

SIMBIOSE ENTRE FEIJÃO E ESTIRPES DE *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *PHASEOLI*, SENSÍVEIS E RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS E FUNGICIDAS¹

JOÃO CARLOS PEREIRA², CAIO VIDOR³, PAULO EMILIO LOVATO⁴, ALBERTO DE FIGUEIREDO PENTEADO⁵

RESUMO - Estudaram-se as interações entre as cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Bat-76, ICA-Pijao, Porrillo Sintético e Turrialba-4, e estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, em dois experimentos conduzidos em casa de vegetação. Observou-se que a cultivar Bat-76 apresentou baixo potencial para fixar o N₂ no experimento conduzido em areia e solução nutritiva, enquanto a cultivar Porrillo Sintético apresentou nodulação inferior no experimento de solo (Passo Fundo - LVEd), sem resultar em diferenças significativas em matéria seca e N total da parte aérea. Houve grande variabilidade na eficiência simbiótica entre as estirpes em relação às cultivares de feijão nos dois experimentos. A resistência aos antibióticos esteve associada à maior capacidade infectiva por sítios de nódulos, sem influenciar o potencial de fixação do N₂. Plantas inoculadas com estirpes do sorogrupo SEMIA 4002 apresentaram maior peso de matéria seca e N total quando comparadas ao sorogrupo SEMIA 487 no experimento em areia. Quando crescidas em solo, as plantas inoculadas com o sorogrupo SEMIA 4002 apresentaram menor peso de nódulos, sugerindo que fatores de solo afetaram negativamente a formação e crescimento dos nódulos induzidos por estirpes desse sorogrupo.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, cultivares, especificidade hospedeira, eficiência, competitividade.

SYMBIOSIS AMONG FIELD BEANS AND *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *PHASEOLI* STRAINS SENSITIVE AND RESISTANT TO ANTIBIOTICS AND FUNGICIDES

ABSTRACT - Two experiments were conducted in greenhouse to evaluate the response of the interaction between the bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) Bat-76, ICA-Pijao, Porrillo Sintético, and Turrialba-4 to inoculation with *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* strains. Cultivar Bat-76 exhibited a low N₂-fixing ability in a sand-solution experiment expressed as dry shoot weight and total N, whereas Porrillo Sintético showed the low-est dry nodule weight in the soil experiment (Passo Fundo - Oxisol) but with no differences in shoot weight and total N as compared to the other cultivars. The symbiotic ability was variable among the strains. Resistance to antibiotics increased infectivity of strains as measured by nodule number but it did not increase the potential for N₂ fixation. Moreover, plants inoculated with strains from serogroup SEMIA 4002 accumulated higher dry shoot weight and total N as compared to serogroup SEMIA 487 in the sand experiment. When grown in soil there was a lower nodule weight from plants inoculated with serogroup SEMIA 4002, suggesting that detrimental soil factors affected nodule initiation and development caused by strains from this serogroup.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, cultivars, host specificity, effectiveness, competitiveness.

¹ Aceito para publicação em 14 de fevereiro de 1991

Extraído da Dissertação de Mestrado em Agron. (Área de Solos) - Fac. de Agron. - UFRGS, do primeiro autor. Pesquisa financiada pelo CNPq e FINEP.

² Eng.-Agr., EMBRAPA/Centro nacional de Pesquisa em Biologia do Solo, Km 47, CEP 23851 Seropédica, RJ.

³ Eng.-Agr., Prof.-Adj., Dep. de Solos, UFRGS, Bolsista do CNPq. Caixa Postal 776, CEP 90001, Porto Alegre, RS.

⁴ Eng.-Agr., Prof.-Assist., Centro de Ciências Agrárias/UFSC. Estrada do Itacorubi s/n, CEP 80000 Florianópolis, SC.

⁵ Eng.-Agr. *In memoriam*.

INTRODUÇÃO

A inoculação do feijoeiro com estirpes eficientes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* pode apresentar considerável importância no suprimento de nitrogênio através da fixação simbiótica.

Entretanto, a grande variabilidade observada na habilidade das estirpes em infectar, nodular e fixar o nitrogênio atmosférico (Voss et al. 1984, Pereira et al. 1986) associada à influência exercida pela planta através de ca-

racterísticas intrínsecas (Broughton 1978, Volkova & Chernova 1989), pode levar estirpes eficientes na fixação do N_2 a algumas espécies ou cultivares da leguminosa hospedeira a apresentarem baixa eficiência fixadora quando associadas a outras (Franco & Döbereiner 1967, Duque et al. 1985, Hungria & Neves 1986).

Assim, o caráter variável destas características pode ser consequência de diversas interações entre as cultivares e as estirpes, o que reforça a necessidade de seleção de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* eficientes em um grande número de cultivares de feijão (baixa especificidade hospedeira). Este trabalho apresenta observações neste sentido, objetivando a maximização da eficiência da fixação do N_2 .

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos com as cultivares de feijão Bat-76, ICA-Pijao, Porrillo Sintético e Turrialba-4 para avaliar a eficiência simbiótica das estirpes SEMIA 476 (CC511 = CIA 57 = SMS 376), SEMIA 476-16 (mutante da estirpe SEMIA 476 crescendo em meio com 500 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina), SEMIA 484 (IPAGRO, isolamento número 12/68), SEMIA 484-6 (crescendo em meio com 5.000 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina), SEMIA 487 (IPAGRO, isolamento 29/71), SEMIA 487-1 (500 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina), SEMIA 487-2 (5.000 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina), SEMIA 487-NOV (50 $\mu\text{g/ml}$ de novobiocina), SEMIA 491 (NITRAGIN, 127 K 17), SEMIA 491-3 (1000 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina), SEMIA 4002 (CIAT 255), SEMIA 4002-S₁ (1000 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina) e SEMIA 486-ST + TH (500 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina e 50 $\mu\text{g/ml}$ de thiram).

As estirpes mutantes foram obtidas seguindo-se metodologia descrita por Pereira et al. (1986).

Experimento I

Em condições controladas, foram utilizados vasos "Leonard" contendo areia e carvão vegetal na proporção de 4:1, para eliminar possível toxicidade de manganês relacionada com a areia (Peres & Vidor, 1980). Os vasos foram esterilizados em autoclave a 121°C e 1,5 atm, por duas horas.

Foram semeadas seis sementes por vaso, previamente desinfestadas em álcool 96° GL por cinco minutos, HgCl_2 0,1% por dois minutos, e sete lavagens consecutivas com água destilada esterilizada. Nove dias depois, foi feito o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso.

As estirpes foram repicadas em tubos contendo o meio água de levedura-monitol-ágar descrito por Vincent (1970) e incubadas a 28°C. Após quatro dias, foram suspensas individualmente em solução de sais deste meio, diluída a 25%, sendo então equalizadas por turbidimetria em relação à menos turva (colorímetro fotoelétrico Dadeko). O número de células de cada suspensão foi determinado pelo método de diluição em placas, obtendo-se uma concentração em torno de 10^8 células/ml. Cada suspensão foi adicionada individualmente aos vasos à razão de 1 ml por planta.

Utilizando-se a solução nutritiva descrita por Specht et al. (1956), em intervalos alternados, com água destilada esterilizada durante o ciclo da planta, para propiciar um melhor desenvolvimento inicial das plantas, adicionaram-se 35 mg de nitrogênio por vaso (5 ml de uma solução NH_4NO_3 a 2%). Os diferentes tratamentos foram dispostos segundo o delineamento experimental em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, onde as cultivares ocuparam as parcelas principais e as estirpes as subparcelas.

Colheram-se as plantas no florescimento (47 dias após a semeadura) para avaliação do número e peso de nódulos secos, do rendimento de matéria seca (secagem em estufa a 65°C até peso constante) e do nitrogênio total da parte aérea, determinado pelo método descrito por Tedesco (1978).

Experimento II

Foram utilizados vasos plásticos contendo 2 kg de solo da unidade de mapeamento Passo Fundo (Latossolo Vermelho-Escuro distrófico), coletado sob pastagem nativa (*Paspalum notatum*) e com as seguintes características químicas: pH em água (1:1) = 4,7; pH SMP = 5,1; Al^{+3} = 0,4 me/100 g solo; Ca = 2,7 me/100 g; Mg = 2,4 ml/100 g; 3,2 ppm de P; 38 ppm de K e 3,8% de matéria orgânica.

Duas semanas antes da semeadura, fez-se a correção da acidez do solo com uma mistura de CaCO_3 ; MgCO_3 na proporção de 2:1, correspondendo a 3,3 t/ha. O solo foi incubado em sacos de polietileno à temperatura ambiente com umidade próxima à capacidade de campo (18% de umidade). No dia da semeadura, foram adicionados ao solo 200 ppm de P e

100 ppm de K, na forma de uma solução contendo KH_2PO_4 e $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Adicionou-se um grama de inoculante por vaso, preparado através da adição de 6 ml da suspensão contendo rizóbio em 20 g de turfa seca esterilizada.

O delineamento experimental utilizado foi o mesmo do experimento anterior, com modificações no número de subparcelas, onde foi eliminada a estirpe SEMIA 486-ST + TH por apresentar-se contaminada, e incluída uma testemunha total e outra com nitrogênio mineral. Nesta, a partir do 21º dia do ciclo vegetativo, foram feitas quatro adições de 70 mg N por vaso, na forma de NH_4NO_3 , em intervalos de três dias, seguindo-se de seis adições em dias alternados.

Colheram-se as plantas 45 dias após a semeadura para as mesmas avaliações do experimento anterior, excetuando-se o número de nódulos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento com areia e solução nutritiva, os dados referentes aos valores médios do número e peso de nódulos secos, rendimento de matéria seca e N total da parte aérea das cultivares de feijão IAC-Pijao, Porrillo Sintético, Turrialba-4 e Bat-76 foram utilizados como parâmetros indicadores do potencial das cultivares e da eficiência das estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* em fixar o N_2 .

Com o potencial das cultivares avaliado através da nodulação (Tabela 1), verifica-se que as diferenças entre os valores médios dos pesos de nódulos secos apresentados não foram significativas, e que a cultivar Bat-76 apresentou maior número de nódulos. Em relação aos parâmetros da parte aérea, observa-se que esta cultivar apresentou baixos rendimentos de matéria seca e N total, evidenciando a sua baixa capacidade em fixar o N_2 .

A variabilidade na capacidade em fixar o N_2 pode estar relacionada com diferenças entre cultivares quanto ao número de sítios de infecção por unidade de raiz (Freire & Vidor 1970) e/ou diferenças existentes entre cultivares, em relação ao surgimento dos primeiros nódulos nas raízes das plântulas (Nutman 1967), determinando diferenças no período de fixação do N_2 até o momento da colheita.

A eficiência simbiótica das estirpes sensíveis e resistentes a diversos antibióticos também foi variável (Tabela 2). Verifica-se que SEMIA 476, SEMIA 484, SEMIA 4002 e SEMIA 4002-S₁ foram as estirpes que induziram maiores rendimentos de matéria seca e N total da parte aérea. Por outro lado, as estirpes SEMIA 491 e SEMIA 491-3, mesmo com alta nodulação, apresentaram baixa eficiência fixadora, tendo em vista os baixos valores médios obtidos nos parâmetros da parte aérea. Variações na eficiência fixadora destas estirpes foram observadas anteriormente (Pereira et al. 1986) e podem estar relacionadas com a nodulação precoce e a senescência tardia dos nódulos (Voss 1981 e Boddey et al. 1990), determinando diferenças no período de fixação do N_2 .

As correlações significativas do N total com o rendimento de matéria seca ($r = 0,926$), e não-significativas, do número de nódulos ($r = 0,013$ e $r = 0,104$) e do peso de nódulos secos ($r = 0,053$ e $r = 0,274$) com o N total e matéria seca da parte aérea, respectivamente, confirmam resultados anteriores (Vidor et al. 1979, Hungria & Neves 1986, Pereira et al. 1986). Essas informações evidenciam que o número e peso de nódulos podem resultar em parâmetros inadequados para a expressão da eficiência fixadora quando se comparam dife-

TABELA 1. Comportamento de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* em relação à eficiência simbiótica, com quatro cultivares de feijão cultivadas em areia e solução nutritiva. Médias de treze estirpes e três repetições.

Cultivares	Nodulação		Parte aérea	
	Número	Peso (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
ICA-Pijao	311 b	588 a	5,4 a	153 a
Porrillo Sintético	336 b	522 a	5,2 ab	148 a
Turrialba-4	354 b	470 a	4,4 bc	143 a
Bat-76	477 a	543 a	4,0 c	110 b

rentes cultivares ou espécies dentro de um mesmo grupo de inoculação.

Na avaliação das estirpes pertencentes aos grupos sensíveis e resistentes (Tabela 3), verifica-se que houve um aumento do número de nódulos das plantas inoculadas com as estirpes resistentes, sem resultar em maiores pesos de nódulos e do rendimento de matéria seca e N total da parte aérea. Estes dados evidenciam que a aquisição do caráter mutagênico aumentou a capacidade infectiva por sítios de nódulos formados, sem influenciar o potencial de fixação do N_2 . Alterações nestas características têm sido encontradas, sem haver no entanto, relações com resistência a determinados antibióticos (Schwinghamer 1964, Levin & Montgomery 1974).

Estas alterações podem ser resultantes da atuação do antibiótico na célula bacteriana, in-

terferindo na estrutura ou função da parede ou membrana celular, ou inibindo um processo metabólico interno. Como exemplo ter-se-ia a inibição específica da síntese proteica que é feita de maneira anormal, provocando alterações secundárias com lesões irreversíveis à célula bacteriana quando essas proteínas são incorporadas na membrana celular (Tavares 1982).

Para avaliar a eficiência simbiótica das estirpes pertencentes a sorogrupos distintos, as estirpes foram agrupadas nos sorogrupos das estirpes SEMIA 487 e SEMIA 4002, já que as estirpes SEMIA 486 e SEMIA 491 apresentaram reações cruzadas com a SEMIA 487 e as estirpes SEMIA 476 e SEMIA 484 com a SEMIA 4002.

Assim, verifica-se que as plantas inoculadas com as estirpes desses dois sorogrupos não

TABELA 2. Comportamento de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, sensíveis e resistentes a diversos antibióticos em relação à eficiência simbiótica, com feijão cultivado em areia e solução nutritiva. Médias de quatro cultivares e três repetições.

Estirpes (SEMIA)	Nodulação		Parte aérea	
	Número	Peso (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
476	385 bcd	554 ab	5,8 a	168 ab
476-16	348 bcd	584 a	5,1 ab	147 abcd
484	430 a	527 abc	5,8 a	177 a
484-6	311 de	444 bc	4,8 ab	153 abc
487	309 de	515 abc	4,2 bcd	117 d
487-1	376 bcd	506 abc	4,3 bc	136 bcd
487-2	255 e	418 c	4,3 bc	133 cd
487-NOV	340 cde	555 ab	4,8 ab	132 cd
491	472 a	618 a	3,3 cd	83 e
491-3	404 abc	529 abc	3,2 d	75 e
4002	346 bcd	560 ab	5,5 a	159 abc
4002-S ₁	332 cde	592 a	5,8 a	168 ab
486-ST + TH	470 a	568 a	4,8 ab	132 cd

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada parâmetro (número, peso de nódulos, matéria seca e N total) não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

TABELA 3. Comportamento das estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* pertencentes a grupos sensíveis e resistentes a antibióticos e aos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002, em relação à eficiência simbiótica, com feijão cultivado em areia e solução nutritiva. Médias de estirpes, cinco (sensíveis); oito (resistentes); sete (sorogrupo SEMIA 487); seis (sorogrupo SEMIA 4002); com quatro cultivares e três repetições.

Estirpes	Nodulação		Parte aérea	
	Número	Peso (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
Sensíveis	338 b	555 a	4,9 a	141 a
Resistentes	354 a	524 a	4,6 a	134 a
Sorogrupo SEMIA 487	375 a	530 a	4,1 b	115 b
Sorogrupo SEMIA 4002	359 a	544 a	5,4 a	162 a

Sorogrupos: SEMIA 487 = SEMIA 486 = SEMIA 491
SEMIA 4002 = SEMIA 476 = SEMIA 484

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada parâmetro nos grupos sensíveis e resistentes e nos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002, não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

apresentaram diferenças significativas nos valores médios dos parâmetros número e peso de nódulos secos. Entretanto, os valores de 5,4 e 4,1 g/vaso e 162 e 115 mg/vaso para o rendimento de matéria seca e N total da parte aérea, respectivamente, evidenciam a maior eficiência simbiótica das estirpes pertencentes ao sorogrupo SEMIA 4002 (Tabela 3).

Através da análise de variância e com base nos valores obtidos de F significativos (dados não apresentados), verificou-se que para o parâmetro número de nódulos houve interação das cultivares com os grupos de estirpes sensíveis e resistentes a antibióticos e com sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002. Assim, os números de nódulos formados pelas estirpes pertencentes a estes quatro grupos foram influenciados pelas cultivares Turrialba-4 e Bat-76, sendo que as sensíveis também tiveram influência da Porrillo Sintético e as resistentes da ICA-Pijao.

Esta variabilidade pode estar relacionada com a influência no estágio de pré-infecção da população de rizóbio na rizosfera por excreções radiculares, cuja composição variável em aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares (Rovira 1969, Vicent 1977, Broughton 1978) pode influir seletivamente nesta população, através da capacidade de metabolização destes compostos pelas estirpes.

A análise dos valores médios do N total da parte aérea como resposta ao comportamento das estirpes pertencentes aos quatro grupos em cada cultivar é apresentada na Tabela 4. A variabilidade de comportamento apresentada pelas estirpes em cada cultivar confirma observações anteriores (Franco & Döbereiner 1967). Além disso, as diferenças não-significativas resultantes da inoculação das estirpes resistentes na cultivar Turrialba-4 e das estirpes do sorogrupo SEMIA 4002 nas quatro cultivares, evidenciam que a especificidade hospedeira na simbiose de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* com cultivares de feijão está sendo determinada por fatores envolvendo os dois simbioses.

A especificidade apresentada pode estar relacionada com o processo de infecção da le-

guminosa (Rovira 1969, e Bohlool & Schmidt 1974), uma vez que no estágio da pré-infecção a população de rizóbio na rizosfera é influenciada por excreções radiculares (Vincent 1977 e Broughton 1978) e pela capacidade das estirpes em metabolizar estes compostos.

A avaliação do potencial das cultivares em fixar o N₂, quando inoculadas com estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* no solo Passo Fundo, foi feita através dos parâmetros peso de nódulos secos e rendimento de matéria seca e N total da parte aérea.

Através da análise da nodulação (Tabela 5), verifica-se que a cultivar Porrillo Sintético apresentou o menor valor médio do peso de nódulos secos, entretanto, sem resultar em diferenças significativas no rendimento de matéria seca e N total da parte aérea. A falta de resposta das cultivares, quando se utilizaram os parâmetros avaliadores da parte aérea, pode estar relacionado com fatores do solo, provavelmente devido ao teor de 3,8% de matéria orgânica presente, já que se têm verificado efeitos prejudiciais de concentrações moderadas ou altas de nitrogênio inorgânico sobre a formação dos nódulos e intensidade de fixação do N₂ (Lie 1974).

A eficiência simbiótica das estirpes quando inoculadas no solo Passo Fundo foi variável (Tabela 6). A inoculação das estirpes aumentou o peso de nódulos secos, com incrementos do rendimento de matéria seca somente das plantas inoculadas com as estirpes SEMIA 476, SEMIA 487-1, SEMIA 487-2 e SEMIA 4002, sem resultar aumento do N total da parte aérea. Verifica-se também que as plantas inoculadas com as estirpes SEMIA 491 e SEMIA 491-3 apresentaram os maiores valores de peso de nódulos secos e os menores rendimentos de matéria seca e N total da parte aérea. Isto confirma resultados preliminares obtidos em areia e solução nutritiva, através dos quais ficou evidenciada a baixa eficiência fixadora de N₂ destas estirpes. Deve-se também destacar, que nenhuma estirpe apresentou eficiência simbiótica que substituisse 700 mg de N por vaso (aplicado na forma de NH₄NO₃), tanto em termos de rendimento de matéria seca quanto

do teor de N total da parte aérea. Observa-se ainda que a aplicação parcelada deste elemento nesta concentração reduziu a formação de nódulos induzidos pela população estabelecida. O efeito negativo da adubação nitroge-

nada sobre a nodulação também foi observado por Döbereiner & Arruda (1967) e por Barni et al. (1977), o qual poderia estar relacionado com a baixa relação carboidrato-nitrogênio do tecido (Lie 1974).

TABELA 4. Nitrogênio total da parte aérea em resposta à inoculação com estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* dos grupos sensíveis e resistentes a antibióticos e pertencentes aos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002, em quatro cultivares de feijão em areia e solução nutritiva. Médias de três repetições.

Estirpes (SEMIA)	Cultivares				Médias Estirpes
	ICA-Pijao	Porrillo Sintético	Turrialba-4	Bat-76	
-----mg/vaso-----					
Sensíveis					
476	192 a	164 ab	184 a	131 a	168
484	207 a	186 a	170 a	146 a	177
487	76 b	104 c	156 a	132 a	117
491	99 b	113 bc	75 b	47 b	84
4002	180 a	131 abc	182 a	144 a	159
Resistentes					
476-16	163 abc	182 ab	124 a	118 abc	147
484-6	208 a	167 ab	151 a	86 bc	153
487-1	119 cd	140 b	162 a	125 ab	137
487-2	168 abc	133 bc	125 a	105 abc	133
487-NOV	159 abc	182 ab	118 a	68 bc	132
491-3	69 d	76 c	94 a	61 c	75
4002-S ₁	148 bc	198 a	168 a	160 a	169
486-ST + TH	185 ab	140 b	122 a	80 bc	132
Sorogrupo 487					
487	86 c	104 bc	156 ab	132 a	117
487-1	119 bc	140 ab	162 a	125 a	137
487-2	168 ab	133 abc	125 ab	105 ab	133
487-NOV	159 ab	182 a	119 ab	68 b	132
491	99 c	113 bc	75 b	47 b	84
491-3	68 c	76 c	94 b	61 b	75
486-ST + TH	185 a	14 ab	122 ab	80 ab	132
Sorogrupo 4002					
476	192 a	164 a	184 a	131 a	168
476-16	164 a	182 a	124 a	118 a	147
484	207 a	186 a	170 a	146 a	177
484-6	208 a	167 a	151 a	86 a	153
4002	180 a	131 a	182 a	144 a	159
4002-S ₁	148 a	198 a	168 a	160 a	169

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada cultivar nos grupos sensíveis e resistentes e nos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002 não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

TABELA 5. Comportamento de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* em relação à eficiência simbiótica, com quatro cultivares de feijão cultivadas em solo Passo Fundo (Latossolo Vermelho-Escuro distrófico). Médias de doze estirpes e três repetições.

Cultivares	Nodulação		Parte aérea
	Nódulos secos (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
ICA-Pijao	459 a	8,5 a	235 a
Porrillo Sintético	386 b	8,7 a	238 a
Turrialba-4	467 a	8,6 a	249 a
Bat-76	489 a	8,9 a	239 a

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada parâmetro não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

TABELA 6. Resposta do feijão à inoculação com estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, sensíveis e resistentes a diversos antibióticos, em solo Passo Fundo (Latossolo Vermelho-Escuro distrófico). Médias de quatro cultivares e três repetições.

Estirpes (SEMIA)	Nodulação		Parte aérea
	Nódulos secos (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
476	459 cde	9,3 bc	260 b
476-16	445 cde	8,7 cd	249 bc
484	316 f	8,6 cd	233 bcd
484-6	321 f	8,7 cd	252 b
487	510 bc	8,4 de	232 bcd
487-1	465 cd	9,5 b	245 bcd
487-2	330 f	9,3 bc	261 b
487-NOV	548 b	8,3 de	213 d
491	620 a	7,8 ef	240 bcd
491-3	568 ab	7,5 f	215 cd
4002	410 de	9,2 bc	249 bc
4002-S ₁	416 de	8,9 bcd	236 bcd
TEST + N	161 g	10,3 a	377 a
TEST - N	386 ef	8,3 de	239 bcd

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada parâmetro não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

TABELA 7. Comportamento de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* pertencentes aos grupos sensíveis e resistentes a antibióticos e aos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002, em relação à eficiência simbiótica, com feijão cultivado em solo Passo Fundo (Latossolo Vermelho-Escuro distrófico). Médias de estirpes, cinco (sensíveis); sete (resistentes); seis (sorogrupo SEMIA 487); seis (sorogrupo 4002); com quatro cultivares e três repetições.

Estirpes	Nodulação		Parte aérea
	Nódulos secos (mg/vaso)	Matéria seca (g/vaso)	N Total (mg/vaso)
Sensíveis	463 a	8,7 a	243 a
Resistentes	442 a	8,7 a	239 a
Sorogrupo SEMIA 487	507 a	8,5 a	234 a
Sorogrupo SEMIA 4002	394 b	8,9 a	246 a

Sorogrupos: SEMIA 487 = SEMIA 491
SEMIA 4002 = SEMIA 476 = SEMIA 484

Médias seguidas da mesma letra dentro de cada parâmetro nos grupos sensíveis e resistentes e nos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002 não diferem significativamente pelo teste de Duncan (5%).

Na avaliação da eficiência das estirpes pertencentes aos grupos sensíveis e resistentes a antibióticos e aos sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002 (Tabela 7), verifica-se que para as plantas inoculadas com as estirpes pertencentes aos grupos sensíveis e resistentes os valores médios dos parâmetros utilizados não apresentaram diferenças significativas. Entretanto, quando as estirpes foram agrupadas em sorogrupos distintos, observa-se através dos valores médios do peso de nódulos secos, que as plantas inoculadas com as estirpes do sorogrupo SEMIA 4002 apresentaram menor nodulação, sem refletir em diferenças significativas nas médias dos parâmetros da parte aérea quando relacionadas com o sorogrupo SEMIA 487. Além disto, observou-se através da análise

se de variância e nos valores de F obtidos, que para os parâmetros utilizados não houve interação das cultivares com os grupos de estirpes sensíveis e resistentes e com os sorogrupos SEMIA 487 e SEMIA 4002 (dados não apresentados).

Diferenças na eficiência da simbiose têm sido observadas (Peres & Vidor 1980, Roughley et al. 1980, Pereira et al. 1986, Pereira & Döbereiner 1986, Pereira et al. 1988), sendo que neste caso estas podem estar relacionadas com as diferenças existentes na capacidade competitiva por sítios de nódulos formados entre as estirpes inoculadas e as estabelecidas no solo Passo Fundo.

CONCLUSÕES

1. As estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, sensíveis e resistentes a antibióticos e fungicidas, apresentaram variações na eficiência fixadora de nitrogênio.

2. As cultivares de feijão apresentaram comportamento diferenciado em relação à simbiose quando foram inoculadas com estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, demonstrando maior competitividade de uma determinada cultivar com algumas estirpes.

REFERÊNCIAS

- BARNI, N.; KOLLING, J.; MINOR, H. Bacteriophages of *Rhizobium trifolii*. Morphology and host range. **Journal of General Virology**, New York, v.15, p.1-5, 1977.
- BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; NEVES, M.C.P.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.. Quantification of the contribution of N₂ fixation to field-grown legumes: a strategy for the practical application of the ¹⁵N isotope dilution technique. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.22, n.5, p.649-655, 1990.
- BOHLOOL, B.B.; SCHMIDT, E.L. Lectins: a possible basis for specific in the *Rhizobium*-legume root nodule symbiosis. **Science**, New York, v.185, p.269-271, 1974.
- BROUGHTON, W.J. Control of specificity in legume-*Rhizobium* associations. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v.45, p.165-194, 1978.
- DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Inter-relações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.2, p.475-487, 1967.
- DUQUE, F.F.; NEVES, M.C.P.; FRANCO, A.A.; VICTORIA, R.L.; BODDEY, R.M. The response of field-grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N₂ fixation using ¹⁵N. **Plant and Soil**, The Hague, v.28, p.333-343, 1985.
- FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium*-feijão e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.2, p.467-474, 1967.
- FREIRE, J.R.J.; VIDOR, C. A inoculação da soja com *Rhizobium*. [S.l.: s.n., 19--]. Trabalho apresentado no I Simpósio Brasileiro da Soja, Campinas, São Paulo, 1970.
- HUNGRIA, M.; NEVES, M.C.P. Interações entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixação e transporte do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.2, p.127-140, 1986.
- LEVIN, R.A.; MONTGOMERY, M.P. Symbiotic effectiveness of antibiotic-resistant mutants of *Rhizobium japonicum*. **Plant and Soil**, The Hague, v.41, p.669-675, 1974.
- LIE, T.A. Development of root-nodule symbiosis. 6. Environmental effects of nodulation and symbiotic nitrogen fixation. In: QUISPÉL, A. (Ed.). **The biology of nitrogen fixation**. Amsterdam: North-Holland, 1974. p.555-581.
- NUTMAN, P.S. Varietal differences in the nodulation of subterranean clover. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v.18, p.381-425, 1967.
- PEREIRA, J.A.R.; CAVALCANTE, V.A.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, The Hague, v.110, p.269-274, 1988.
- PEREIRA, J.C.; DÖBEREINER, J. Obtenção do potencial simbiótico de estirpes de *Rhizobium*

- phaseoli* resistentes a antibióticos produzidos por isolados de actinomicetos. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.58, n.3, p.507, 1986.
- PEREIRA, J.C.; LOVATO, P.E.; VIDOR, C. Resistência a antibióticos e fungicidas associadas com a capacidade simbiótica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.4, p.383-392, 1986.
- PERES, J.R.R.; VIDOR, C. Relação entre concentração de células no inoculante e competição por sítios de infecção nodular entre as estirpes de *Rhizobium japonicum* em soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, p.139-143, 1980.
- ROUGHLEY, R.J.; BROMFIELD, E.S.P.; PULVER, E.L.; DAY, J.M. Competition between species of *Rhizobium* for nodulation of *Glycine max*. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.12, p.467-470, 1980.
- ROVIRA, A.D. Plant root exudates. **Botanical Review**, New York, v.35, p.35-37, 1969.
- SCHWINGHAMER, E.A. Association between antibiotic resistance and ineffectiveness in mutant strains of *Rhizobium* spp. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.10, n.2, p.221-223, 1964.
- SPECHT, A.W.; ERDMAN, L.W.; MEANS, V.M.; RESNICKY, J.W. Effect of nutrition on *Trifolium hirtum* inoculated with *Rhizobium trifolii*. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.29, p.489-495, 1956.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos para estudantes de medicina**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1982. 374p.
- TEDESCO, M.J. **Métodos de análise de nitrogênio em solos e tecido vegetal**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1978. 20p. (Informativo Interno, 01/78).
- VICENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970. 164p.
- VICENT, J.M. *Rhizobium*, general microbiology. In: HARDY, R.W.F. SILVER, W.S. (Ed.). **A Treatise on dinitrogen fixation; biology**. New York: Wiley, 1977. p.277-366.
- VIDOR, C.; BROSE, E.; PEREIRA, J.S. Competição por sítio de infecção nodular entre estirpes de *Rhizobium japonicum* em cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Agronomia Sul-riograndense**, Porto Alegre, v.15, n.2, p.227-238, 1979.
- VOLKOVA, T.N.; CHERNOVA, N.I. Effects of rhizobia, host plant and environmental factors on the efficiency of the legume-*Rhizobium* symbiosis. In: VANCURA, V.; KUNC, F. (Eds.). **Interrelationships between microorganisms and plants in soil; proceedings of an International Symposium Liblice, Czechoslovakia, 1987**. Praha: Academia, 1989. p.37-43.
- VOSS, M. **Seleção de *Rhizobium phaseoli* de regiões produtoras de feijão do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 1981. Tese de Mestrado.
- VOSS, M.; FREIRE, J.R.J.; SELBACH, P.A. Efeito de níveis de calcário no solo e na capacidade de competição de estirpes de *Rhizobium phaseoli* por sítios de nodulação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.4, p.433-439, 1984.