

AValiação em campo da capacidade de fixação simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*¹

S.M.T. SAITO²

RESUMO - Em continuação ao Programa de Seleção de Estirpes de *Rhizobium phaseoli* em campo, iniciado em 1978, foram realizados dois experimentos em solos TRE, usando dez estirpes selecionadas de *Rhizobium phaseoli*. A seleção baseou-se no aumento do peso e/ou do teor de N da semente e na percentagem de infecção na planta pela estirpe introduzida. Em ambos os solos, foram obtidos aumentos significativos na nodulação em plantas inoculadas. Devido ao alto teor de N já existente no primeiro solo TRE (Estação Experimental Areão), não foram observadas diferenças significativas no desenvolvimento das plantas devidas à inoculação. Mesmo assim, aumentos de 43 a 48% no rendimento de 20-23% no teor de N dos grãos foram obtidos nos tratamentos inoculados com as estirpes CIAT-903 e CIAT-640, estimando-se, respectivamente para ambos, contribuições de 24,2 e 27,8 kg/ha de N através da fixação de N₂. No segundo solo TRE (Estação Experimental de Piracicaba), apesar do evidente aumento no desenvolvimento vegetativo das plantas inoculadas com as estirpes CIAT-632, CIAT-676 e CIAT-903, somente foi obtido aumento significativo de 47% no rendimento de grãos quando se inoculou o feijão com a estirpe CIAT-903, que contribuiu somente com 2,86 kg/ha de N fixado.

Termos para indexação: inoculação em campo/rendimento.

FIELD EVALUATION OF THE SYMBIOTIC FIXATION ABILITIES AMONG RHIZOBIUM PHASEOLI STRAINS

ABSTRACT - Continuing the Programme of Field Inoculation with *Rhizobium phaseoli*, started in 1978, two experiments were carried out in TRE soil, the selection was based on the increase of weight and/or total N in the seeds and in the infection percentage by ten selected strains. In both soils, a significant increase in the nodulation of inoculated plants was observed. Probably due to the presence of a high N content in the first soil (TRE-1), no significant differences were observed in the plant growth due to inoculation. But increases up to 48% in the yield and up to 23% in the total-N of the grains were obtained in plots inoculated with the strains CIAT-903 and CIAT-640, estimating contributions of both strains, respectively 24.2 and 27.8 kg/ha of N from N₂ fixation. In the second soil (TRE-2), although the evident increases in the vegetative growth of plants inoculated with CIAT-632, CIAT-676 and CIAT-903, a significant increase of 47% in the grain yield was obtained only when the bean was inoculated with CIAT-903, but contributed only with 2.86 kg/ha of fixed N.

Index terms: field inoculation, grain yield.

INTRODUÇÃO

A inoculação em feijoeiro tem sido pouco levada em consideração devido principalmente à presença do alto número de estirpes naturais de *Rhizobium phaseoli* em nossos solos. Sabe-se, porém, que as estirpes do solo, muitas vezes, não são eficientes e a estirpe introduzida, mesmo em menor número, pode contribuir com aumentos de até 20% na produção (Saito et al. 1979). Desde que sejam fornecidas à planta as condições requeridas para o seu desenvolvimento, (por exemplo adição de fósforo, calagem, micronutrientes, etc.), a bac-

téria terá também maior probabilidade de persistir na planta e fixar N₂ por período mais longo (Saito & Ruschel 1978).

O nitrogênio do solo, muitas vezes, pode determinar a maior ou menor resposta à inoculação e à adubação nitrogenada (Ruschel et al. 1979, Pons & Goepfert 1975, Pons et al. 1976). Em solos novos a necessidade ou não de inoculação e/ou adubação é avaliada principalmente pelo teor de N mineral, como já foi estudado em soja (Kolling & Freire 1978).

A maior capacidade de infectar o hospedeiro que uma bactéria tem é uma das características exigidas numa seleção de estirpes, porém a sua eficiência deve ser a condição principal e o determinante do sucesso da inoculação em solos populadas com alto número de estirpes autóctones de *Rhizobium phaseoli*. Em solos onde se cultiva tradicionalmen-

¹ Aceito para publicação em 15 de dezembro de 1981.

² Eng.º Agr.º, M.Sc., Dr., Seção de Microbiologia do Solo - CENA/USP - Caixa Postal 96, CEP 13400 - Piracicaba, SP.

te o feijoeiro, a seleção de estirpes se baseará na eficiência da estirpe de fixar N_2 com alta capacidade de nodular o feijoeiro. Nessas condições, todas as características desejáveis ao microsimbionte deverão atuar para a máxima expressão da simbiose.

As duas estirpes 127-K17 e CIAT-57, atualmente usadas nas indústrias de inoculantes, não preenchem as características desejadas numa eficiente fixação de N_2 atmosférico. Além disso, detectou-se na estirpe 127-K17 liberação de H_2 , indicando uma perda de até 35% na capacidade de fixação de N_2 (Saito et al. 1980).

O objetivo do presente trabalho foi de determinar a eficiência de fixação de N_2 de dez estirpes selecionadas de *Rhizobium phaseoli* pelo CENA e CIAT e suas capacidades competitivas em solos populados por estirpes naturais de *Rhizobium phaseoli*. Os critérios de seleção foram baseados principalmente em aumentos no rendimento e no N total da semente.

MATERIAL E MÉTODOS

As estirpes e suas origens estão mostradas na Tabela 1. As estirpes, num total de dez e provenientes do Centro Internacional de Agricultura Tropical, estavam tanto sob forma liofilizada quanto inoculadas em turfa, preparada com três meses de antecedência. As culturas liofilizadas foram ressuspensas em salina estéril (0,85% NaCl) e repicados em meio YMA (Fred et al. 1932) para testes de eficiência, em vasos Leonard, com vermiculita e NH_4NO_3 com 5 ppm de N (McKnight 1949), e para o preparo de

antissoros específicos. As turfas ficaram armazenadas a $5^\circ C$ até o dia do plantio.

Para obtenção de antissoro específico a cada estirpe, seguiu-se o mesmo método de inoculação sucessiva em coelho, utilizado por Saito & Ruschel (1980). As reações cruzadas entre as estirpes são mostradas na Tabela 2. A estirpe CIAT-893 demonstrou maior grau de reação e apresentou alguma afinidade com as estirpes CIAT-255, CIAT-903 e CIAT-905.

Os experimentos foram realizados em duas localidades de Piracicaba, o primeiro na Fazenda Experimental Areão (ESALQ) e o segundo, na Estação Experimental de Piracicaba (IAC). Os solos, ambos Terra Roxa Estruturada (TRE), apresentaram as seguintes características físicas e químicas: Experimento 1 (TRE-1): M.O. - 1,5%; Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} - 3,4, 1,0 e 0,0 e.mg/100 ml solo; P e K - 1 e 32 $\mu g/ml$ solo; pH - 5,8; N total - 0,1092%; Experimento 2 (TRE-2): M.O. - 2,4%, Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} - 3,9, 2,6 e 0,0 e.mg/100 ml solo; P e K - 5 e 95 $\mu g/ml$ solo; pH - 6,1; N total - 0,0441%. Ambos foram classificados como solo barro-argiloso.

Na contagem do número de *Rhizobium phaseoli* nativo do solo, através da diluição e infecção em planta (Date & Vincent 1962), detectou-se a presença aproximadamente de 50 bactérias/g solo no TRE-1 e $8,5 \times 10^3$ bactérias/g solo no TRE-2. O número relativamente alto de *Rhizobium phaseoli* nativo no TRE-2 se deveu aos frequentes cultivos na área com feijão. O primeiro solo (TRE-1), além de menos populado pela bactéria, tem sido menos cultivado, como pode ser observado pelo seu alto teor de N (incluindo nitrato).

Os experimentos foram instalados em 26 de setembro de 1979 e 1 de novembro de 1979, respectivamente, para TRE-1 e TRE-2, sendo usados seis blocos ao acaso e doze tratamentos: 1- Nitrogênio (100 kg/ha de N de uréia no plantio); 2- Testemunha; 3- CIAT-45; 4- CIAT-57; 5- CIAT-255; 6- CIAT-632; 7- CIAT-640; CIAT-676; 9- CIAT-893; 10- CIAT-903; 11- CIAT 904; 12- CIAT-905.

TABELA 1. Origem das estirpes de *Rhizobium phaseoli* usadas no presente trabalho.

| Nº CIAT | Nº CENA | Nome original | Procedência |
|----------|---------|---------------|--|
| CIAT-45 | C-101 | F-310 | EMBRAPA, km 47 via Campo Grande - Brasil |
| CIAT-57 | C-89 | CC-511 | CSIRO, Canberra, Austrália |
| CIAT-255 | C-40 | Z-272 | Promyf, Honduras |
| CIAT-632 | C-102 | 21 | ICTA, Guatemala |
| CIAT-640 | C-100 | Z-632 | CIAT, Cali, Colômbia |
| CIAT-676 | C-103 | 3620 | Rothamsted Exp. Sta., Inglaterra |
| CIAT-893 | C-104 | M-20 | CIAT, Cali, Colômbia |
| CIAT-903 | C-105 | TAL-182 | Niftal, Maui, Hawaii |
| CIAT-904 | C-88 | SEMIA-487 | RS, Porto Alegre - Brasil |
| CIAT-905 | C-29 | 127-K17 | Nitragin, Co., USA |

TABELA 2. Reações sorológicas entre as estirpes de *Rhizobium phaseoli* usadas nos experimentos de solo. Teste de aglutinação usando 0,5 ml de cada bactéria contra diferentes títulos de antígenos da própria e demais bactérias.

| | CIAT-45 | CIAT-57 | CIAT-255 | CIAT-632 | CIAT-640 | CIAT-676 | CIAT-893 | CIAT-903 | CIAT-904 | CIAT-905 |
|----------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| CIAT-45 | 1/400 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| CIAT-57 | - | 1/3200 | 1/25 | - | - | - | - | - | - | - |
| CIAT-255 | - | 1/25 | 1/800 | 1/50 | - | - | 1/50 | 1/50 | - | 1/50 |
| CIAT-632 | - | - | 1/50 | 1/400 | - | - | - | - | - | - |
| CIAT-640 | - | - | - | - | 1/400 | - | - | - | - | - |
| CIAT-676 | - | - | - | - | - | 1/1600 | - | - | - | - |
| CIAT-893 | - | - | - | - | - | - | 1/1600 | 1/200 | - | 1/50 |
| CIAT-903 | - | 1/50 | - | - | 1/400 | - | 1/200 | 1/800 | - | - |
| CIAT-904 | - | - | - | - | - | - | - | - | 1/1600 | - |
| CIAT-905 | - | - | - | - | - | - | 1/50 | - | - | 1/800 |

Segundo normas para seleção de *Rhizobium* no campo, na representação de uma parcela foram usadas linhas de 6 m de comprimento, com média de 20 sementes por metro, deixando 15 plantas após desbaste. A distância entre parcelas (linhas) foi de 1m.

A adubação básica dos solos no plantio correspondeu a 100 kg/ha de P₂O₅ de superfosfato simples e 50 kg/ha de K₂O de KCl.

No TRE-1, na inoculação por via úmida, foi usada uma cultura de cada estirpe, na concentração média de 10⁹ células/ml meio líquido, contendo manitol e extrato de levedura (Fred et al. 1932). As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca foram imersas, por 30 minutos, em uma média de 100 ml meio/200 g semente, drenadas e envolvidas com metil celulose e CaCO₃ p.a. No TRE-2, foi usada turfa inoculada pelo CIAT, previamente esterilizada por radiação gama. As sementes de feijão cv. Carioca foram envolvidas com metil celulose e cobertas com turfa à base de 1 g/200 g semente e CaCO₃ p.a.

No TRE-1, uma completa amostragem foi feita 30 dias após o plantio, colhendo-se a cultura 106 dias após o plantio. No TRE-2, foram feitas duas amostragens aos 29 e 44 dias, sendo a colheita realizada 99 dias após o plantio.

Os parâmetros observados na planta foram: peso e N total da parte aérea; peso, número e atividade dos nódulos (redução de C₂H₂) de cinco plantas. Na determinação da atividade dos nódulos seguiu-se o mesmo método usado por Saito et al. (1980). O rendimento de grãos foi medido em dez plantas por parcela (linha), anotando-se o peso e determinando-se o N% das sementes.

Na identificação da estirpe inoculada nos nódulos, usou-se o método de aglutinação (Vincent 1970). No TRE-1, após a mistura dos nódulos das seis parcelas (linhas) de cada estirpe, foram usados 20 nódulos de cada tratamento para representar o tratamento. No TRE-2, os resultados de cada parcela (linha) corresponderam a testes com dez nódulos tirados ao acaso de cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na determinação da eficiência de fixação de N₂ das estirpes em solução deficiente de N (Tabela 3), ficaram evidenciadas diferenças significativas entre as estirpes, tanto na eficiência quanto na capacidade de nodulação. Observa-se, em alguns casos (por exemplo com a estirpe CIAT-57), que a maior nodulação (peso de nódulo) não contribuiu com aumentos significativos na matéria seca e N total. Neste caso, a atividade da nitrogenase foi baixa, indicando que a simbiose, apesar de presente, pouco contribuiu no balanço de N na planta. Pelos dados de atividade da nitrogenase, as melhores estirpes foram CIAT-903, CIAT-640, CIAT-904, CIAT-676 e CIAT-255. A primeira dessas es-

TABELA 3. Efeito da inoculação das estirpes de *Rhizobium phaseoli* em vaso Leonard, contendo vermiculita e solução nutritiva (5 µg N/ml), em relação às testemunhas não inoculadas, sem nitrogênio (T) e com nitrogênio (N), na concentração de 70 µg N/ml solução sobre a parte aérea e nodulação de feijoeiro cv. Carioca. Médias de quatro repetições.

| | Parte aérea | | | Nodulação | | Eficiência relativa ² (%) |
|-------------------|-------------------------|-------|---------------------|-------------------------|--|--------------------------------------|
| | Matéria seca (g/planta) | N (%) | N Total (mg/planta) | Matéria seca (g/planta) | Atividade ¹ N ₂ -ase | |
| CIAT-45 | 1,101 | 2,47 | 27,080 | 0,204 | 11,41 | 25,65 |
| CIAT-57 | 0,649 | 2,98 | 19,641 | 0,253 | 4,75 | 15,12 |
| CIAT-255 | 1,426 | 2,69 | 38,215 | 0,227 | 14,65 | 33,22 |
| CIAT-632 | 1,108 | 2,74 | 30,594 | 0,223 | 10,80 | 25,82 |
| CIAT-640 | 1,090 | 2,29 | 24,841 | 0,303 | 20,94 | 25,40 |
| CIAT-676 | 2,128 | 2,63 | 55,943 | 0,168 | 16,63 | 49,58 |
| CIAT-893 | 0,928 | 2,15 | 20,115 | 0,140 | 3,95 | 21,62 |
| CIAT-903 | 0,917 | 2,31 | 21,405 | 0,101 | 24,90 | 21,37 |
| CIAT-904 | 2,115 | 3,23 | 67,573 | 0,476 | 19,41 | 49,28 |
| CIAT-905 | 1,352 | 3,42 | 45,810 | 0,240 | 6,27 | 31,50 |
| T | 0,402 | 2,74 | 12,071 | 0 | 0 | - |
| N (70 ppm) | 4,292 | 2,98 | 127,808 | 0 | 0 | 100,00 |
| D.M.S. (Tukey 5%) | 0,852* | | 33,025* | 0,232* | | |
| C.V. | 24% | 20% | 33% | 46% | | |

¹ µmoles C₂H₄/planta.h.

² Avaliada em relação a: $Ef_r = \frac{\text{Peso matéria seca planta inoculada}}{\text{Peso matéria seca planta Test. C/N}} \times 100$ (Bergersen et al. 1971)

tirpes (CIAT-903) não contribuiu com aumentos significativos de peso e N total, o que torna duvidoso o critério de seleção pela atividade (redução de C₂H₂) dos nódulos. Como critério importante na indicação da eficiência das estirpes usadas, a eficiência relativa para produção de massa serviu para definir melhor a expressão das estirpes na cultivar Carioca, pois, por este parâmetro, as estirpes CIAT-676 e CIAT-904 superam as demais, seguidas pela CIAT-255 e CIAT-905. Neste caso, somente as estirpes CIAT-904 e CIAT-676 apresentaram superioridade em todos os parâmetros utilizados na avaliação da eficiência das estirpes em vasos Leonard.

Nos testes de inoculação no solo (Tabelas 4 e 5), a expressão das estirpes não seguiu os mesmos padrões do ensaio em casa de vegetação. Foram obtidos significativos aumentos no peso e número de nódulos devido à inoculação, mesmo em so-

lo populado com elevado número de *Rhizobium phaseoli* nativo. Os aumentos variaram de 40 a 273% no TRE-1 e de 174% a 714% no TRE-2 para peso de nódulos em relação à testemunha sem N. O efeito da inoculação no solo TRE-1 (Tabela 4) não foi significativo, provavelmente devido ao teor de N já existente no solo, demonstrado pela pequena diferença entre as testemunhas sem e com N (100 k/ha de N). O desenvolvimento das plantas foi muito bom e uniforme, não mostrando sintomas de deficiência de N em nenhum estágio de desenvolvimento. Apesar de não significativo, houve uma tendência de aumento no rendimento e no teor de N das sementes nos tratamentos inoculados com estirpes CIAT-640 e CIAT-903, respectivamente, 48% e 43% para o peso (g/10 pl.) e 45% e 40% para N total. O número, o peso dos nódulos e a percentagem de infecção nestes tratamentos foram razoavelmente altos

TABELA 4. Experimento em solo TRE-1. Efeito da inoculação com dez estirpes selecionadas de *Rhizobium phaseoli* (meio líquido) e da adição de N (100 kg/ha de N de uréia) sobre a nodulação, atividade da nitrogenase, peso da parte aérea e peso, N%, N total e N fixado em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca, com 30 dias de idade. Cada dado corresponde à média de seis parcelas.

| Tratamentos | Nodulação | | | Parte aérea | | Semente | | | N fixado estimado kg/ha de N** |
|--------------------|-----------|------------------------|------------------|-------------------------|------------|---------------|------|------------------|--------------------------------|
| | Número | Peso nód. secos mg/pl. | % I ⁺ | At. N ₂ ase* | Peso g/pl. | Peso g/10 pl. | N% | N total g/10 pl. | |
| Testemunha | 17 | 12 | - | 0,071 | 2,20 | 151,55 | 3,42 | 6,02 | - |
| CIAT-45 | 39 | 57 | 60 | 0,085 | 1,62 | 136,47 | 5,38 | 4,62 | - |
| CIAT-57 | 28 | 24 | 80 | 0,075 | 1,65 | 167,53 | 3,33 | 5,58 | - |
| CIAT-255 | 47 | 55 | 87 | 0,514 | 1,77 | 138,83 | 3,36 | 4,66 | - |
| CIAT-632 | 44 | 47 | 100 | 0,236 | 1,68 | 194,12 | 3,45 | 6,70 | 13,6 |
| CIAT-640 | 46 | 49 | 75 | 0,059 | 2,32 | 224,50 | 3,35 | 7,41 | 27,8 |
| CIAT-676 | 24 | 21 | 50 | 0,553 | 2,09 | 151,70 | 3,25 | 4,89 | - |
| CIAT-893 | 40 | 74 | 80 | 1,057 | 1,84 | 185,83 | 3,32 | 6,28 | - |
| CIAT-903 | 35 | 52 | 100 | 0,285 | 1,80 | 216,75 | 3,32 | 7,23 | 24,2 |
| CIAT-904 | 51 | 81 | 60 | 0,577 | 2,02 | 143,12 | 3,37 | 5,06 | - |
| CIAT-905 | 50 | 54 | 70 | 0,513 | 1,78 | 160,88 | 3,35 | 5,44 | - |
| N (100 kg/ha de N) | 4 | 3 | - | 0,067 | 3,31 | 187,63 | 3,45 | 5,99 | - |
| F | 5,80*** | 3,15*** | | | 6,02*** | | | | |
| D.M.S. (Tukey 5%) | 30 | 68 | | | 0,94 | 97,84 | 0,75 | 3,47 | |
| C.V. | 42% | 76% | | 23% | 23% | 28% | 10% | 29% | |

+ - % infecção da estirpe inoculada, determinada por aglutinação.

* - determinação pelo método da redução de C₂H₂ (μ moles C₂H₄/pl/h).

** - calculado em relação à testemunha.

*** - probabilidade < 0,01.

TABELA 5. Experimento em solo TRE-2. Efeito da inoculação com as estirpes selecionadas de *Rhizobium phaseoli* (em turfa) e da adição de N (100 kg/ha de N de uréia) sobre a nodulação, atividade da nitrogenase, peso da parte aérea e peso, N%, N total e N fixado em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca, com 29 a 44 dias de idade. Cada dado corresponde à média de seis parcelas.

| Tratamentos | Nodulação | | | | | | Parte aérea | | | | Semente | | |
|--------------------|---------------------------|-------|------------|-------------------------------|------------------|---------------------|-------------|-------------------|--------------------------------|----------|---------------|-------------------------------|------------|
| | Peso nód. frescos (g/pl.) | | % I* 29 d. | At. N ₂ ase* 29 d. | Peso g/pl. 44 d. | Peso g/10 pl. 44 d. | N % | N total mg/10 pl. | N fixado estimado kg/ha de N** | N % | Peso g/10 pl. | At. N ₂ ase* 29 d. | % I* 29 d. |
| | 29 d. | 44 d. | | | | | | | | | | | |
| Testemunha | 50 | 10 | 0,138 | 0,119 | - | 1,54 | 1,02 | 13,26 | 2,88 | 392,00 | - | - | - |
| CIAT-45 | 44 | 11 | 0,106 | 0,160 | 58 | 1,05 | 1,03 | 13,24 | 2,75 | 359,99 | - | - | - |
| CIAT-57 | 58 | 18 | 0,184 | 0,228 | 72 | 2,16 | 1,13 | 12,76 | 2,77 | 356,33 | - | - | - |
| CIAT-255 | 44 | 18 | 0,099 | 0,280 | 70 | 3,56 | 1,32 | 9,08 | 2,70 | 242,60 | - | - | - |
| CIAT-632 | 70 | 15 | 0,231 | 0,171 | 85 | 4,48 | 1,04 | 15,53 | 2,67 | 416,64 | 0,49 | - | - |
| CIAT-640 | 57 | 14 | 0,147 | 0,125 | 72 | 3,13 | 1,10 | 12,59 | 2,67 | 332,76 | - | - | - |
| CIAT-676 | 41 | 18 | 0,130 | 0,191 | 90 | 2,37 | 1,21 | 16,68 | 2,92 | 447,64 | 1,11 | - | - |
| CIAT-893 | 44 | 13 | 0,094 | 0,138 | 53 | 1,21 | 1,49 | 15,74 | 2,58 | 401,90 | - | - | - |
| CIAT-903 | 31 | 17 | 0,132 | 0,198 | 78 | 4,40 | 1,28 | 19,48 | 2,72 | 535,04 | 2,86 | - | - |
| CIAT-904 | 42 | 14 | 0,125 | 0,124 | 35 | 1,12 | 1,15 | 13,85 | 2,68 | 360,24 | - | - | - |
| CIAT-905 | 41 | 11 | 0,138 | 0,128 | 52 | 1,47 | 1,16 | 10,76 | 2,68 | 294,57 | - | - | - |
| N (100 kg/ha de N) | 28 | 8 | 0,010 | 0,072 | - | 0,91 | 4,86 | 36,98 | 3,19 | 1.175,50 | - | - | - |
| F | 4,57*** | - | 3,99*** | - | - | 31,77** | 4,85** | 6,52** | 2,42* | 471,87 | 6,52** | - | - |
| D.M.S. (Tukey 5%) | 27 | 15 | 0,131 | 0,104 | - | 0,95 | 0,95 | 16,24 | 0,52 | 471,87 | 0,95 | - | - |
| C.V. | 29% | 52% | 50% | 64% | - | 31% | 31% | 51% | 9% | 52% | 31% | - | - |

+ - % infecção da estirpe inoculada determinada por aglutinação.

* - determinação pelo método da redução de C₂H₂ (μ moles C₂H₄/pl/h) e probabilidade < 0,05.

** - calculado em relação à testemunha.

*** - probabilidade < 0,01.

e reforçam a idéia de contribuição da fixação de N_2 nos resultados. Com exceção das estirpes CIAT-255 e CIAT-904, que inexplicavelmente não apresentaram correspondência da nodulação com o rendimento, houve aparentemente uma dependência de aumento da nodulação para observação de algum benefício da fixação simbiótica de N_2 . As estirpes do solo estavam presentes em baixo número (50 bactérias/g solo), como pode ser comprovado pelo baixo número e peso dos nódulos. Apesar disso, as estirpes CIAT-676, CIAT-904 e CIAT-45 ainda sofreram maior competição e apresentaram menor percentagem de infecção (1%) em relação às demais, sendo os valores, respectivamente, de 50%, 60% e 60%.

No segundo experimento TRE-2 (Tabela 5), as respostas de produção foram somente significativas para a adição de N (100 kg/ha de N de uréia). A presença de alto número de *Rhizobium phaseoli* nativo ($8,5 \times 10^3$ bactérias/g solo) pode ser comprovada pelo número e peso de nódulos na testemunha sem N. A grande diferença entre o tratamento com N e os demais, demonstra claramente deficiência de N no solo, não solucionada com a inoculação de *Rhizobium phaseoli*. Mesmo assim, foram obtidos aumentos de 47% e 36%, respectivamente, para peso e N total das sementes inoculando-se com a estirpe CIAT-903. Esta estirpe, apesar de não ter se destacado na sua capacidade de nodulação (número e peso de nódulos) nas duas épocas amostradas, apresentou-se ativa ($4,40 \mu$ moles $C_2H_4/pl.h$) e com boa taxa de infecção (78%). A estirpe CIAT-676 apresentou boa capacidade competitiva, com 90% de infecção, porém sua eficiência foi baixa. Neste solo, a maior capacidade de nodulação não pareceu ser a única condição necessária para obtenção de algum efeito da inoculação, mas também a eficiência em fixar N_2 . Por exemplo, as estirpes CIAT-57 e CIAT-255 produziram nódulos em quantidades superiores à da testemunha, e as altas percentagem de infecção de 72% e 70% comprovam a presença nos nódulos da bactéria inoculada; a sua eficiência, porém, foi baixa.

Analisando os resultados do trabalho, observa-se a necessidade de seleção em solo de estirpes de *Rhizobium* eficientes em vasos Leonard. Na situação atual, elas não preencheram todos os

requisitos para uma fixação eficiente. No caso, a estirpe CIAT-903 seria a mais indicada, apresentando ainda algumas restrições quanto à eficiência em fixar N_2 . Apesar disso, pelas estimativas da quantidade de N fixado nas sementes inoculadas, determinadas por diferença com o tratamento testemunha, pode-se determinar ganhos de 24,2 e 27,8 kg/ha de N no solo TRE-1, quando se usaram, respectivamente, as estirpes CIAT-903 e CIAT-640. No TRE-2, a estirpe CIAT-903 contribuiu com somente 2,86 kg/ha de N. A substituição total do adubo nitrogenado pela inoculação não pode ser recomendada ainda, face aos resultados pouco promissores obtidos até o presente momento com o feijoeiro em condições de campo (Saito et al. 1979, Ruschel et al. 1979). A presença de N do solo não pareceu influenciar negativamente o desenvolvimento da nodulação, sugerindo, inclusive, a necessidade de pequenas doses de N mineral como arranque.

As variações dos resultados de inoculação nos dois solos mostram a necessidade de conhecer melhor a simbiose do feijoeiro no campo e determinar, com urgência, quais os fatores que podem atuar para maximizar a expressão do *Rhizobium phaseoli* na planta.

REFERÊNCIAS

- DATE, R.A. & VINCENT, J.M. Determination of the number of root-nodule bacteria in the presence of other organisms. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 2:5-7, 1962.
- FRED, E.B.; BALDWIN, J.L. & MCCOY, E. Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison, Wisc. University Press, 1932. 343p. (Wisc. Univ. Studies, 5).
- KOLLING, J. & FREIRE, J.R.J. Fatores importantes para a eficiente fixação simbiótica de nitrogênio na cultura da soja. *IPAGRO inf.*, 21:24-7, 1978.
- MCKNIGHT, T. Efficiency of isolates of *Rhizobium* in the cowpea group with proposed additions to this group. *Queensland J. Agric. Sci.*, 6:61-76, 1949.
- PONS, A.L. & GOEPFERT, C.F. Efeito da adubação nitrogenada em feijoeiro. I. Solo Camaquã. *Agron. sulriogr.*, 11:259-66, 1975.
- PONS, A.L.; GOEPFERT, C.F. & OLIVEIRA, F.C. Efeito da adubação nitrogenada em feijoeiro. II. Solo Vila. *Agron. sulriogr.*, 12:201-6, 1976.
- RUSCHEL, A.P.; SAITO, S.M.T. & TULMANN NETTO, A. Eficiência da inoculação de *Rhizobium* em P.

- vulgaris* L. a. Efeito de fontes de N e variedades de plantas. R. Bras. Ci. Solo, 3:13-7, 1979.
- SAITO, S.M.T.; MATSUI, E. & SALATI, E. $^{15}\text{N}_2$ fixation, H_2 evolution and C_2H_2 reduction relationships in *P. vulgaris* L. Physiology Plantarum, 49:27-42, 1980.
- SAITO, S.M.T.; OLIVEIRA, J.A.; FREITAS, J.R. & CASTILHO, I.T. Inoculação de *Rhizobium phaseoli* no campo. I. Estudos de competição e sobrevivência. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 17, Manaus, AM, 8 a 13 de julho de 1979.
- SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Capacidade competitiva e de sobrevivência no solo de uma estirpe de *Rhizobium phaseoli* usada como inoculante. Ci. Cult., 32(7):888-92, 1980.
- SAITO, S.M.T. & RUSCHEL, A.P. Influência da calagem, adubação fosfatada e micronutrientes na nodulação natural do feijão (*P. vulgaris* L.). An. Esc. Sup. Agric. Luiz de Queiroz, (35):545-56, 1978.
- VINCENT, J.M. Manual for the practical study of root nodule bacteria. London, Blackwell Scs. Publ., 1970. 163p. (IBP Handbook, 15).