sim	Mecaniz.	Manual	3º ciclo consecutivo
2	Itaí	460	20	150 (3-18-9)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Mecaniz.	3º ciclo consecutivo
3	Taquarituba	24	20	400 (4-30-10)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Manual	2º ciclo consecutivo
4	Taquarituba	40	20	Org. (esterc)	Não	Não	Mecaniz.	Manual	Cultura em rotação
5	Fatura	40	40	200 (4-30-10)	2 vezes	Parcial	Mecaniz.	Manual	Cultura em rotação
6	Itaporanga	40	20	120 (3-30-10)	Não	Não	Mecaniz.	Manual	2º ciclo consecutivo
7	Itapeva	60	15	500 (4-14-8)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Semi-Mec.	3º ciclo consecutivo
8	Itapeva	130	40	600 (4-28-20)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Mecaniz.	2º ciclo consecutivo
9	Itaberá	40	20	600 (4-14-8)	1 vez	Não	Mecaniz.	Manual	2º ciclo consecutivo
10	Itaberá	50	20	500 (4-14-8)	1 vez	Não	Mecaniz.	Manual	6º ciclo consecutivo
11	Itaberá	60	20	700 (4-14-8)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Manual	2º ciclo consecutivo
12	Itaberá	100	30	750 (3-15-8)	Não	Sim	Mecaniz.	Manual	Cultura em rotação
13	Itararé	*	*	*	*	Não	Mecaniz.	Manual	Cultura em rotação
14	Buri	26	20	600 (4-30-16)	-	Não	Manual	Manual	2º ciclo consecutivo
15	Capão Bonito	40	20	500 (4-14-8)	1 vez	Não	Mecaniz.	Manual	3º ciclo consec. rot.
16	Capão Bonito	24	40	400 (4-18-10)	2 vezes	Não	Mecaniz.	Mecaniz.	3º ciclo consecutivo

* Sem informações

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das áreas estudadas, do sul do Estado de São Paulo, representam pequenas propriedades, com área variando de 10 a 60 ha, exceto três propriedades de área superior a 100 ha. Plantam feijão solteiro em segundo e terceiro ciclos consecutivos, praticam adubações pesadas em N mineral e não irrigam a cultura (Tabela 1).

TABELA 2. Precipitação pluviométrica mensal (mm/mês) durante a condução dos experimentos no campo (março/maio 1981).

Local	Precipitação (mm/mês)		
	Março	Abril	Maio
Avaré	61,0	161,6	66,5
Itaí	72,6	127,4	45,5
Taquarítuba	54,3	110,3	33,9
Fartura	66,7	151,0	11,9
Itaporanga	55,3	157,9	30,2
Itapeva	48,3	115,9	19,4
Itaberá	55,5	103,8	25,0
Buri	134,8	103,5	24,3
Capão Bonito	87,4	117,9	41,5

Fonte: DAEE - Departamento de Água e Energia Elétrica (não publicado)

Não estão incluídos os dados de Itararé

TABELA 3. Análise química dos solos estudados.

Nºexp.	Local	C%	P	K	Ca ²⁺ e.mg/100 g solo	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	Mn ²⁺ ppm	pH
1	Avaré	4,95	0,17	0,52	4,73	1,41	0,16	0,48	72	5,74
2	Itaí	6,00	0,58	0,76	4,14	1,03	0,56	0,48	97	5,25
3	Taquarítuba	8,40	0,13	0,45	5,00	1,86	0,32	1,12	72	5,67
4	Taquarítuba	4,20	0,13	0,80	6,78	1,44	0,16	0,64	70	5,64
5	Fartura	3,30	0,25	0,21	6,33	0,88	0,16	0,48	72	5,91
6	Itaporanga	6,30	0,30	0,40	3,76	0,89	0,80	0,64	69	5,28
7	Itapeva	12,75	0,52	0,75	5,71	0,77	1,36	0,08	75	5,22
8	Itapeva	4,65	0,28	0,59	12,50	1,37	0,24	0,24	61	7,00
9	Itapeva	9,45	0,06	0,33	3,60	1,44	0,24	0,72	61	6,05
10	Itaberá	6,00	0,58	2,60	6,96	2,42	0,16	0,72	64	6,50
11	Itaberá	3,75	0,35	0,65	5,73	1,02	0,16	0,32	62	6,53
12	Itaberá	6,75	0,21	0,82	4,68	0,66	0,56	0,72	64	5,25
13	Itararé	4,20	0,41	0,57	1,13	1,13	0,40	0,40	62	6,50
14	Buri	10,50	0,35	0,40	0,93	0,72	1,28	0,01	62	4,84
15	Capão Bonito	3,30	0,21	0,51	2,46	0,77	1,04	0,08	69	5,10
16	Capão Bonito	7,20	0,35	0,42	3,24	0,73	0,96	0,88	78	5,23

Observou-se, durante a condução do experimento (período de março a maio de 1981), baixa precipitação pluviométrica, principalmente no início da cultura (Tabela 2).

Devido talvez às adubações praticadas, as análises dos solos das áreas estudadas revelaram teores adequados dos macronutrientes P, K, Ca, Mg na maioria das áreas (Tabela 3). Alguns teores considerados deficientes foram encontrados esporadicamente. Em contrapartida, os níveis de pH destes solos indicam que são, em geral, solos ácidos. Em 11 das 16 áreas estudadas, o pH foi inferior a 6.

Levantamento de *R. phaseoli* nativo

Observando-se a Tabela 4, percebe-se que os solos estão populados com alto número de *R. phaseoli* nativo, dado o número mais provável (NMP) de *Rhizobium* nos solos. Brockwell et al. (1968), em estudos de populações autóctones de *R. trifolii*, consideraram como alta uma população de $9,8 \times 10^5$ bact/g de solo. Observa-se, neste trabalho, que, em dez áreas, o NMP superou o valor $1,5 \times 10^6$ bact/g de solo. Apesar deste alto número de *Rhizobium* no solo, os dados de nodulação no campo foram baixos, com nódulos em geral pequenos (> 2 mm), em pequeno número e de coloração verde e/ou branca, indicando fixação pouco

TABELA 4. Contagem do número mais provável (NMP) de *Rhizobium phaseoli* e do número de esporos de fungo micorrízico (VA) nas áreas estudadas.

Local	<i>Rhizobium phaseoli</i> NMP (nºbact/g solo)	VAM esporos VA/50 g solo
1. Avaré	7,0 x 10 ⁶	9
2. Itaí	6,9 x 10 ⁶	16
3. Taquarituba	0,6 x 10 ²	10
4. Taquarituba	6,9 x 10 ⁶	8
5. Fartura	1,8 x 10 ⁶	20
6. Itaporanga	5,9 x 10 ⁵	4
7. Itapeva	5,9 x 10 ⁶	59
8. Itapeva	6,9 x 10 ⁶	10
9. Itapeva	6,9 x 10 ⁴	12
10. Itaberá	5,8 x 10 ⁶	42
11. Itaberá	6,9 x 10 ⁶	65
12. Itaberá	1,8 x 10 ⁶	10
13. Itararé	1,8 x 10 ⁶	7
14. Buri	-	24
15. Capão Bonito	5,9 x 10 ⁵	39
16. Capão Bonito	6,9 x 10 ⁶	7

eficiente (Tabela 5). Vários fatores poderiam estar envolvidos nesta baixa nodulação observada. Segundo Graham (1980), o teor de nitrogênio no solo, o "stress" hídrico, a temperatura e acidez do solo, entre outros, afetam substancialmente a nodulação e fixação de nitrogênio. O efeito de inibição do *Rhizobium* pelo nitrogênio não deve ter sido tão marcante, desde que se evitou a adubação nitrogenada no plantio. A acidez dos solos pode ter influenciado, porém presume-se que uma das principais causas da baixa nodulação observada em campo seja o "stress" hídrico sofrido pela cultura na maioria das áreas (Tabela 2), principalmente no início do desenvolvimento vegetativo, aliado à temperatura desfavorável. Tais causas fundamentam-se, ainda, na observação de que a capacidade de nodulação das estirpes nativas aumentou, quando em condições de temperatura e umidade favoráveis, obtidas em casa de vegetação (Tabela 5). Observa-se que, em algumas áreas, como Taquarituba 3 e Capão Bonito 15, havia menor número

TABELA 5. Determinação da nodulação natural de *Rhizobium* em campo, observada em 20 plantas por área e em casa de vegetação (duas plantas/vaso e três repetições), com idades variando entre 40 e 50 dias.

Local	Nº	Campo			Casa de vegetação		
		Tamanho médio (mm)	Cor	Distribuição na raiz*	Peso (mg/pl)	Tamanho médio (mm)	Cor
1. Avaré	113	< 2	branca	2	37,75	2 - 3	rosada
2. Itaí	84	2 - 3	verde	2	41,75	> 3	rosada
3. Taquarituba	21	< 2	branca	2	31,27	< 2	rosada
4. Taquarituba	69	< 2	verde e rosa	1,2	58,30	> 3	rosada
5. Fartura	< 10	< 2	deteriorada	2	10,50	<< 2	rosada
6. Itaporanga	19	< 2	branca	2	47,52	2 - 3	rosada e verde
7. Itapeva	74	2 - 3	verde e rosa	2	68,25	< 2	rosada
8. Itapeva	192	< 2	verde e rosa	2	44,00	< 2	rosada
9. Itapeva	36	< 2	verde e braca	2	16,00	< 2	muito verde
10. Itaberá	-	-	-	-	29,00	< 2	rosada
11. Itaberá	257	< 2, 2 - 3	verde e rosa	2	41,25	< 2, 2 - 3	rosada
12. Itaberá	17	< 2	verde	2	39,75	< 2	rosada
13. Itararé	309	2 - 3	verde e rosa	1	42,25	2 - 3	rosada
14. Buri	-	-	-	-	9,50	> 3	rosada
15. Capão Bonito	25	2 - 3	branca	2	46,52	> 3	rosada
16. Capão Bonito	262	2 - 3	verde e rosa	2	41,07	< 2	rosada

* 1 = primária - nódulos no eixo principal

2 = secundária - nódulos nas raízes secundárias

Os nódulos em casa de vegetação estavam uniformemente distribuídos.

de *Rhizobium* nativo ($0,6 \times 10^2$ bact/g de solo e $5,9 \times 10^5$ bact/g de solo, respectivamente), mas, sob condições controladas em casa de vegetação, estas estirpes nodularam bem. Em outras áreas, como Fartura e Itapeva 9, havia alto número de *Rhizobium* nativo ($1,8 \times 10^6$ bact/g de solo e $6,9 \times 10^6$ bact/g de solo, respectivamente), mas, em casa de vegetação, estas estirpes presentes no solo não nodularam abundantemente; em Itapeva 9, além de baixo peso de nódulos (16 mg/pl), os nódulos existentes eram muito verdes, indicando baixa eficiência fixadora.

Este comportamento das estirpes nativas, em campo e casa de vegetação, poderia ser indicativo da necessidade de inoculação. As áreas altamente populadas e com bom potencial de nodulação, como Itaf 2, Itapeva 8, Itaberá 11, Capão Bonito 16 e Itararé 13 e, ainda, área com baixo número de *Rhizobium*, porém com boa nodulação, necessitariam, em primeiro lugar, dar condições satisfatórias à expressão da simbiose, principalmente na forma de práticas agrícolas, como uso de calagem, práticas que aumentem ou retenham a umidade do solo e irrigação.

Isto, porém, exigiria o uso de tecnologia, durante todo o ciclo da cultura. Aliado a isso, seria necessário o uso de inoculação, mas com base em seleção de estirpes nativas mais eficientes e mais competitivas. Nas áreas em que há alto número de *Rhizobium*, mas com baixo potencial de nodulação (Fartura 5 e Itapeva 9), haverá necessidade da introdução de estirpes altamente competitivas, eficientes e adaptadas para eliminar o *Rhizobium* nativo pouco eficiente.

Levantamento da micorriza VA

O potencial de inóculo pelo fungo micorrízico, refletido pelo número de esporos por 50 g de solo nos diversos locais, foi muito variável (Tabela 4). Em nove áreas estudadas, porém, o número de esporos foi inferior a 14 esporos/50 g de solo.

Não houve correlação entre número de esporos nos solos e percentagem de infecção micorrízica encontrada em cada solo, fato constatado também por Danese & Cardoso (1981) em cana-de-açúcar. Com base nos dados obtidos de infecção micorrízica em campo (Tabela 6), percebe-se que a micorriza VA está presente, infectando a planta, em grande parte

das áreas estudadas. Os dados variam entre um máximo de 83,3% em Itaporanga 6 e Capão Bonito 15 e o mínimo de 13,3% de infecção micorrízica em Buri 14. Entretanto, verificou-se uma infecção pelo fungo, superior a 40%, em 12 das 16 áreas estudadas, valores estes bem maiores que os encontrados por Kruckelmann (1975) em feijoeiro inoculado (ao redor de 20% de infecção). Estes dados denotam que há fungo micorrízico nestas áreas e que fatores ambientais, principalmente seca, não têm influência muito grande no estabelecimento e desenvolvimento da micorriza VA. Isto é salientado quando verifica-se que, em casa de vegetação, mesmo sob condições de umidade e temperatura ideais ao desenvolvimento do hospedeiro, houve um grande decréscimo na percentagem de infecção micorrízica em todos os solos, com exceção de Buri 14 e Itararé 13. Alguns fatores podem estar envolvidos nesta menor infecção observada, principalmente ligados à sobrevivência do fungo VA, como períodos de armazenamento sem o hospedeiro. Outros fatores, como menor espaço físico dado pelo vaso para exploração das raízes e umidade alta dos solos, podem ter influído também na menor resposta em casa de vegetação.

TABELA 6. Determinação da infecção natural de fungos VA (20 plantas/área) e casa de vegetação (duas plantas/vaso) em raízes de feijoeiro, com 42 dias de idade. Dados de três repetições.

Local	Campo % Infecção	Casa vegetação % infecção
Avaré	73,3 ± 23,0	36,6 ± 5,8
Itaf	53,3 ± 5,8	6,6 ± 5,8
Taquarituba	73,3 ± 5,8	16,6 ± 5,8
Taquarituba	70,0 ± 10,0	36,6 ± 11,5
Fartura	43,3 ± 5,8	16,6 ± 11,5
Itaporanga	83,3 ± 5,8	43,3 ± 5,8
Itapeva	33,3 ± 15,3	36,6 ± 5,8
Itapeva	40,0 ± 10,0	33,3 ± 5,8
Itapeva	30,0 ± 17,3	26,6 ± 15,3
Itaberá	56,6 ± 25,2	53,3 ± 11,5
Itaberá	66,6 ± 11,5	30,0 ± 10,0
Itaberá	30,0 ± 5,8	23,3 ± 15,3
Itararé	40,0 ± 10,0	40,0 ± 10,0
Buri	13,3 ± 5,8	40,0 ± 0
Capão Bonito	83,3 ± 20,8	40,0 ± 17,3
Capão Bonito	30,0 ± 10,0	33,3 ± 5,8

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, S.C. Produção de inoculantes para feijão. In: REUNIÃO NACIONAL SOBRE NODULAÇÃO E FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO EM *PHASEOLUS VULGARIS*, 1, Viçosa, 1974.
- BROCKWELL, J. Accuracy of a plant infection technique for counting population of *Rhizobium trifolii*. *App. Microbiol.*, 11(5):377-83, 1963.
- BROCKWELL, J.; DUDMAN, F.W. & GIBSON, A.H. An integrated programme for the improvement of legume inoculant strains. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SOIL SCIENCE TRANSACTION, 9, Adelaide, Austrália, 1968.
- DAFT, M.J. & NICOLSON, T.H. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. *New Phytol.*, 65: 343-50, 1966.
- DAINESE, M.B. & CARDOSO, E.J.B.N. Algumas observações sobre fungos endomicorrízicos em associação com cana-de-açúcar em Piracicaba, SP. *O solo*, 73(1):24-27, 1981.
- EL-BEHEIDI, M. The effect of nitrogen status and bacterial inoculation on the yield of beans (*Phaseolus vulgaris*). *Beitr. Trop. Vet. Med.*, 4:295-301, 1970.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Departamento Técnico-Científico, Brasília, DF. Programa Nacional de Pesquisa de Feijão. Brasília, EMBRAPA-DID, 1981. p.15-26.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizae *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46:235-44, 1966.
- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. *Field Crops Res.*, 3, 1980.
- GRAHAM, P.H. & ROSAS, J.C. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. *J. Agric. Sci. Cambr.*, 88:503-8, 1977.
- KRUCKELMANN, H.W. Effects of fertilizers, soils, soil tillage, and plant species on the frequency of *Endogone* chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soils. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B. & TINKERS, P.B. eds. *Endomycorrhizas*. s.l., Academic Press London, 1975. p.511-26.
- MCKNIGHT, T. Efficiency of isolates of *Rhizobium* in the cowpea group with proposed additions to this group. *Queensl. J. Agric. Sci.*, 6:61-76, 1949.
- MOSSE, B. Advances in the study of vesicular arbuscular mycorrhiza. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 11:171-97, 1973.
- MOSSE, B.; POWELL, C.L. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza - IX Interactions between VAM, rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. *New Phytol.*, 76: 331-42, 1976.
- NUÑEZ, R. & VALDEZ, M. Respuesta de dos variedades de frijol a tres inoculantes de *Rhizobium* en el Valle de México. In: ADVANCES en la enseñanza y la investigación. Chapingo, Colegio de Post-Graduados, IEICA, 1976. p.136-7.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 55:158-61, 1970.
- PROJETO Feijão. Rio de Janeiro, CNEN, 1976. v.1. p.9.
- RUSCHEL, A.P.; VOSE, P.B.; MATSUI, E.; VICTÓRIA, R.L. & SAITO, S.M.T. Field evaluation of N₂-fixation and N-utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by ¹⁵N isotope dilution. *Plant Soil*, 65: 397-407, 1982.
- SAITO, S.M.T. Avaliação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 17(7):999-1006, 1982.
- SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Capacidade competitiva e de sobrevivência no solo de uma estirpe de *Rhizobium phaseoli* usada como inoculante. *Ci. e Cult.*, 32(7):888-92, 1980.
- SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Influência da calagem, adubação fosfatada e micronutrientes na nodulação natural do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *An. Esc. Sup. Agric. Luiz de Queiroz*, 25:545-56, 1978a.
- SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Use of a modified Gibson's tube method for assessment of nodulation in beans. *Beans Improv. Coop. Ann. Rep.*, 21:10-2, 1978b.