

Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano⁽¹⁾

Marília Caixeta Franco⁽²⁾, Sérgio Túlio Alves Cassini⁽³⁾, Valter Rodrigues Oliveira⁽⁴⁾, Clibas Vieira⁽⁵⁾ e Siu Mui Tsai⁽⁶⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi determinar a capacidade de nodulação e a especificidade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) dos conjuntos gênicos andino e meso-americano submetidos a inóculo de *Rhizobium*. O experimento foi estabelecido em parcelas subdivididas em blocos ao acaso, com quatorze cultivares de feijão e três estirpes de *Rhizobium* (*R. etli* KIM 5, *R. etli* CIAT 632 e *R. tropici* CIAT 899). Somente as cultivares andinas WAF 15, WAF 7, Mineiro Precoce, WAF 6 e Antioquia 8 apresentaram especificidade na nodulação. Em relação à massa seca dos nódulos, houve diferenças significativas dos tratamentos de inoculação nas cultivares andinas WAF 15, WAF 7, WAF 6 e Diacol Andino, e na cultivar meso-americana Ouro Negro. Nenhuma das cultivares restringiu a nodulação, embora tenham sido verificadas diferenças de até 53 e 103 vezes no número e massa de nódulos por planta, respectivamente. Considerando todas as cultivares e estirpes de rizóbio, WAF 15 foi a cultivar com melhor desempenho em número e massa nodular. WAF 6 foi a cultivar de pior desempenho, chegando quase ao nível de restrição da nodulação com a estirpe *R. etli* CIAT 632.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, rizóbio, simbiose, nodosidade radicular.

Nodulation in Andean and Mesoamerican cultivars of dry bean

Abstract – The objective of this work was to determine the capacity and specificity for nodulation in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars, arising from Andean or Mesoamerican germplasm, inoculated with *Rhizobium*. The experiment was a factorial 14x3 in a randomized block design with fourteen dry bean cultivars and three strains of *Rhizobium* (*R. etli* KIM 5, *R. etli* CIAT 632 and *R. tropici* CIAT 899). Only five cultivars (WAF 15, WAF 7, Mineiro Precoce, WAF 6 and Antioquia 8), all from the Andean germplasm, demonstrated nodulation specificity. In relation to the nodules' dry weight, the values revealed significant difference when comparing the inoculation treatments of the Andean cultivars WAF 15, WAF 7, WAF 6 and Diacol Andino as well as the Mesoamerican cultivar Ouro Negro. None of the cultivars completely eliminated nodulation by the less compatible *Rhizobium* strains, but the differences in number of nodules per plant and the nodule dry weight among inoculation with the highly specific strains and the non-specific strains was 53 and 103 times greater, respectively. Considering all of the combinations of bean cultivars and *Rhizobium* strains, cultivar WAF 15 was the most responsive to nodulation and demonstrated superior growth and nodule number, while cultivar WAF 6 inoculated with CIAT 632 grew very little with practically no nodulation.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, rhizobium, symbiosis, root nodules.

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 7 de novembro de 2001.

⁽²⁾ Centro Universitário Federal, Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, Dep. de Ciências Biológicas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714, CEP 37130-000 Alfenas, MG. E-mail: mcfranco@int.efoa.br

⁽³⁾ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico, Av. Fernando Ferrari, s/nº, CEP 29060-970 Vitória, ES. E-mail: scassini@npd.ufes.br

⁽⁴⁾ Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Centro Tecnológico do Centro-Oeste, Caixa Postal 295, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: vroлива@hotmail.com

⁽⁵⁾ Universidade Federal de Viçosa, Dep. de Fitotecnia, Av. P. H. Rolfs, s/nº, CEP 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: cvieira@mail.ufv.br

⁽⁶⁾ Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Caixa Postal 96, CEP 13400-970 Piracicaba, SP. E-mail: tsai@cena.usp.br

Introdução

Entre os sistemas biológicos envolvendo planta e microrganismos, a simbiose leguminosas-rizóbio é a de maior expressão econômica. Em razão da importância econômica e social do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Brasil e da potencialidade e necessidade de incrementar sua produtividade, estudos visando a otimização do processo de nodulação, e, conseqüentemente, da fixação biológica do N₂ (FBN), como forma de melhorar a disponibilidade de nutrientes às plantas, é uma prática de grande importância e muito necessária.

Várias espécies de rizóbio são capazes de nodular o feijoeiro, incluindo o *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. tropici*, *R. gallicum*, *R. giardinii* e *R. etli* (Amarger et al., 1997; Chueire, 2000). Esta compreende a maioria das estirpes anteriormente classificadas como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e tem sido a espécie isolada com maior frequência em nódulos de feijão na Meso-América, enquanto *R. tropici* tem sido a mais encontrada nas regiões de solos ácidos da América do Sul (Araújo, 1994; Martínez-Romero et al., 1998). A maioria dos rizóbios isolados nos solos brasileiros pertence à espécie *R. tropici*, e demonstra sua enorme adaptabilidade às condições edafoclimáticas destas regiões (Hungria et al., 2000). Esta espécie é mais estável geneticamente e mais tolerante a estresses, como, por exemplo, temperatura elevada e acidez do meio (Graham, 1992).

Uma das principais evidências do comportamento diferenciado de cultivares de feijão em relação aos parâmetros relacionados à FBN vem de estudos realizados no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), onde se constatou que cultivares de maturação tardia apresentavam tendência ao maior acúmulo de N fixado simbioticamente (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1975). Atualmente, nos estudos desta interação tem-se considerado, também, o conjunto gênico. Pelos dados disponíveis sobre as características morfológicas e moleculares do feijão, foi constatado que existe um conjunto gênico de origem meso-americana e outro de andina (Singh et al., 1991). Kipe-Nolt et al. (1992) verificaram tendência dos materiais silvestres e domesticados de origem meso-americana, de formar nódulos mais rapidamente com a estirpe de *R. etli* CIAT 632 do que com *R. tropici* CIAT 899 e materiais dos Andes da Argentina e do Peru de formar nódulos mais rapidamente com CIAT 899. Franco (1993) e Andriolo et al. (1994) compararam feijões domesticados e silvestres de diferentes origens e verificaram que os silvestres apresentaram maior capacidade de nodulação.

Bernal (1993) caracterizou estirpes de rizóbio isoladas de diferentes regiões e estudou a especificidade destas em cultivares de feijão de diferentes conjuntos gênicos. Verificou que todos os isolados do Equador e Argentina pertenciam à espécie *R. etli* e mos-

traram diferenças na iniciação da nodulação com cultivares de diferentes origens. Ceccatto et al. (1998) observaram efeito diferencial de cultivares de feijão de diferentes conjuntos gênicos sob interação com *R. tropici* sobre a atividade das nodulinas: leghemoglobina, fosfoenolpiruvato carboxilase e glutamina sintetase, bem como na atividade da nitrogenase e concentração de alantoina.

Aguilar et al. (1998), baseados em análise de genes codificando para 16S rRNA em estirpes de rizóbio isoladas de *P. vulgaris* var. *aborigineus* na Argentina, sugerem que neste centro de origem de *P. vulgaris* a coevolução entre estas espécies resultou em associação simbiótica preferencial.

Objetivou-se no presente trabalho determinar a capacidade de nodulação e a especificidade de cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano para com estirpes de *R. etli* e *R. tropici*.

Material e Métodos

Quatorze cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) de importância agrônômica, do Banco de Germoplasmas da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, foram usados neste estudo. Estes genótipos, previamente avaliados quanto a diversidade genética relativa (Vasconcelos et al., 1996; Franco et al., 2001) representam os conjuntos gênicos andino e meso-americano e possuem diferentes tamanhos e cores de sementes e hábitos de crescimento (Tabela 1).

As sementes foram desinfestadas conforme Vincent (1970), e na última água de lavagem foi acrescentado benlate a 0,1%, para prevenir contaminação fúngica (Kipe-Nolt et al., 1992). Sementes pré-germinadas foram transferidas para bolsas de crescimento de polipropileno (growth pouches) estéreis (Kipe-Nolt et al., 1992) contendo solução nutritiva de Sandman isenta de nitrogênio (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1985).

Na inoculação, foram utilizadas três estirpes de *Rhizobium* (Tabela 2), que cresceram em frascos erlenmeyer contendo extrato de levedura-manitol, pH 6,8, à temperatura de 28°C, até serem obtidas 10⁸ células/mL (Vincent, 1970). Sobre cada semente pré-germinada adicionou-se 1,0 mL da suspensão bacteriana. Após inoculação do *Rhizobium* nas sementes, as bolsas foram transferidas para câmara de crescimento com temperatura de 26°C, luminosidade variando entre 80 a 100 µmol/m²/s e fotoperíodo de 12 horas.

O experimento foi estabelecido em parcelas subdivididas, e o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições e um vaso com uma planta por subparcela. Foram utilizadas três parcelas correspondendo às estirpes de rizóbio, e 14 subparcelas correspondendo às cultivares de feijão.

As plantas foram colhidas 29 dias após o transplante, e seus nódulos, após separados, foram contados, determinada sua massa, e secados em estufa com ventilação forçada a 65°C, até atingir massa constante. Os dados de nodulação (número de nódulos por planta; massa seca nodular e massa média dos nódulos) foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Também foram estimadas as correlações de Pearson entre as três características avaliadas.

Resultados e Discussão

Houve interação significativa (teste F, $P < 0,01$) entre estirpes de rizóbio e cultivares de feijão sobre as três características avaliadas, número, massa seca

e massa média dos nódulos. Comparando-se as médias de número de nódulos entre as estirpes de rizóbio, apenas nas cultivares andinas WAF 15, WAF 7, Mineiro Precoce, WAF 6 e Antioquia 8 houve diferenças significativas (Tabela 3). As cultivares WAF 15 e WAF 7 apresentaram maior nodulação com a estirpe *R. etli* CIAT 632. Esta espécie de rizóbio apresenta, entre outras características, elevada especificidade em relação à planta hospedeira (Kipe-Nolt et al., 1992; Segovia et al., 1993). As estirpes *R. etli* KIM 5 e *R. tropici* CIAT 899 foram igualmente eficientes em nodular a cultivar WAF 6 e diferiram significativamente da *R. etli* CIAT 632. As cultivares Mineiro Precoce e Antioquia 8 apresentaram maior nodulação quando foi usada a estirpe *R. tropici* CIAT 899, a qual apresenta maior promiscuidade de nodulação, ou seja: além de possuir a capacidade de nodular feijão, é capaz de formar nódulos com leucena (Martínez-Romero et al., 1991).

Todas as interações anteriormente discutidas envolvem cultivares do conjunto gênico andino (Tabelas 1 e 3). Em relação às outras duas cultivares andinas, Batatinha e Diacol Andino, e em todas as meso-americanas, não houve diferenças significativas no número de nódulos por planta entre as estirpes de rizóbio. Mesmo as cultivares Ouro e Ouro Negro, de origem meso-americana e com elevada capacidade de nodulação, não apresentaram diferen-

Tabela 1. Características das cultivares de feijão usadas no experimento.

Cultivares	Hábito de crescimento ⁽¹⁾	Sementes	
		Tamanho	Cor
Andinas			
WAF 15	I	Grande	Branca
WAF 7	I	Grande	Branca
WAF 6	I	Grande	Branca
Antioquia 8	III	Grande	Avermelhada
Mineiro Precoce	I	Médio	Bege
Diacol Andino	III	Médio	Avermelhada
Batatinha	III	Médio	Amarela
Meso-americanas			
Ouro Negro	III	Pequeno	Preta
BAT 304	III	Pequeno	Preta
DOR 241	II	Pequeno	Preta
RAB 94	II	Pequeno	Vermelha
Ouro	II	Pequeno	Creme
FT 84835	II	Pequeno	Carioca
Ricopardo	III	Pequeno	Parda

⁽¹⁾I: determinado; II: indeterminado, com hastes curtas; III: indeterminado, com hastes longas.

Tabela 2. Identificação das estirpes de *Rhizobium* usadas no experimento.

Espécie	Código	Origem	Referência
<i>R. etli</i>	KIM 5	Kimberly - Idaho	Josephson & Pepper (1984)
<i>R. etli</i>	CIAT 632	Guatemala - México	Graham et al. (1982), Kipe-Nolt et al. (1992)
<i>R. tropici</i>	CIAT 899	Antioquia-Colômbia	Graham et al. (1982), Kipe-Nolt et al. (1992)

Tabela 3. Número médio dos nódulos em cultivares de feijão submetidas à inoculação das estirpes *Rhizobium etli* KIM 5, *R. etli* CIAT 632 e *R. tropici* CIAT 899⁽¹⁾.

Cultivares ⁽²⁾	KIM 5	CIAT 632	CIAT 899	Média
WAF 15 (A)	358,00aC	808,00aA	595,00aB	587,00
Ouro Negro (MA)	229,50abA	98,00cdA	194,00bcdA	173,83
WAF 7 (A)	224,00abB	365,00bA	126,00cdB	238,33
Batatinha (A)	221,25abA	233,50bcA	294,50bcA	249,75
Mineiro Precoce (A)	187,25abB	150,25cdB	384,25bA	240,58
WAF 6 (A)	173,75abA	15,00dB	148,50cdA	112,42
Diacol Andino (A)	155,75bA	194,75bcdA	132,50cdA	161,00
Ouro (MA)	147,00bA	251,75bcA	200,50bcdA	199,75
Antioquia 8 (A)	131,00bB	261,00bcAB	290,75bcA	227,58
Ricopardo (MA)	99,00bA	114,50cdA	197,00bcdA	136,83
FT 84835 (MA)	89,00bA	112,00cdA	136,25cdA	112,42
RAB 94 (MA)	87,50bA	126,00cdA	103,50cdA	105,67
BAT 304 (MA)	61,50bA	189,50bcdA	81,00dA	110,67
DOR 241 (MA)	49,50bA	136,75cdA	165,00cdA	117,08
Média	158,14	218,29	217,77	198,07

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; o coeficiente de variação foi de 41,49%. ⁽²⁾Conjunto gênico andino (A) e meso-americano (MA).

ças entre os tratamentos de inoculação, o que evidencia a baixa especificidade entre as estirpes de rizóbio e essas cultivares, como já verificado por Bliss (1993) e Andriolo et al. (1994).

Quanto à massa seca dos nódulos, houve diferenças significativas, entre tratamentos de inoculação, nas cultivares WAF 15, Ouro Negro, WAF 7, WAF 6 e Diacol Andino (Tabela 4). As cultivares WAF 15, WAF 7 e Diacol Andino apresentaram maior massa seca nodular com *R. etli* CIAT 632, e as cultivares Ouro Negro e WAF 6 com *R. etli* KIM 5. Dessas, apenas a cultivar Ouro Negro pertence ao conjunto gênico meso-americano. Em nenhuma cultivar houve destaque da estirpe *R. tropici* CIAT 899 em relação à produção de massa nodular, evidenciando a sua baixa especificidade, já amplamente documentada na literatura (Martínez-Romero et al., 1991). Apesar desta característica, *R. tropici* CIAT 899 é considerada uma estirpe referencial e utilizada na maioria das pesquisas; também é recomendada para a produção de inoculante rizobiano em feijão, no Brasil (Chueire, 2000).

Quanto à massa média de nódulos, houve diferenças significativas entre estirpes de rizóbio nas cultivares Mineiro Precoce, WAF 6, Diacol Andino e FT 84835 (Tabela 5). Maiores massas médias de nódulos foram gerados por *R. etli* KIM 5 nas cultivares Mineiro Precoce, WAF 6 e FT 84835. A cultivar Diacol Andino apresentou maior massa média de nódulos com a estirpe *R. etli* CIAT 632.

Na presença da estirpe *R. etli* KIM 5, os maiores número e massa seca de nódulos foram obtidos com a cultivar WAF 15 (Tabelas 3 e 4). Com a estirpe *R. etli* CIAT 632, os maiores e os menores número e massa seca de nódulos foram obtidos com as cultivares WAF 15 e WAF 6, respectivamente. Na presença da estirpe *R. tropici* CIAT 899, novamente destacou-se a cultivar WAF 15 quanto ao número e massa nodular. WAF 6 foi a cultivar com pior desempenho quanto ao número e massa nodular, considerando-se todas as cultivares e as três estirpes de rizóbio (Tabelas 3 e 4). A média do número de nódulos desta cultivar com a estirpe CIAT 632 foi apenas 10%, aproximadamente, da verificada com as estirpes KIM 5 e CIAT 899. Kipe-Nolt et al. (1992) e Montealegre & Kipe-Nolt (1994) observaram restrição da nodulação com estirpes de rizóbio de diferentes espécies apenas em acessos silvestres de feijão. Porém, Kipe-Nolt et al. (1992) verificaram tendência, de acessos silvestres e domesticados de origem andina, de retardar a formação de nódulos com a estirpe *R. etli* CIAT 632, e os de origem meso-americana, de retardar a nodulação com *R. tropici* CIAT 899. Estes dados reforçam a constatação dos valores de nodulação no presente

Estes dados reforçam a constatação dos valores de nodulação no presente

Tabela 4. Massa seca dos nódulos (mg/planta) em cultivares de feijão que receberam inocúlos das estirpes *Rhizobium etli* KIM 5, *R. etli* CIAT 632 e *R. tropici* CIAT 899⁽¹⁾.

Cultivares ⁽²⁾	KIM 5	CIAT 632	CIAT 899	Média
WAF 15 (A)	82,17aB	116,72aA	111,88aAB	103,59
Ouro Negro (MA)	51,68abA	16,00cdeB	43,09bAB	36,92
WAF 7 (A)	40,55abAB	67,35bA	31,95bB	46,62
Batatinha (A)	41,80abA	33,87bcdeA	54,27bA	43,31
Mineiro Precoce (A)	46,23abA	25,55bcdeA	20,25bA	30,68
WAF 6 (A)	50,65abA	1,13eB	25,67bAB	25,82
Diacol Andino (A)	29,15bAB	58,40bcA	19,07bB	35,54
Ouro (MA)	27,15bA	38,53bcdeA	35,27bA	33,65
Antioquia 8 (A)	25,28bA	47,15bcdA	57,77bA	43,40
Ricopardo (MA)	19,00bA	19,50cdeA	43,20bA	27,23
FT 84835 (MA)	28,65bA	14,10deA	20,90bA	21,22
RAB 94 (MA)	16,97bA	30,77bcdeA	16,67bA	21,47
BAT 304 (MA)	13,67bA	28,92bcdeA	18,33bA	20,31
DOR 241 (MA)	9,07bA	27,22bcdeA	31,57bA	22,62
Média	34,43	37,52	37,85	36,59

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; o coeficiente de variação foi de 48,70%. ⁽²⁾Conjunto gênico andino (A) e meso-americano (MA).

Tabela 5. Massa média dos nódulos (mg/nódulo) em cultivares de feijão infectadas com as estirpes *Rhizobium etli* KIM 5, *R. etli* CIAT 632 e *R. tropici* CIAT 899⁽¹⁾.

Cultivares ⁽²⁾	KIM 5	CIAT 632	CIAT 899	Média
WAF 15 (A)	0,228aA	0,146abA	0,191aA	0,188
Ouro Negro (MA)	0,228aA	0,153abA	0,218aA	0,200
WAF 7 (A)	0,174aA	0,183abA	0,229aA	0,195
Batatinha (A)	0,196aA	0,151abA	0,184aA	0,177
Mineiro Precoce (A)	0,250aA	0,169abAB	0,070aB	0,163
WAF 6 (A)	0,286aA	0,093bB	0,173aAB	0,184
Diacol Andino (A)	0,180aAB	0,289aA	0,144aB	0,204
Ouro (MA)	0,169aA	0,154abA	0,169aA	0,164
Antioquia 8 (A)	0,146aA	0,181abA	0,203aA	0,177
Ricopardo (MA)	0,174aA	0,149abA	0,198aA	0,174
FT 84835 (MA)	0,293aA	0,126abB	0,147aB	0,189
RAB 94 (MA)	0,130aA	0,243abA	0,161aA	0,178
BAT 304 (MA)	0,219aA	0,160abA	0,224aA	0,201
DOR 241 (MA)	0,132aA	0,200abA	0,229aA	0,187
Média	0,200	0,171	0,181	0,184

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; o coeficiente de variação foi de 37,93%. ⁽²⁾Conjunto gênico andino (A) e meso-americano (MA).

trabalho, pois, a cultivar WAF 6, de origem andina, apresentou menor número de nódulos com a estirpe CIAT 632 do que com CIAT 899.

Ainda em relação à estirpe KIM 5, a cultivar Ouro Negro apresentou número e massa de nodulos iguais às das cultivares de origem andina WAF 15, WAF 7, Batatinha, Mineiro Precoce e WAF 6 (Tabelas 3 e 4). A 'Ouro Negro' (Honduras 35) foi selecionada quanto à FBN, pela Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (Bliss, 1993), e considerada de elevada capacidade noduladora e fixadora de N₂ (Bliss, 1993; Andriolo et al., 1994).

Em relação à massa média de nódulos, somente na presença da estirpe *R. etli* CIAT 632 houve diferenças significativas entre cultivares, sendo que 'Diacol Andino' e 'WAF 6' apresentaram a maior e a menor massa média de nódulos, respectivamente (Tabela 5).

Houve correlação positiva e significativa (Pearson; teste t, P<0,01) entre número e massa seca dos nódulos das três estirpes: KIM 5 (r = 0,95), CIAT 632 (r = 0,95) e CIAT 899 (r = 0,83), o que explica o fato de que, de modo geral, o tratamento que ocasionou a formação de maior número de nódulos (Tabela 3) também apresentou maior massa nodular (Tabela 4). Essa correlação positiva entre número e massa seca de nódulos é sempre citada na literatura (Rosas & Bliss, 1986; Franco, 1993; Andriolo et al., 1994). Entretanto, nas cultivares Ouro Negro e Diacol Andino, detectaram-se diferenças significativas apenas em relação à matéria seca dos nódulos. Tal fato pode ser explicado pelo aumento do tamanho dos nódulos, ou seja, pela fisiologia da planta, e não pelo aumento do número de nódulos.

Os resultados do presente trabalho revelaram que a eficiência de nodulação é altamente dependente do genótipo da planta. A superioridade relativa das cultivares do conjunto gênico andino sobre as meso-americanas quanto à capacidade de nodulação, com destaque para a cultivar WAF 15, é interessante, pois o feijoeiro, no Brasil, é considerado de baixa capacidade de nodulação, e, conseqüentemente, com baixos níveis de FBN, pelo fato de a maioria das cultivares comerciais pertencerem à raça Meso-América do conjunto gênico meso-americano (Singh et al., 1991). Assim, neste estudo, o potencial de nodulação apresentado por genótipos de origem andina indica

a possibilidade de melhoria da FBN de cultivares comerciais, utilizando-se métodos apropriados de melhoramento e seleção.

Conclusões

1. Há especificidade na nodulação das cultivares WAF 15, WAF 7, Mineiro Precoce, WAF 6 e Antioquia 8, do conjunto gênico andino.

2. Há diferenças entre cultivares quanto ao potencial de nodulação.

Referências

AGUILAR, O. M.; LOPEZ, M. V.; RICCILLO, P. M.; GONZALEZ, R. A.; PAGANO, M.; GRASSO, D. H.; PUHLER, A.; FAVELUKES, G. Prevalence of the *Rhizobium etli* like allele in genes coding for 16s rRNA among the indigenous rhizobial populations found associated with wild beans from the Southern Andes in Argentina. **Applied Environmental Microbiology**, Reading, v. 64, p. 3520-3524, 1998.

AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 47, p. 996-1006, 1997.

ANDRIOLO, J.; PEREIRA, P. A. A.; HENSON, R. A. Variabilidade entre linhas de formas silvestres quanto a características relacionadas com a fixação biológica de N₂. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 831-837, jun. 1994.

ARAÚJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijão. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-CNPAP, 1994. p. 91-120.

BERNAL, G. **Caracterización de cepas de *Rhizobium* en fréjol y su especificidad con genotipos de *Phaseolus vulgaris* L., pertenecientes a diferentes pools genéticos**. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 1993. Não paginado.

BLISS, F. A. Breeding common bean for improvement of biological nitrogen fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 152, p. 71-79, 1993.

CECCATTO, V. M.; GOMES, J. E.; SARRIÉS, G. A.; MOON, D. H.; TSAI, S. M. Effects of host plant origin

- on nodulating activities and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 204, p. 79-87, 1998.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (Cali, Colômbia). **Manual de métodos sobre: evaluación, selección y manejo de sistemas leguminosarhizobio para aumentar la fijación de nitrógeno**. Cali, 1985. 55 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (Cali, Colômbia). **Sistemas de producción de fríjol**. Cali, 1975. 64 p.
- CHUEIRE, L. M. O. **Classificação taxonômica, baseada na caracterização molecular das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas de soja e do feijoeiro**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 2000. 32 p.
- FRANCO, M. C. **Capacidade de nodulação de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestres e domesticados**. 1993. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; TSAI, S. M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 381-385, fev. 2001.
- GRAHAM, P. H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, p. 475-484, 1992.
- GRAHAM, P. H.; APOLITANO, C.; FERRERACERRATO, R.; HALLIDAY, J.; LEPIZ, R.; MENENDEZ, O.; RIOS, R.; SAITO, S. M. T.; VITERI, S. The international bean inoculation trial (IBIT): results for the 1978-1979 trial. In: GRAHAM, P. H.; HARRIS, S. C. (Ed.). **BFN for tropical agriculture**: papers presented at a workshop held at Ciat. Cali: Ciat, 1982. p. 223-229.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBENZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, p. 1515-1528, 2000.
- JOSEPHSON, K. L.; PEPPER, L. I. Competitiveness and effectiveness of strains of *Rhizobium phaseoli* isolated from the Sonoran Desert. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 16, p. 651-655, 1984.
- KIPE-NOLT, J. A.; MONTEALEGRE, M. C. M.; THOME, J. Restriction of nodulation by the broad host range of *Rhizobium tropici* strain CIAT 899 in wild accessions of *Phaseolus vulgaris* L. **New Phytologist**, New York, v. 120, n. 4, p. 489-494, 1992.
- MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HERNÁNDEZ-LUCAS, I.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; CASTELLANOS, J. Z. Symbiotic performance of some modified *Rhizobium etli* strains in assays with *Phaseolus vulgaris* beans that have a high capacity to fix N₂. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 204, p. 89-94, 1998.
- MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.; GRAHAM, P.; PARDO, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 41, p. 417-426, 1991.
- MONTEALEGRE, C.; KIPE-NOLT, J. Ability of selected accessions of *Phaseolus vulgaris* L. to restrict nodulation by particular rhizobia. **Archives of Microbiology**, New York, v. 162, n. 5, p. 352-356, 1994.
- ROSAS, J. C.; BLISS, F. A. Host-plant traits associated with estimates of nodulation and nitrogen fixation in common bean. **HortScience**, Alexandria, v. 21, p. 287-289, 1986.
- SEGOVIA, L.; YOUNG, P. W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 43, p. 374-377, 1993.
- SINGH, S. P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, New York, v. 45, p. 379-396, 1991.
- VASCONCELOS, M. J. V.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA-based molecular markers. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 19, p. 447-451, 1996.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London: Burgess, 1970. 164 p.